

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE  
ANIMAL**

**Gislaine Puli**

**FILOGEOGRAFIA E MODELAGEM DE NICHOS ECOLÓGICOS DE  
*Aegla* LEACH 1820 (CRUSTACEA, ANOMURA): UM OLHAR SOBRE O  
PASSADO E PROJEÇÕES PARA O FUTURO**

Santa Maria, RS  
2021

**Gislaine Puli**

**FILOGEOGRAFIA E MODELAGEM DE NICHOS ECOLÓGICOS DE *Aegla* LEACH  
1820 (CRUSTACEA, ANOMURA): UM OLHAR SOBRE O PASSADO E  
PROJEÇÕES PARA O FUTURO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Biológicas**.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Marlise Ladvoat Bartholomei-Santos  
Coorientador: Prof. Dr. Sandro Santos

Santa Maria, RS  
2021

Puli, Gislaine

FILOGEOGRAFIA E MODELAGEM DE NICHOS ECOLÓGICOS DE Aegla  
LEACH 1820 (CRUSTACEA, ANOMURA): UM OLHAR SOBRE O  
PASSADO E PROJEÇÕES PARA O FUTURO / Gislaine Puli.- 2021.  
85 p.; 30 cm

Orientadora: Marlise Ladvocat Bartholomei-Santos

Coorientador: Sandro Santos

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de  
Pós-Graduação em Biodiversidade Animal, RS, 2021

1. Modelagem de nicho ecológico 2. Filogeografia 3.  
Crustáceos de água doce da família Aeglidae 4. Conservação  
da biodiversidade I. Ladvocat Bartholomei-Santos,  
Marlise II. Santos, Sandro III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

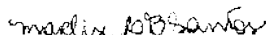
Declaro, GISLAINE PULI, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Gislaine Puli

**FILOGEOGRAFIA E MODELAGEM DE NICHOS ECOLÓGICO DE *Aegla* LEACH  
1820 (CRUSTACEA, ANOMURA): UM OLHAR SOBRE O PASSADO E  
PROJEÇÕES PARA O FUTURO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Biológicas**.

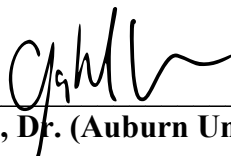
**Aprovada em cinco de março de 2021:**



**Marlise Ladvoat Bartholomei-Santos, Dr<sup>a</sup>. (UFSM)**  
(Presidente/Orientadora)



**Bianca Laís Zimmermann, Dr<sup>a</sup>. (IFRS - Campus Ibirubá)**



**Gabriel Corrêa Costa, Dr. (Auburn University at Montgomery, EUA)**

Santa Maria, RS  
2021

## **DEDICATÓRIA**

*Por todo o apoio e incentivo, dedico este trabalho à minha família.*

## AGRADECIMENTOS

*Primeiramente quero agradecer a Deus por ter me dado força e confiança para acreditar no meu sonho e superar as dificuldades para alcançá-lo.*

*Nesses dois anos do mestrado muitas pessoas foram importantes para o desenvolvimento deste trabalho. Agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão deste estudo e, de uma maneira especial, agradeço:*

*À minha orientadora, Marlise Ladvoat Bartholomei Santos, por me acolher em seu laboratório e pela oportunidade de realizar este trabalho. Obrigada pela confiança, por todos os ensinamentos compartilhados de forma tão admirável, e por me guiar nos primeiros passos da pós-graduação.*

*Ao meu coorientador, Sandro Santos, pelas sugestões, pelo conhecimento compartilhado e pela disponibilidade, empenho e ajuda no desenvolvimento desse trabalho.*

*Ao Dr. Alberto Senra Gonçalves pela grande atenção dispensada e pelas valiosas contribuições dadas durante o desenvolvimento do projeto.*

*À banca, Dr<sup>a</sup>. Bianca Laís Zimmermann e Dr. Gabriel Corrêa Costa, por terem aceitado o convite e cederem seu tempo, e pelas contribuições para a melhoria deste trabalho.*

*Também quero agradecer à Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, especialmente o Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Animal – PPGBA, e seus professores pela elevada qualidade do ensino oferecido.*

*Ao Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela concessão da bolsa durante o período de desenvolvimento deste estudo.*

*À minha família, em especial aos meus pais Onofre Oliveira Puli e Matilde Xavier Puli, e ao meu noivo Julio Cezar Wrubleski, que sempre estiveram ao meu lado me apoiando e incentivando ao longo de toda a minha trajetória.*

*A todos os meus amigos, citando aqui meus colegas biólogos Álvaro Augusto Mainardi, Felipe Pavan, Marcelo Carvalho da Rocha e Sheila Cassenote Ferreira, por todo o apoio, auxílio e incentivo.*

*Muito Obrigada!*

*“Na vida, não existe nada a temer, mas a entender.”*

*Marie Curie*

## RESUMO

### FILOGEOGRAFIA E MODELAGEM DE NICHOS ECOLÓGICO DE *Aegla* LEACH 1820 (CRUSTACEA, ANOMURA): UM OLHAR SOBRE O PASSADO E PROJEÇÕES PARA O FUTURO

AUTORA: Gislaine Puli

ORIENTADORA: Marlise Ladvoocat Bartholomei-Santos

COORIENTADOR: Sandro Santos

Endêmica do sul da América do Sul, a família Aeglidae Dana, 1852 é composta por apenas um gênero atual, *Aegla* Leach 1820, que possui 89 espécies descritas. Os eglídeos estão distribuídos pelo Brasil, Argentina, Bolívia, Chile, Paraguai e Uruguai, em todas as principais bacias hidrográficas, sendo os únicos anomuros que habitam exclusivamente ambientes de água doce, ocorrendo principalmente em rios e riachos. Desempenham um importante papel na teia trófica e na ciclagem de nutrientes, constituindo um importante componente da fauna dos ecossistemas dulcícolas. Contudo, os eglídeos são os decápodes de água doce mais ameaçados da América do Sul, com 70 % das espécies ameaçadas de extinção, o que é atribuído principalmente à alta taxa de endemismo em associação com a degradação dos ecossistemas aquáticos. Outra importante ameaça aos eglídeos são as mudanças climáticas, as quais permanecem pouco estudadas para o grupo. Este estudo investigou os processos relacionados à diversificação e distribuição de eglídeos no passado e no presente, assim como os potenciais efeitos das mudanças climáticas futuras na distribuição do gênero e das espécies *Aegla platensis* e *Aegla obstipa*, que possuem distribuição ampla e restrita, respectivamente, visando contribuir para a conservação da fauna de água doce. No capítulo I, avaliamos os efeitos das mudanças climáticas futuras, gerando modelos de nicho ecológico para o presente e para os anos de 2040, 2060, 2080 e 2100, para o gênero *Aegla*, cobrindo toda a sua área de distribuição, e para as espécies *A. platensis* e *A. obstipa*. Avaliamos ainda a eficiência das áreas de Proteção Ambiental (PAs) para a preservação dos eglídeos, sobrepondo polígonos dessas áreas sobre os modelos gerados e quantificando a cobertura das áreas de adequação ambiental. Os modelos apontaram diminuição das áreas de distribuição potencial para *Aegla*, desaparecimento dessas áreas em 2040 e 2060 para *A. obstipa*, e mudanças de alcance para *A. platensis*, sugerindo potenciais efeitos negativos das mudanças climáticas sobre a distribuição dos eglídeos, mais severos para espécies com distribuição restrita. As PAs mostraram baixa eficácia de conservação para o grupo, tanto no presente quanto nas projeções para o futuro. Este resultado evidencia a importância de considerar diferentes táxons e os impactos das mudanças climáticas futuras sobre a distribuição das espécies para o planejamento de PAs, a fim de melhorar a eficiência de conservação da biodiversidade de água doce. No capítulo II, investigamos a história biogeográfica de *A. platensis* integrando métodos filogeográficos usando marcadores mitocondriais e de modelagem de nicho ecológico para períodos passados (Pleistoceno: Último Interglacial e Último Máximo Glacial e Holoceno médio) e para o presente. As oscilações climáticas do Pleistoceno mostraram grande influência na diversificação de *A. platensis*, o que pode estar relacionado às mudanças na aridez e na umidade. O clima ameno e úmido do Último Interglacial criou condições favoráveis à diversificação e colonização de novas áreas, contrastando com o clima frio e seco do Último Máximo Glacial, que criou condições adversas para a espécie. Além disso, vários eventos de dispersão e vicariância contribuíram para a atual distribuição dessa espécie. Devido ao fato de a bactéria *Wolbachia* infectar muitos grupos de artrópodes, interferindo no polimorfismo de DNA mitocondrial e confundindo as inferências evolutivas feitas com base nesse marcador, no capítulo III investigamos se os eglídeos são hospedeiros de *Wolbachia*. Obtivemos evidências contra a presença da bactéria no gênero *Aegla*, um dado importante que justifica a utilização de DNA mitocondrial nas análises filogeográficas. Os dados desta dissertação enfatizam a necessidade urgente de tomadas de medidas para a conservação de eglídeos e da fauna de água doce em geral.

**Palavras-chave:** Conservação. Água doce. Glaciação. Mudanças climáticas.



## ABSTRACT

### PHYLOGEOGRAPHY AND ECOLOGICAL NICHE MODELLING OF *Aegla* LEACH 1820 (CRUSTACEA, ANOMURA): A LOOK AT THE PAST AND PROJECTIONS FOR THE FUTURE

AUTHOR: Gislaine Puli

ADVISOR: Marlise Ladvocat Bartholomei-Santos

CO-ADVISOR: Sandro Santos

Endemic to southern South America, the family Aeglidae Dana, 1852 comprises only one current genus, *Aegla* Leach 1820, which has 89 described species. The eglids are distributed in Brazil, Argentina, Bolivia, Chile, Paraguay and Uruguay, in all the main hydrographic basins, being the only anomurans that exclusively inhabit freshwater environments, occurring mainly in rivers and streams. They play an important role in the trophic web and nutrient cycling, constituting an important component freshwater ecosystems' fauna. However, eglids are the most threatened freshwater decapods in South America, with 70% of the species threatened with extinction, mainly attributed to the high rate of endemism in association with the degradation of aquatic ecosystems. In addition to habitat degradation, another important threat to eglids is climate change, which remains poorly studied for the group. This study investigated the processes related to the diversification and distribution of eglids in the past and the present, as well as the potential effects of future climate changes on the distribution of the genus and the species *Aegla platensis* and *Aegla obstipa*, which have wide and restricted distributions, respectively, aiming to contribute to the conservation of freshwater fauna. In chapter I, we evaluate the effects of future climate changes, generating ecological niche models for the present and for the years 2040, 2060, 2080, and 2100, for the genus *Aegla*, covering its entire area of distribution, and for the species *A. platensis* and *A. obstipa*. We also evaluated the efficiency of the environmental Protection Areas (PAs) to preserve the eglids, overlapping polygons from these areas on the generated models and quantifying the coverage of environmental suitability areas. The models indicated a decrease in the areas of potential distribution for *Aegla*, the disappearance of these areas in 2040 and 2060 for *A. obstipa*, and changes in reach for *A. platensis*, suggesting potential negative effects of climate change on the distribution of eglids, which are more severe for species with restricted distribution. The PAs showed low conservation effectiveness for the group, both in the present and in the future projections. This result highlights the importance of considering different taxa and the impacts of future climate change on the distribution of species for PA planning to improve the conservation of freshwater biodiversity. Chapter II investigated the biogeographic history of *A. platensis* integrating phylogeographic methods using mitochondrial markers and ecological niche modeling for past periods (Pleistocene: Last Interglacial and Last Glacial Maximum and Medium Holocene) and the present. The Pleistocene's climatic oscillations showed significant influence in the diversification of *A. platensis*, which may be related to changes in aridity and humidity. The Last Interglacial's mild and humid climate created favorable conditions for the diversification and colonization of new areas, in contrast to the cold and dry climate of the Last Glacial Maximum, which created adverse conditions for the species. Also, several events of dispersion and vicariance contributed to the current distribution of *A. platensis*. Since the *Wolbachia* bacterium infects many groups of arthropods, interfering in the mitochondrial DNA polymorphism and confusing the evolutionary inferences based on this marker, in chapter III, we investigated whether the eglids are hosts for *Wolbachia*. We obtained evidence against bacterium's presence in the genus *Aegla*, an important finding that justifies the use of mitochondrial DNA in phylogeographic analyses. This dissertation's data emphasize the urgent need to take measures for the conservation of eglids and freshwater fauna in general.

**Key-words:** Conservation. Freshwater. Glaciation. Climate changes.

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>Estrutura da dissertação</b> .....	13
<b>CAPÍTULO I - Ameaças das mudanças climáticas e implicações para a conservação da fauna de água doce: Aeglidae (Crustacea, Anomura) como modelo de estudo</b> .....	15
<b>1. Introdução</b> .....	16
<b>2. Materiais e métodos</b> .....	18
2.1. Área de estudo e registros de ocorrência .....	18
2.2. Variáveis ambientais .....	19
2.3. Análise dos dados .....	20
<b>3. Resultados</b> .....	20
3.1. Desempenho do modelo e contribuição das variáveis ambientais .....	20
3.2. Presente – adequabilidade ambiental .....	21
3.3. Futuro – adequabilidade ambiental .....	21
3.4. PAs e adequabilidade ambiental .....	22
<b>4. Discussão</b> .....	23
4.1. Conclusão .....	25
<b>Referências</b> .....	26
<b>CAPÍTULO II - Abordagem integrativa para compreensão dos processos que moldaram a distribuição atual de eglídeos (Crustacea, Anomura, Aeglidae) no Sul da América do Sul</b> .....	43
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	44
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	46
2.1. Filogenia e tempo de divergência .....	46
2.2. Reconstrução de área ancestral .....	47
2.3. Difusão filogeográfica .....	48
2.4. Modelagem de nicho ecológico (ENM) .....	48
<b>3. RESULTADOS</b> .....	49
3.1. Filogenia e tempo de divergência .....	50
3.2. Reconstrução de área ancestral .....	50
3.3. Difusão filogeográfica .....	51
3.4. Modelagem de nicho ecológico (ENM) .....	51
<b>4. DISCUSSÃO</b> .....	51
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	54
<b>CAPÍTULO III - No evidence for <i>Wolbachia</i> infection (Alphaproteobacteria: Rickettsiales) in the threatened freshwater crustacean <i>Aegla</i> Leach, 1820 (Decapoda: Anomura: Aeglidae)</b> .....	66
<b>DISCUSSÃO GERAL</b> .....	75
<b>CONCLUSÃO</b> .....	78
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	80

## INTRODUÇÃO

Os crustáceos da família Aeglidae Dana, 1852 destacam-se por possuir características peculiares, sendo endêmicos do sul da América do Sul, restritos às águas continentais (BOND-BUCKUP; BUCKUP, 1994), e possuindo registros fósseis provenientes de sedimentos marinhos (FELDMANN, 1984; FELDMANN et al., 1998). A família é constituída por apenas um gênero atual, *Aegla* Leach 1820, e possui 89 espécies descritas (PÁEZ et al., 2018; TROMBETTA et al., 2019; MARÇAL et al., 2020), distribuídas em todas as principais bacias hidrográficas do sul da América do Sul, podendo ser encontradas em rios, riachos e lagos (BOND-BUCKUP; BUCKUP, 1994). Nesses ambientes os eglídeos constituem um importante componente da teia trófica, consumindo detritos vegetais, algas, insetos, crustáceos de pequeno porte e moluscos (MAGNI; PY-DANIEL, 1989; LARA; MORENO, 1995; BUENO; BOND-BUCKUP, 2004; SANTOS et al., 2008), e fazendo parte da dieta de mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes (ARENAS, 1974; MELO, 1990; CASSINI et al., 2009). Além disso, os eglídeos desempenham um importante papel na ciclagem de nutrientes, participando ativamente da decomposição de matéria orgânica (COGO; SANTOS, 2013).

Apesar de sua grande importância ecológica, os eglídeos são o grupo decápodes de água doce mais ameaçado da América do Sul (JARA; RUDOLPH; GONZÁLEZ, 2006; BOND-BUCKUP et al., 2008; MAGRIS et al., 2010), com cerca de 70% das espécies conhecidas ameaçadas de extinção (SANTOS et al., 2017). Considerando a alta sensibilidade dos eglídeos às alterações ambientais e a acelerada degradação dos ambientes aquáticos, esforços contínuos para compreender a história de vida deste grupo e gerar informações sobre a vulnerabilidade das espécies vêm sendo realizados (BUENO; BOND-BUCKUP, 2004; PÉREZ-LOSADA et al., 2004; MORAES; BUENO, 2015; SANTOS et al., 2017; MARÇAL et al., 2020). Em especial, os efeitos da degradação do habitat, considerada uma das maiores ameaças ao grupo (GONÇALVES et al., 2018; TUMINI et al., 2019), têm sido avaliados a fim de auxiliar na elaboração de estratégias de conservação. Outra importante ameaça aos ecossistemas de água doce são as mudanças climáticas (POFF; OLDEN; STRAYER, 2012; MARKOVIC et al., 2014), ainda pouco estudadas para *Aegla*.

Uma das abordagens filogeográficas utilizadas para investigar a história biogeográfica de um táxon é a reconstrução de área ancestral, a qual busca compreender os processos que estão por trás da distribuição atual dos organismos no espaço, e sua mudança ao longo tempo.

Para isso, o método de Análise de Dispersão e Vicariância (*Dispersal-Vicariance Analysis - DIVA*) é amplamente utilizado e foi complementado pelo programa *Statistical Dispersal-Vicariance Analysis S-DIVA*, o qual calcula um suporte estatístico para as reconstruções de área ancestral (YU; HARRIS; HE, 2010). Muito da popularidade desse método se deve a sua facilidade de uso e rapidez, exigindo uma menor carga computacional (YU et al., 2015). Outra abordagem filogenética interessante é a Reconstrução Filogenética Espacial da Dinâmica Evolutiva (*Spatial Phylogenetic Reconstruction of Evolutionary Dynamics - SPREAD*), que por meio da associação de coordenadas geográficas aos estados de localização discretos anotados na árvore filogenética possibilita a visualização da difusão espacial das espécies através do tempo (BIELEJEC et al., 2011).

Ao encontro da reconstrução de área ancestral e da análise de difusão espacial, há também a modelagem de nicho ecológico (ENM), que associa matematicamente a presença/ausência de uma espécie a um conjunto de variáveis ambientais (PETERSON et al., 2011). Com base em dados de ocorrência (ausência e/ ou presença) e condições ambientais, a modelagem de nicho fornece valores de adequação ambiental para uma determinada área de interesse (PETERSON et al., 2011), os quais podem ser utilizados para inferir a distribuição potencial dos organismos em diferentes períodos de tempo. A modelagem de nicho, utilizando variáveis ambientais do passado, juntamente com a reconstrução da área ancestral e a análise de difusão espacial, permite a inferência dos processos que levaram aos atuais padrões de distribuição geográfica das espécies e das trajetórias evolutivas das populações, assim como projeções de adequabilidade para o futuro permitem a inferência de como as mudanças climáticas futuras poderão afetar a distribuição geográfica das espécies.

O importante papel que os eglídeos desempenham nos sistemas de água doce do Sul da América do Sul (COGO; SANTOS, 2013), e a alta sensibilidade das espécies da família às alterações ambientais, com grande parte das espécies conhecidas ameaçadas de extinção (SANTOS et al., 2017), tornam os estudos com organismos do grupo de grande relevância. O conhecimento da história filobiogeográfica de espécies de *Aegla* e de como as mudanças climáticas futuras podem afetar a distribuição dos eglídeos contribui para melhorar a compreensão sobre a evolução deste grupo de crustáceos tão peculiar, e para gerar informações relevantes para as medidas de conservação da biodiversidade de água doce.

## **OBJETIVO GERAL**

O objetivo geral da pesquisa foi investigar os processos relacionados à diversificação e distribuição de crustáceos dulcícolas da família Aeglidae no passado e no presente, assim como os efeitos potenciais das mudanças climáticas futuras na distribuição deste grupo.

### **Objetivos Específicos**

#### Capítulo I:

- a) Identificar áreas de habitat adequadas para *Aegla* e prever os efeitos das mudanças climáticas na extensão dessas áreas em cenários climáticos futuros;
- b) Verificar se a atual rede de Áreas de Proteção abrange as áreas de habitat adequado para os eglídeos nos períodos presente e futuro;
- c) Verificar se a extensão da distribuição de uma espécie (ampla ou restrita) interfere nas previsões de áreas de adequabilidade em cenários de alterações climáticas projetados para o futuro.

#### Capítulo II:

- a) Inferir as possíveis áreas ancestrais e rotas de colonização de novas áreas da espécie com a maior área de distribuição da família, *Aegla platensis*, e seus ancestrais hipotéticos, assim como sua distribuição potencial atual e histórica;
- b) Investigar como os processos climáticos podem ter influenciado a distribuição atual da espécie.

#### Capítulo III:

- a) Verificar se bactérias do gênero *Wolbachia* infectam eglídeos, visto que sua presença interfere no polimorfismo do DNA mitocondrial de seus hospedeiros podendo influenciar nos resultados de estudos filogeográficos, filogenéticos e de estrutura populacional.

## **Estrutura da dissertação**

Esta dissertação está estruturada de acordo com as normas do Manual de Dissertações e Teses da UFSM (MDT), e é composta por três capítulos redigidos no formato de artigos científicos. Os dois primeiros manuscritos ainda não foram submetidos para a publicação, e serão posteriormente traduzidos para o inglês, porém já se encontram formatados conforme as normas das revistas para as quais serão submetidos. O terceiro capítulo já está publicado.

### **Capítulo I: Ameaças das mudanças climáticas e implicações para a conservação da fauna de água doce: Aeglidae (Crustacea, Anomura) como modelo de estudo**

Neste capítulo são discutidos os efeitos das mudanças climáticas futuras sobre a distribuição de *Aegla* e a eficácia das Áreas de Proteção Ambiental, por meio de projeções das distribuições potenciais atuais e futuras dos eglídeos, obtidas com a modelagem de nicho ecológico, e sobreposição da atual rede de Proteção Ambiental sobre essas projeções, quantificando áreas de distribuição potencial atual e futuras dentro de áreas protegidas. Este capítulo será submetido para a revista *Biological Conservation*.

### **Capítulo II: Abordagem integrativa para compreensão dos processos que moldaram a distribuição atual de eglídeos (Crustacea, Anomura, Aeglidae) no Sul da América do Sul**

Neste capítulo são descritas a diversificação genética e a potencial distribuição geográfica de *A. platensis* e seus ancestrais hipotéticos, observando os efeitos das oscilações climáticas dos ciclos glaciais-interglaciais do Pleistoceno, através de análises filogeográficas de nove diferentes populações da Argentina e Brasil, e modelagem de nicho ecológico de 23 populações da espécie distribuídas na Argentina, Brasil, Paraguai e Uruguai. Este capítulo será submetido para a revista *Molecular Ecology*.

### **Capítulo III: No evidence for *Wolbachia* infection (Alphaproteobacteria: Rickettsiales) in the threatened freshwater crustacean *Aegla* (Decapoda: Anomura: Aeglidae)**

*Wolbachia* é uma bactéria que infecta diversos artrópodes, e entre outros problemas, influencia no polimorfismo de DNA mitocondrial, confundindo os resultados de estudos que utilizam este tipo de marcador. Devido à inexistência de estudos sobre a presença desta bactéria em eglídeos, e como utilizamos DNA mitocondrial em nossas análises filogeográficas, investigamos a presença de *Wolbachia* nos eglídeos. Os testes realizados mostraram que *Wolbachia* não infecta *Aegla*, e, portanto, não estaria influenciando os

resultados de nossos estudos filogeográficos. Publicado na revista *Journal of Crustacean Biology*, v. 40, p. 141-144 (2019).

**CAPÍTULO I - Ameaças das mudanças climáticas e implicações para a conservação da fauna de água doce: Aeglidae (Crustacea, Anomura) como modelo de estudo**



## **Ameaças das mudanças climáticas e implicações para a conservação da fauna de água doce: Aeglidae (Crustacea, Anomura) como modelo de estudo**

Gislaine Puli<sup>a</sup>, Sandro Santos<sup>a</sup> e Marlise L. Bartholomei-Santos<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Animal, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil

### **Resumo**

As mudanças climáticas constituem uma importante ameaça à biodiversidade, em especial a de água doce. Projeta-se que o aquecimento climático leve a mudanças na distribuição geográfica das espécies, com redução, expansão e mudança de alcance. Compreender como as mudanças climáticas podem afetar a distribuição das espécies e como as áreas protegidas atuam na conservação atual e futura, considerando as áreas de distribuição potencial das espécies, é crucial para conservação da biodiversidade. Neste estudo, realizamos a modelagem de nicho ecológico para o presente e futuro (utilizando dois cenários, de intermediária e alta emissão de gases do efeito estufa, para os anos 2040, 2060, 2080 e 2100), para investigar os efeitos das mudanças climáticas e a eficácia das áreas de proteção em ambientes de água doce, utilizando como modelo de estudo os crustáceos ameaçados de extinção da família Aeglidae. As projeções apontaram redução e fragmentação das áreas de alta adequação ambiental para o gênero *Aegla* nos períodos futuros, evidenciando o efeito negativo das mudanças climáticas sobre o grupo. A ausência total de áreas climaticamente adequadas para a espécie *Aegla obstipa* em alguns períodos sugere que esses efeitos são mais severos em espécies com distribuição restrita. Adicionalmente, as áreas de proteção cobriram pouco as áreas climaticamente adequadas para os eglídeos, reduzindo ainda mais nos períodos futuros. Nossos resultados mostram uma perspectiva crítica para a conservação dos eglídeos, e evidenciam a importância de considerar diferentes táxons e as potenciais mudanças na distribuição das espécies para a conservação da biodiversidade de água doce.

**Palavras-chave:** Aquecimento global, adequação ambiental, MaxEnt, crustáceos

### **1. Introdução**

As mudanças climáticas representam um risco para a biodiversidade, afetando espécies e ecossistemas em escala global. Para o ecossistema de água doce, considerado um dos mais ameaçados do mundo (Naiman e Turner, 2000; Nel et al., 2009; Vörösmarty et al., 2010), as mudanças climáticas representam uma ameaça ainda maior (Poff et al., 2012; Markovic et al., 2014). A grande vulnerabilidade de espécies de água doce às alterações do clima está relacionada à dependência climática de regimes térmicos e hidrológicos e à limitada capacidade de dispersão de muitos organismos, em associação também a outros estressores antrópicos (Woodward et al., 2010). Uma das principais consequências ecológicas do aquecimento climático é a mudança na distribuição geográfica das espécies (Comte et al., 2013; Domisch et al., 2013). Para táxons endêmicos, cujas áreas de distribuição já são

reduzidas, e espécies com capacidade de dispersão limitada, modificações nas áreas de distribuição são ainda mais preocupantes (Woodward et al., 2010; Markovic et al., 2014).

Um aspecto importante para a conservação e gestão do ecossistema de água doce é compreender como as mudanças climáticas podem afetar a distribuição das espécies. Os modelos de nicho ecológico (ENMs; também comumente referidos como modelos de distribuição de espécies (SDMs)) representam uma abordagem útil para projetar potenciais alterações de habitat em resposta às mudanças climáticas (Peterson et al., 2011; Anderson, 2013). Impulsionados pela crescente disponibilidade de dados de distribuição das espécies e das ferramentas de SIG (Sistema de Informação Geográfica), as previsões de ENMs constituem uma valiosa fonte de informações com alto potencial de aplicação em ações de conservação e manejo (Villero et al., 2017). Uma vez que as áreas protegidas (PAs) representam a principal estratégia de conservação da natureza, projeções obtidas com métodos de ENM, como por exemplo o Maxent (Phillips et al., 2019), podem também ser sobrepostas à extensão geográfica da rede de PAs, identificando assim lacunas na representação das espécies, bem como áreas potenciais para expansão ou criação de novas áreas protegidas (Gonçalves et al., 2018).

Um desafio para a conservação da biodiversidade de água doce é o fato de que muitas PAs não visam o ecossistema de água doce em si como alvo de conservação (Reis et al., 2017). Em geral, essas áreas são delineadas principalmente com base na representação de ecossistemas terrestres e em poucos grupos taxonômicos, principalmente vertebrados terrestres (Heino et al., 2009), ou peixes, quando considerados os organismos aquáticos (Filipe et al., 2004; Olden et al., 2010). No entanto, evidências demonstram que os padrões de diversidade diferem entre vertebrados e invertebrados de água doce (Lessmann et al., 2016). Conseqüentemente, a atual configuração de rede de PAs pode não ser representativa da fauna de água doce (Abell et al., 2007; Darwall et al., 2011), fazendo-se necessária para o planejamento de conservação desse ecossistema a inclusão de informações de diferentes grupos taxonômicos, incluindo também invertebrados (Lessmann et al., 2016). Além disso, não se sabe se as PAs existentes serão capazes de comportar futuras mudanças nas áreas de distribuição das espécies de água doce (Heino et al., 2009).

Na América do Sul, região biogeográfica de relevante riqueza de espécies de água doce e alto grau de endemidade e de ameaça (Tisseuil et al., 2013; Reis et al., 2016; Carrizo et al., 2017), os caranguejos de água doce da família Aeglidae são um grupo de invertebrados interessante para a geração de informações relevantes às políticas de conservação da biodiversidade. Endêmica do Sul da América do Sul, onde ocorre em todas as principais

bacias hidrográficas (Bond-Buckup e Buckup, 1994), a família Aeglidae atende a maioria dos critérios propostos para a seleção de táxons indicadores para avaliar a biodiversidade, tendo fácil amostragem, taxonomia e relações filogenéticas bem conhecidas, e distribuição em uma ampla faixa geográfica (Bond-Buckup e Buckup, 1994; Perez-Losada et al., 2002; Perez-Losada et al., 2004). Os eglídeos são ainda indicadores da qualidade do habitat (Cogo e Santos, 2013) e encontram-se altamente ameaçados, necessitando de ações urgentes para a sua conservação (Santos et al., 2017). Além disso, a família apresentou bom desempenho para avaliar áreas prioritárias de conservação de diferentes ecorregiões no Sul da América do sul, considerando índices atuais de riqueza e endemismo (Pérez-Losada et al., 2009; Gonçalves et al., 2018; Tumini et al., 2019).

Nesse estudo, utilizamos o algoritmo MaxEnt (Phillips et al., 2019) e variáveis bioclimáticas atualizadas recentemente (Fick e Hijmans, 2017) para modelar o nicho ecológico dos caranguejos de água doce da família Aeglidae no Sul da América do Sul com o objetivo de: (i) identificar áreas de habitat adequado para a família; (ii) prever os efeitos das mudanças climáticas na extensão das áreas de habitat adequado para eglídeos em cenários climáticos futuros; (iii) estimar a extensão em que as áreas de habitat adequado dos diferentes períodos (presente e futuros) se sobrepõem à atual rede de PAs. Também analisamos se os resultados diferem entre espécies com distribuição ampla (*Aegla platensis*) e restrita (*Aegla obstipa*).

## 2. Materiais e métodos

### 2.1. Área de estudo e registros de ocorrência

A área usada na modelagem abrange uma ampla região do sul da América do Sul, estendendo-se de aproximadamente 13° a 60° S e 34° a 80° W (Fig. 1), somando cerca de 7786213 km<sup>2</sup>, e abrangendo toda a distribuição conhecida atualmente para *Aegla*. Essa área apresenta um amplo espectro de climas, relacionados a longa extensão meridional e ao efeito orográfico da cordilheira dos Andes (Garreaud et al., 2009), com uma faixa altitudinal alcançando mais de 4000 m de elevação.

Compilamos registros de ocorrência de espécies de *Aegla* por meio de revisão da literatura (Jara, 1977; Jara e López, 1981; Bond-Buckup e Buckup, 1994; Jara e Palacios, 1999; Jara et al., 2003; Santos et al., 2009; 2010; 2012; 2013; 2014; 2015; Bond-Buckup et al., 2010a; 2010b; Jara, 2013; Moraes et al., 2016; Jara et al., 2018; Páez et al., 2018;

Zimmermann et al., 2018; Trombetta et al., 2019) e da coleção científica de crustáceos da Universidade Federal de Santa Maria. As coordenadas foram verificadas utilizando o Google Earth, e registros de ocorrências com erros ou carência de georreferenciamento não foram utilizados nas análises. Também foram verificados aglomerados espaciais de localidades, sendo excluído os registros redundantes em cada pixel na escala das variáveis bioclimáticas, tendo em vista que os modelos costumam ser excessivamente ajustados para vieses ambientais e os valores de desempenho do modelo são superestimados (Boria et al., 2014). Ao final desse processo, um total de 342 registros de ocorrência foram obtidos, englobando 67 espécies de *Aegla*, cujos registros de ocorrência foram selecionados após a verificação, e cobrindo toda a distribuição conhecida para o gênero. Para *A. platensis* e *A. obstipa* foram utilizados 23 e 19 registros de ocorrência respectivamente.

## 2.2. Variáveis ambientais

Os dados bioclimáticos e de elevação foram baixados do banco de dados WorldClim 2.1 (Fick e Hijmans, 2017), na resolução de 2.5 arc-min (~5 km<sup>2</sup>). Para evitar o excesso de ajuste do modelo, foram utilizadas 10 das 19 camadas bioclimáticas disponíveis, bio1 (*Annual mean temperature*), bio2 (*Mean diurnal range*), bio4 (*Temperature seasonality*), bio8 (*Mean temperature of wettest quarter*), bio9 (*Mean temperature of driest quarter*), bio10 (*Mean temperature of warmest quarter*), bio12 (*Annual precipitation*), bio13 (*Precipitation of wettest month*), bio14 (*Precipitation of driest month*) e bio 15 (*Precipitation seasonality*), já selecionadas anteriormente em um estudo com *Aegla* por meio de uma matriz de correlação de variáveis e significado biológico para o grupo (Gonçalves et al., 2018).

Os dados das variáveis bioclimáticas incluíram condições atuais, com interpolações de dados observados de 1970 - 2000, e condições futuras para os anos 2040 (2021-2040), 2060 (2041-2060), 2080 (2061-2080) e 2100 (2081-2100), com médias ao longo do período de 20 anos. Para as projeções futuras utilizamos o *Global Climate Model* (GCM), *Beijing Climate Center climate system model version 2* (BCC-CSM2-MR), modelo que demonstrou um bom desempenho na reprodução das características climatológicas da precipitação e suas mudanças temporais e espaciais para o sudoeste da América do Sul (Rivera e Arnould, 2020). Como cenários climáticos futuros, usamos as “*Shared Socioeconomic Pathways*” (SSPs) SSP2-4.5, que representa um cenário intermediário para emissões de gases do efeito estufa (GEE), e SSP5-8.5, que representa um cenário mais alto para emissões de GEE (Meinshausen et al., 2020).

### 2.3. Análise dos dados

Realizamos a modelagem de nicho ecológico no software MaxEnt versão 3.4.1 (Phillips et al., 2019). O MaxEnt é amplamente utilizado para modelagem de nicho ecológico, pois apresenta um melhor desempenho preditivo em comparação com outros algoritmos, em especial diante de tamanhos de amostra pequenos e conjuntos de dados apenas de presença (Elith et al., 2006; Ray et al., 2018). Para a calibração do modelo 70 % dos registros de presença foram usados como dados de treinamento e 30 % foram usados como dados de teste. A modelagem foi replicada 10 vezes usando um método de *bootstrap*, com cada replicação tendo 5.000 iterações e 10.000 número máximo de pontos de fundo. O desempenho do modelo foi verificado usando a área sob a curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*), a AUC (*Area Under the Curve*). Valores de AUC maiores do que 0.5 indicam um desempenho do modelo melhor do que ao acaso, e quanto maior o valor de AUC melhor o modelo, com o valor de 1 representando uma previsão perfeita (Hanley e McNeil, 1982). Por fim, o teste *Jackknife* foi utilizado para observar a contribuição de cada variável para o modelo.

Ao final de cada análise o MaxEnt produz um *raster* contínuo com valores de adequabilidade ambiental que variam de 0 a 1. Para uma melhor visualização dividimos os mapas de adequação ambiental em quatro categorias: *Unsuitable* - de 0 – 0.2, *Low* - de 0.2 - 0.4, *Moderate* - de 0.4 – 0.6 e *High* - de 0.6 – 1 (Zhang et al., 2019), utilizando a opção reclassificação nas ferramentas de análise espacial do software ArcGIS versão 10.5. Após esse processo, quantificamos a área de cada categoria de adequação ambiental dentro da área total analisada e dentro das áreas protegidas (PAs) pertencentes à região do estudo, e observamos as mudanças nas áreas de adequação ambiental entre os períodos atual e futuros. O *shapefile* das PAs foi obtido da fonte de dados oficial sobre áreas protegidas *Protected Planet* ([www.protectedplanet.net](http://www.protectedplanet.net)).

## 3. Resultados

### 3.1. Desempenho do modelo e contribuição das variáveis ambientais

Todos os modelos apresentaram bom desempenho, com valores de AUC variando entre 0.942 e 0.999, indicando uma alta precisão de predição das ENMs. Os resultados do teste *Jackknife* indicaram que as variáveis que mais contribuíram para as previsões atuais e

futuras de adequação ambiental para o gênero *Aegla* foram bio14 (Precipitação no mês mais seco) (44%) e a bio1 (Temperatura média anual) (16,6%). A contribuição desses dois fatores para os modelos atingiu mais de 60%, enquanto as demais variáveis relacionadas à temperatura (bio2, bio4, bio8, bio9 e bio10) e precipitação (bio12, bio13 e bio15) representaram em média 28,3% e 9%, respectivamente, e a elevação representou 2,3%. As variáveis que mais contribuíram para a adequação ambiental de *A. platensis* foram bio15 (Sazonalidade da precipitação) (41,1%), bio4 (Sazonalidade da temperatura) (20,9%) e a bio14 (Precipitação no mês mais seco) (10%). Para *A. obstipa* as variáveis que mais contribuíram para o modelo foram bio14 (Precipitação no mês mais seco) (34,7%), bio2 (Intervalo diurno médio) (21,8%) e a bio8 (Temperatura média do trimestre mais chuvoso) (15,3%) (Tabelas S1).

### 3.2. Presente – adequabilidade ambiental

As projeções de adequabilidade ambiental previstas para *Aegla* mostraram que apenas 2,89% da área de estudo está coberta pela classe de alta adequabilidade ambiental (*High*), seguidos por 3,21% na classe moderadamente adequada (*Moderate*), e 4,56% na classe de baixa adequabilidade (*Low*) (Tabela 1). Entre essas classes de adequação, a alta adequabilidade ambiental foi observada na região central do Chile e no sul do Brasil estendendo-se até o Uruguai (Fig. 2A). Para *A. platensis* as áreas de alta adequabilidade ambiental se concentraram no Norte da Argentina e no Sul do Brasil estendendo-se pelo Uruguai (Fig. 2B), e cobriram apenas 2,35% da área de estudo (Tabela 1). Para *A. obstipa* somente 597.58 km<sup>2</sup> da área ficou na classe de alta adequabilidade ambiental (Tabela 1), localizados no Sul do Brasil (Fig. 2C).

### 3.3. Futuro – adequabilidade ambiental

As projeções para o futuro revelaram que as áreas de alta e moderada adequação ambiental para *Aegla* estão sujeitas à redução substancial em comparação com a atual. Por exemplo, a área altamente adequada pode começar a diminuir já em 2040, chegando a uma redução de 12,95% no cenário SSP2-4.5 (intermediário para emissões de GEE) e 63,87% no cenário SSP5-8.5 (mais alto para emissões de GEE) em 2100 (Tabela 1). Além de reduzidas em comparação com a projeção para o período atual, as predições mostram que as áreas de alta adequação ambiental para o gênero passarão a ficar fragmentadas (Fig. 3).

Em contraste com o observado para *Aegla*, as áreas de moderada adequação ambiental para *A. platensis* aumentam ao longo dos períodos futuros em relação ao atual, em especial no cenário SSP5-8.5 que chega a um aumento de 222% em 2100. No cenário SSP2-4.5, assim como o observado para o gênero, a área altamente adequada começa a diminuir já em 2040, chegando a uma redução de 84,54% em 2100. Contudo, no cenário SSP5-8.5 houve oscilações entre redução e expansão nas áreas de alta adequabilidade ao longo dos períodos, e apesar de ocorrer uma redução nas áreas de alta adequabilidade no período de 2040, há previsão de um aumento de 29% em 2100 (Tabela 1). Em ambos os cenários, a área de alta adequabilidade aumenta na Argentina e vai se estendendo em direção ao Sul do país ao longo do tempo, ocorrendo uma diminuição e fragmentação da faixa de adequabilidade que se estendia do Sul do Brasil ao Uruguai (Fig. S1).

Para *A. obstipa*, as projeções para o futuro mostraram que áreas classificadas como apresentando alta adequabilidade ambiental estarão completamente ausentes em 2040 no cenário SSP5-8.5. Em 2060, as áreas de alta e moderada adequabilidade estarão ausentes em ambos os cenários, e a classe de baixa adequabilidade será reduzida a apenas 73.1 km<sup>2</sup> no cenário SSP2-4.5 e 325.8 km<sup>2</sup> no cenário SSP5-8.5. Em 2080, áreas de alta e moderada adequabilidade ambiental voltam a aparecer, com a alta adequabilidade tendo um aumento significativo no cenário SSP2-4.5 e ficando restrita a 8.8 km<sup>2</sup> no cenário SSP5-8.5 em 2100 (Tabela 1). No cenário SSP2-4.5, além do aumento da área de alta adequabilidade projetado para 2100, as projeções mostram o surgimento de novas áreas de adequação ambiental na extremidade Sul do Brasil (Fig. S2).

### 3.4. PAs e adequabilidade ambiental

Dos 225.373,21 km<sup>2</sup> de área de alta adequabilidade ambiental prevista para *Aegla* no presente, apenas 12.695,68 km<sup>2</sup> (5,6%) estão dentro de PAs, correspondendo a 0,16% da área total do estudo e 1% da área total das PAs (Tabela 2) (Fig. S3.A). Nas projeções do futuro, as áreas de alta adequabilidade ambiental em PAs para o gênero (Fig. S4) diminuem a partir de 2040 no cenário SSP5-8.5 e de 2060 no cenário SSP2-4.5, chegando a menos de 6 mil km<sup>2</sup> (Tabela 2).

Para *A. platensis*, dos 182.593,99 km<sup>2</sup> de área de alta adequabilidade ambiental prevista para o presente, apenas 3.864,93 km<sup>2</sup> (2,1%) estão dentro de PAs, correspondendo a 0.3% da área total das PAs (Tabela 2) (Fig. S3.B). Nas projeções do futuro, as áreas de alta adequabilidade ambiental em PAs para a espécie (Fig. S5) diminuem a partir de 2040 no

cenário SSP2-4.5, já no cenário SSP5-8.5 apesar de chegar a somente 238.14 km<sup>2</sup> em 2040, a classe passa a aumentar dentro de PAs chegando a 10.702,48 km<sup>2</sup> (Tabela 2).

Com as previsões de adequação ambiental restritas a uma pequena área do Sul do Brasil, *A. obstipa* não teve áreas de alta ou moderada adequação ambiental dentro de PAs para o presente (Fig. S3.C), e menos de 1 km<sup>2</sup> dos 958.02 km<sup>2</sup> de baixa adequabilidade ficou em PA (Tabela 2). Nas projeções do futuro, a classe de alta adequabilidade ambiental em PAs para a espécie (Fig. S6) se resume a 29.77 km<sup>2</sup> no cenário SSP2-4.5 em 2100.

#### 4. Discussão

O clima desempenha um importante papel na explicação dos padrões de diversidade em ambientes de água doce, sendo que, temperatura e precipitação são reconhecidas como fatores de grande importância para distribuição dos organismos (Buisson et al., 2008; Guo et al., 2015). Em nosso estudo, entre as variáveis utilizadas nos modelos, a precipitação no mês mais seco (bio14) foi o contribuinte mais importante para a distribuição de adequabilidade do habitat para o gênero *Aegla* e para a espécie *A. obstipa* e a sazonalidade da precipitação (bio15) para a espécie *A. platensis*. A precipitação tem influência direta sobre os ambientes de água doce, no mês mais seco pode influenciar condições hidrológicas como a quantidade e a profundidade da água, e dessa forma tem um grande impacto nas mudanças de nicho das espécies (Guo et al., 2015), afetando aspectos referentes a manutenção das populações. Já a sazonalidade da precipitação está relacionada a melhores condições do ambiente em relação a estabilidade, considerando que os eglídeos são sensíveis a variações de temperatura e oxigênio (Dalosto e Santos, 2011; Cerezer et al., 2020), afetando assim a sobrevivência desses organismos.

Alterações futuras nos padrões de precipitação e temperatura são esperadas para várias regiões do planeta (IPCC, 2017). Para a América do Sul as mudanças nas condições hidroclimatológicas previstas apontam que a maior parte do continente passará a apresentar condições mais secas (Zaninelli et al., 2019; Fernandez et al., 2019), e o sul da América do Sul terá um aumento na temperatura que poderá chegar a 5,5 °C (Nuñez et al., 2009). Um dos efeitos previstos dessas alterações sobre a biodiversidade é a mudança na distribuição geográfica, com muitas espécies tendo uma diminuição ou mudança de alcance em seu habitat climaticamente adequado (Peterson et al., 2011; Comte et al., 2013; Markovic et al., 2014). Nossos resultados mostraram que o habitat adequado para *Aegla* reduzirá significativamente até o final do século XXI, com declínios na adequação do habitat previstos em ambos os



cenários (SSP2-4.5 e SSP5-8.5), refletindo a sensibilidade desses crustáceos a variações ambientais.

Em um estudo com macroinvertebrados dulcícolas, Domisch et al. (2013) associaram perdas de áreas climaticamente adequadas a espécies adaptadas a climas mais frios e a espécies endêmicas, sugerindo que ambas as características tornam as espécies altamente vulneráveis às mudanças climáticas. Os eglídeos são comumente encontrados em águas de baixas temperaturas (Bond-Buckup e Santos, 2007). No que diz respeito aos efeitos das mudanças de temperatura sobre os eglídeos, Cerezer et al. (2020) observaram que o aumento da temperatura da água pode influenciar o comportamento e as respostas bioquímicas em *Aegla longirostri*, influenciando a atividade, o equilíbrio e a taxa de sobrevivência da espécie. Ainda, o aumento da temperatura leva a uma redução do nível de oxigênio dissolvido na água, um fator que também pode afetar a distribuição dos eglídeos, os quais necessitam de águas bem oxigenadas (Dalosto e Santos, 2011). Nossos resultados refletem essa sensibilidade dos eglídeos ao aumento de temperatura, apontando as mudanças climáticas como uma importante ameaça ao grupo.

Além disso, muitas espécies de *Aegla* possuem distribuição restrita assim como *A. obstipa*, para a qual prevê-se perda total das áreas de alta e moderada adequabilidade ambiental em ambos os cenários em alguns períodos, sugerindo um efeito negativo das mudanças climáticas mais proeminente para essas espécies. Essa observação está de acordo com a previsão de que espécies com distribuição restrita são mais ameaçadas pelo aquecimento global futuro em comparação às espécies com distribuição ampla (Malcolm et al., 2006; Parmesan, 2006; Domisch et al., 2013). Contudo, mesmo para as espécies mais amplamente distribuídas como *A. platensis*, uma mudança de alcance na distribuição e grandes perdas de áreas climaticamente adequadas são preocupantes, principalmente se considerarmos a capacidade de dispersão limitada desses organismos (Ayres-Peres et al., 2011), o que pode impossibilitar a chegada a essas novas áreas. Dessa forma, tanto a redução de habitat climaticamente adequado quanto a mudança de alcance na distribuição desses habitats em resposta às alterações climáticas podem sinalizar a necessidade de ações de conservação.

Uma implicação importante da diminuição de áreas adequadas de habitat e da fragmentação de habitat para a conservação são os potenciais efeitos negativos na estrutura genética das populações. A perda e fragmentação de habitat podem levar à diminuição no tamanho efetivo da população e na conectividade, resultando na redução do fluxo gênico e perda de diversidade genética (Johansson et al., 2007; Lindsay et al., 2008; Ortego et al.,

2012; Inoue e Berg, 2016), podendo assim diminuir o potencial adaptativo das populações (Johansson et al., 2007), reduzindo sua viabilidade a longo prazo e aumentando o risco de extinção (Hanski, 1998; Crooks et al., 2017). Considerando que os eglídeos possuem uma limitada capacidade de dispersão (Ayres-Peres et al., 2011) e que cerca de 70% de suas espécies encontram-se sob algum nível de ameaça de extinção (Santos et al., 2017), as previsões observadas em nossos resultados indicam um cenário extremamente preocupante para o grupo.

As PAs são as principais ferramentas para a conservação da biodiversidade, contudo nossos resultados mostraram que as PAs existentes cobrem uma parte muito pequena das áreas climaticamente adequadas para *Aegla*, evidenciando uma baixa eficácia dessas áreas para o grupo. Estudos anteriores com eglídeos já apontavam a necessidade de ampliação de algumas PAs a fim de melhorar a proteção dos habitats de água doce em diferentes ecorregiões estudadas (Gonçalves et al., 2018; Tumini et al., 2019). Além disso, nossos resultados projetaram uma redução drástica da eficácia de conservação das PAs para *Aegla* com base em sua adequação climática futura, uma ameaça à conservação também observada para diferentes grupos taxonômicos e regiões do planeta (Araújo et al., 2011; Ferro et al., 2014; Markovic et al., 2014; Pires et al., 2018). Dado que reforça a ideia de que o atual planejamento de conservação, em relação às PAs, será insuficiente para a proteção da biodiversidade global (Rodrigues et al., 2004).

#### 4.1. Conclusão

Este estudo forneceu a primeira avaliação dos efeitos das futuras mudanças climáticas sobre Aeglidae, uma família de crustáceo de água doce que apesar de possuir grande importância para os ecossistemas aquáticos do sul da América do Sul (Cogo e Santos, 2013), encontra-se extremamente ameaçada, com 70% de suas espécies conhecidas ameaçadas de extinção (Santos et al., 2017). Nossos resultados enfatizam a importância de considerar os impactos das mudanças climáticas para o planejamento da conservação da biodiversidade de água doce. Nesse contexto, sugere-se que a criação de novas PAs ou a ampliação das existentes, para uma maior representatividade dos organismos de água doce nessas áreas. As novas áreas devem não somente englobar as espécies em sua distribuição atual, mas também possibilitar a sua dispersão para habitats mais adequados à medida que as condições ambientais vão se modificando.

## Referências

- Abell, R., Allan, J.D., Lehner, B., 2007. Unlocking the potential of protected areas for freshwaters. *Biol. Conserv.* 134, 48-63.
- Anderson, R.P., 2013. A framework for using niche models to estimate impacts of climate change on species distributions. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1297, 8-28.
- Araújo, M.B., Alagador, D., Cabeza, M., Nogués-Bravo, D., Thuiller, W., 2011. Climate change threatens European conservation areas. *Ecol. Lett.* 14, 484-492.
- Ayres-Peres, L., Coutinho, C., Baumart, J.S., Gonçalves, A.S., Araújo, P.B., Santos, S., 2011. Radio-telemetry techniques in the study of displacement of freshwater anomurans. *Nauplius*, 19, 41-54.
- Bond-Buckup, G., Buckup, L., 1994. A família Aeglidae (Crustacea, Decapoda, Anomura). *Arq. Zool.* 32, 159-347.
- Bond-Buckup, G., Santos, S., 2007. Crustáceos anomuros de águas continentais: diversidade e aspectos biológicos. *Ciência & Ambiente* 35, 47-54.
- Bond-Buckup, G., Jara, C.G., Buckup, L., Bueno, A.P., Perez-Losada, M., Crandall, K.A., 2010a. Description of a new species of Aeglidae, and new records of related species from river basins in Argentina (Crustacea, Anomura). *Zootaxa* 2343, 18-30.
- Bond-Buckup, G., Jara, C.G., Buckup, L., Pérez-Losada, M., Crandall, K.A., Santos, S., 2010b. New species and new records of endemic freshwater crabs from the Atlantic forest in Southern Brazil (Anomura: Aeglidae). *J. Crustacean Biol.* 30, 495-502.
- Boria, R.A., Olson, L.E., Goodman, S.M., Anderson, R.P., 2014. Spatial filtering to reduce sampling bias can improve the performance of ecological niche models. *Ecol. Model.* 275, 73-7.
- Buisson, L., Thuiller, W., Lek, S., Lim, P., Grenouillet, G., 2008. Climate change hastens the turnover of stream fish assemblages. *Global Change Biol.* 14, 2232-2248.
- Carrizo, S.F., Jähnig, S.C., Bremerich, V., Freyhof, J., Harrison, I., He, F., Langhans, S. D., Tockner, K., Zarfl, C., Darwall, W., 2017. Freshwater megafauna: flagships for freshwater biodiversity under threat. *BioScience* 67, 919-927.
- Cerezer, C., Leitemperger, J.W., do Amaral, A.M.B., Ferreira, B. C., Marins, A. T., Loro, V. L., Bartholomei-Santos, M. L. & Santos, S. 2020. Raising the water temperature: consequences in behavior and biochemical biomarkers of the freshwater crab *Aegla longirostri* (Crustacea, Anomura). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27, 45349–45357.
- Cogo, G.B., Santos, S., 2013. The role of aeglids in shredding organic matter in Neotropical streams. *J. Crustacean Biol.* 33, 519-526.
- Comte, L., Buisson, L., Daufresne, M., Grenouillet, G., 2013. Climate-induced changes in the distribution of freshwater fish: observed and predicted trends. *Freshwater Biol.* 58, 625-639.
- Crooks, K.R., Burdett, C.L., Theobald, D.M., King, S.R.B., Di Marco, M., Rondinini, C., Boitani, L., 2017. Quantification of habitat fragmentation reveals extinction risk in terrestrial mammals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 114, 7635-7640.
- Dalosto, M.M., Santos, S., 2011. Differences in oxygen consumption and diel activity as adaptations related to microhabitat in Neotropical freshwater decapods (Crustacea). *Comp. Biochem. Physiol. A.* 160, 461-466.
- Darwall, W.R.T., Holland, R.A., Smith, K.G., Allen, D., Brooks, E.G.E., Katarya, V., Pollock, C.M., Shi, Y., Clausnitzer, V., Cumberlidge, N., Cuttelod, A., Dijkstra, K.D.B., Diop, M.D., García, N., Seddon, M.B., Skelton, P.H., Snoeks, J., Tweddle, D., Vié, J.C., 2011. Implications of bias in conservation research and investment for freshwater species. *Conserv. Lett.* 4, 474-482.

- Domisch, S., Araújo, M.B., Bonada, N., Pauls, S.U., Jähnig, S.C., Haase, P., 2013. Modelling distribution in European stream macroinvertebrates under future climates. *Glob. Chang. Biol.* 19, 752-762.
- Elith, J., Catherine, H.G., Anderson, R.P., Dudík, M., Ferrier, S., Guisan, A., Hijmans, R.J., Huettmann, F., Leathwick, J.R., Lehmann, A., Li, J., Lohmann, L.G., Loiselle, B.A., Manion, G., Moritz, C., Nakamura, M., Nakazawa, Y., Overton, J.M.M., Townsend Peterson, A., Phillips, S.J., Richardson, K., Scachetti-Pereira, R., Schapire, R.E., Soberón, J., Williams, S., Wisz, M.S., Zimmermann, N.E., 2006. Novel methods improve prediction of species' distributions from occurrence data. *Ecography* 29, 129-151.
- Fernandez, J.P.R., Franchito, S.H., Rao, V.B., 2019. Future Changes in the Aridity of South America from Regional Climate Model Projections. *Pure Appl. Geophys.* 176, 2719-2728.
- Ferro, V.G., Lemes, P., Melo, A.S., Loyola, R., 2014. The reduced effectiveness of protected areas under climate change threatens atlantic forest tiger moths. *PLoS ONE* 9, e107792.
- Fick, S.E., Hijmans, R.J., 2017. WorldClim 2: new 1km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *Int. J. Climatol.* 37, 4302-4315.
- Filipe, A.F., Marques, T.A., Seabra, S., Tiago, P., Ribeiro, F., Moreira da Costa, L., Cowx, I.G., Collares-Pereira, J., 2004. Selection of priority areas for fish conservation in Guadiana river basin. Iberia Peninsula. *Conserv. Biol.* 18, 189-200.
- Garreaud, R.D., Vuille, M., Compagnucci, R., Marengo, J., 2009. Present-day South American climate. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 281, 180-195.
- Gonçalves, A.S., Costa, G.C, Bond-Buckup, G., Bartholomei-Santos, M.L., Santos, S., 2018. Priority areas for conservation within four freshwater ecoregions in South America: A scale perspective based on freshwater crabs (Anomura, Aeglidae). *Aquat. Conserv. Mar. Freshwat. Ecosyst.* 28, 1077-1088.
- Guo, C., Lek, S., Ye, S., Li, W., Liu, J., Chen, Y., Li, Z., 2015. Predicting fish species richness and assemblages with climatic, geographic and morphometric factors: A broad-scale study in Chinese lakes. *Limnologica* 54, 66-74.
- Hanley, J.A., McNeil, B.J., 1982. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. *Radiology* 143, 29-036.
- Hanski, I.K., 1998. Metapopulation dynamics. *Nature* 396, 41-49.
- Heino, J., Virkkala, R., Toivonen, H., 2009. Climate change and freshwater biodiversity: detected patterns, future records and adaptations in northern regions. *Biol. Rev.* 84, 39-54.
- Inoue, K., Berg, D.J., 2017. Predicting the effects of climate change on population connectivity and genetic diversity of an imperiled freshwater mussel, *Cumberlandia monodonta* (Bivalvia: Margaritiferidae), in riverine systems. *Global Change Biol.* 23, 94-107.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). 2017. IPCC Fifth Assessment Report (AR5) observed climate change impacts database, version 2.01.
- Jara, C., Palacios, V.L., 1999. Two new species of *Aegla* Leach (Crustacea: Anomura: Aeglidae) from southern Chile. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 112, 106-109.
- Jara, C., 1977. *Aegla rostrata* n. sp., (Decapoda, Aeglidae), nuevo crustáceo dulceacuicola del Sur de Chile. *Stud. Neotrop. Fauna Environ.* 12, 165-176.
- Jara, C., 2013. A checklist of the Chilean species of the genus *Aegla* (Decapoda, Anomura, Aeglidae). *Crustaceana* 86, 1433-1440.
- Jara, C.G., Pérez-Losada, M., Crandall, K.A., 2018. *Aegla chilota*, new species of anomuran freshwater crab from Chiloé Island, western Patagonia. *Nauplius* 26, 1-11.

- Jara, C.G., López, M.T., 1981. A new species of freshwater crab (Crustacea: Anomura: Aeglidae) from insular south Chile. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 94, 88-93.
- Jara, C.G., Pérez-Losada, M., Crandall, K.A., 2003. A new species of freshwater anomuran crab of the genus *Aegla* (Crustacea: Decapoda: Aeglidae) from the Nahuelbuta Coastal Range, Chile. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 116, 933-942.
- Johansson, M., Primmer, C.R., Merilä, J., 2007. Does habitat fragmentation reduce fitness and adaptability? A case study of the common frog (*Rana temporaria*). *Mol. Ecol.* 16, 2693-2700.
- Lessmann, J., Guayasamin, J.M., Casner, K.L., Flecker, A.S., Funk, W.C., Ghalambor, C.K., Gill, B.A., Jacomé-Negrete, I., Kondratieff, B.C., Poff, L.N., Schreckinger, J., Thomas, S.A., Toral-Contreras, E., Zamudio, K.R., Encalada, A.C., 2016. Freshwater vertebrate and invertebrate diversity patterns in an Andean-Amazon basin: Implications for conservation efforts. *Neotrop. Biodivers.* 2, 99-114.
- Lindsay, D.L., Barr, K.R., Lance, R.F., Tweddale, S.A., Hayden, T.J., Leberg, P.L., 2008. Habitat fragmentation and genetic diversity of an endangered, migratory songbird, the Golden-cheeked Warbler (*Dendroica chrysoparia*). *Mol. Ecol.* 17, 2122-2133.
- Malcolm, J.R., Liu, C., Neilson, R.P., Hansen, L., Hannah, L., 2006. Global warming and extinctions of endemic species from biodiversity hotspots. *Conserv. Biol.* 20, 538-548.
- Markovic, D., Carrizo, S., Freyhof, J., Cid, N., Lengyel, S., Scholz, M., Kasperdus, H., Darwall, W., 2014. Europe's freshwater biodiversity under climate change: distribution shifts and conservation needs. *Divers. Distrib.* 20, 1097-1107.
- Meinshausen, M., Nicholls, Z., Lewis, J., Gidden, M.J., Vogel, E., Freund, M., Beyerle, U., Gessner, C., Nauels, A., Bauer, N., Canadell, J.G., Daniel, J.S., John, A., Krummel, P., Luderer, G., Meinshausen, N., Montzka, S.A., Rayner, P., Reimann, S., Smith, S.J., van den Berg, M., Velders, G.J.M., Vollmer, M., Wang, H.J., 2020. The shared socio-economic pathway (SSP) greenhouse gas concentrations and their extensions to 2500. *Geosci. Model Dev.* 13(8), 3571-3605.
- Moraes, J.C., Terossi, M., Buranelli, R.C., Tavares, M., Mantelatto, F.L., Bueno, S.L.S., 2016. Morphological and molecular data reveal the cryptic diversity among populations of *Aegla paulensis* (Decapoda, Anomura, Aeglidae), with descriptions of four new species and comments on dispersal routes and conservation status. *Zootaxa* 4193, 1-48.
- Naiman, R.J., Turner, M.G. 2000. A future perspective on North America's freshwater ecosystems. *Ecol. Appl.* 10, 958-970.
- Nel, J.L., Roux, D.J., Abell, R., Ashton, P.J., Cowling, R.M., Higgins, J.V., Thieme, M., Viers, J.H., 2009. Progress and challenges in freshwater conservation planning. *Aquat. Conserv.* 19, 474-485.
- Núñez, M.N., Solman, S.A., Cabré, M.F., 2009. Regional climate change experiments over southern South America. II: Climate change scenarios in the late twenty-first century. *Clim. Dyn.* 32, 1081-1095.
- Olden, J.D., Kennard, M.J., Leprieur, F., Tedesco, P.A., Winemiller, K.O., García-Berthou, E., 2010. Conservation biogeography of freshwater fishes: Recent progress and future challenges. *Divers. Distrib.* 16, 496-513.
- Ortego, J., Aguirre, M.P., Cordero, P.J., 2012. Landscape genetics of a specialized grasshopper inhabiting highly fragmented habitats: a role for spatial scale. *Divers. Distrib.* 18, 481-492.
- Páez, F. P., Marçal, I. C., Souza-Shibatta, L., Gregati, R. A., Sofia, S. H., Teixeira, G. M., 2018. A new species of *Aegla* Leach, 1820 (Crustacea, Anomura) from the Iguazu River basin, Brazil. *Zootaxa* 4527(3), 335-346.

- Parmesan, C., 2006. Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 37, 637-669.
- Pérez-Losada, M., Bond-Buckup, G., Jara, C.G., Crandall, K.A., 2004. Molecular systematics and biogeography of the Southern South American freshwater "crabs" *Aegla* (Decapoda: Anomura: Aeglidae) using multiple heuristic tree search approaches. *Syst. Biol.* 53, 767-780.
- Pérez-Losada, M., Bond-Buckup, G., Jara, C.G., Crandall, K.A., 2009. Conservation assessment of southern South American freshwater ecoregions on the basis of the distribution and genetic diversity of crabs from the genus *Aegla*. *Conserv. Biol.* 23, 692-702.
- Pérez-Losada, M., Jara, C.G., Bond-Buckup, G., Porter, M.L., Crandall, K.A., 2002. Phylogenetic position of the freshwater Anomuran family Aeglidae. *J. Crustacean Biol.* 22, 670-676.
- Peterson, A.T., Soberón, S., Pearson, R.G., Anderson, R.P., Martínez-Meyer, E., Nakamura, M., Araújo, M.B., 2011. Ecological niches and geographic distributions. Princeton University Press, Princeton.
- Phillips, S.J., Dudík, M., Schapire, R.E. 2019. **Maxent software for modeling species niches and distributions** (Version 3.4.1). Available online [http://biodiversityinformatics.amnh.org/open\\_source/maxent/](http://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/maxent/) (accessed on 2019-09-11).
- Pires, M.M., Périco, E., Renner, S., Sahlén, G., 2018. Predicting the effects of future climate change on the distribution of an endemic damselfly (Odonata, Coenagrionidae) in subtropical South American grasslands. *J. Insect Conserv.* 22, 303-319.
- Poff, N.L., Olden, J.D., Strayer, D.L., 2012. Climate change and freshwater fauna extinction risk. In: Hannah LJ (ed) *Saving a million species: extinction risk from climate change*. Island Press, Seattle, pp 309 - 336.
- Ray, D., Behera, M.D., Jacob, J., 2018. Evaluating Ecological Niche Models: A comparison between Maxent and GARP for predicting distribution of *Hevea brasiliensis* in India. *Proc. Natl. Acad. Sci., India, Sect. B Biol. Sci.* 88, 1337-1343.
- Reis, V., Hermoso, V., Hamilton, S.K., Ward, D., Fluet-Chouinard, E., Lehner, B., Linke, S., 2017. A global assessment of inland wetland conservation status. *BioScience* 67, 523-533.
- Rivera, J.A., Arnould, G., 2020. Evaluation of the ability of CMIP6 models to simulate precipitation over Southwestern South America: Climatic features and long-term trends (1901–2014). *Atmos. Res.* 241, 104953.
- Rodrigues, A.S.L., Andelman, S.J., Bakarr, M.I., Boitani, L., Brooks, T.M., Cowling, R.M., Fishpool, L.D.C., Fonseca, G.A.B. da., Gaston, K.J., Hoffmann, M., Long, J.S., Marquet, P.A., Pilgrim, J.D., Pressey, R.L., Schipper, J., Sechrest, W., Stuart, S.N., Underhill, L.G., Waller, R.W., Watts, M.E.J., Yan, X., 2004. Effectiveness of the global protected area network in representing species diversity. *Nature* 428, 9-12.
- Santos, S., Bond-Buckup, G., Buckup, L., Bartholomei-Santos, M.L., Pérez-Losada, M., Jara, C.G., Crandall, K.A., 2015. Three new species of Aeglidae (*Aegla* Leach, 1820) from Paraná State, Brazil. *J. Crustacean Biol.* 35, 839-849.
- Santos, S., Bond-Buckup, G., Buckup, L., Loureiro, T.G., Gonçalves, A.S., Verdi, A., Scarabino, F., Clavijo, C., 2014. The Aeglidae of Uruguay (Decapoda, Anomura), with the description of a new species of *Aegla*. *Crustaceana Monographs* 19, 195-205.
- Santos, S., Bond-Buckup, G., Buckup, L., Pérez-Losada, M., Finley, M., Crandall, K.A. 2012. Three new species of *Aegla* (Anomura) freshwater crabs from the Upper Uruguay River hydrographic basin in Brazil. *J. Crustacean Biol.* 32, 529-540.

- Santos, S., Bond-Buckup, G., Gonçalves, A.S., Bartholomei-Santos, M.L., Buckup, L., Jara, C.G., 2017. Diversity and conservation status of *Aegla* spp. (Anomura, Aeglidae): anupdate. *Nauplius* 25, e2017011.
- Santos, S., Bond-Buckup, G., Pérez-Losada, M., Bartholomei-Santos, M.L., Buckup, L., 2009. *Aegla manuinflata*, a new species of freshwater anomuran (Decapoda: Anomura: Aeglidae). *Zootaxa* 2088, 31-40.
- Santos, S., Bond-Buckup, G., Pérez-Losada, M., Jara, C.G., Crandall, K.A., Buckup, L., 2010. New records and description of a new species of Aeglidae (Crustacea: Anomura) from river basins in Southern Brazil. *Nauplius* 18, 79-86.
- Santos, S., Jara, C.G., Bartholomei-Santos, M.L., Pérez-Losada, M., Crandall, K.A., 2013. New species and records of the genus *Aegla* Leach, 1820 (Crustacea, Anomura, Aeglidae) from the West-Central region of Rio Grande do Sul, Brazil. *Nauplius* 21, 211-223.
- Tisseuil, C., Cornu, J.F., Beauchard, O., Brosse, S., Darwall, W., Holland, R., Hugueny, B., Tedesco, P.A., Oberdorff, T., 2013. Global diversity patterns and cross taxa convergence in freshwater systems. *J. Anim. Ecol.* 82, 365-376.
- Trombetta, A.de S., Páez, F.P., Santos, S., Teixeira, G.M., 2019. *Aegla nebeccana* n. sp. (Crustacea, Aeglidae) from Ivaí Basin, Paraná, Brazil. *Zootaxa* 4712(1), 138-150.
- Tumini, G., Giri, F., Williner, V., Collins, P.A., Morrone, J.J., 2019. Selecting and ranking areas for conservation of *Aegla* (Crustacea: Decapoda: Anomura) in southern South America integrating biogeography, phylogeny and assessments of extinction risk. *Aquat. Conserv.* 29, 693-705.
- Villero, D., Pla, M., Camps, D., Ruiz-Olmo, J., Brotons, L., 2017. Integrating species distribution modelling into decision-making to inform conservation actions. *Biodivers. Conserv.* 26, 251-271.
- Vörösmarty, C.J., McIntyre, P.B., Gessner, M.O., Dudgeon, D., Prusevich, A., Green, P., Glidden, S.E., Bunn, S.E., Sullivan, C.A., Reidy Liermann, C., Davies, P.M., 2010. Global threats to human water security and river biodiversity. *Nature* 467, 555-561.
- Woodward, G., Perkins, D.M., Brown, L.E., 2010. Climate change and freshwater ecosystems: impacts across multiple levels of organization. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 365, 2093-2106.
- Zaninelli, P.G., Menéndez, C.G., Falco, M., López-Franca, N., Carril, A.F., 2019. Future hydroclimatological changes in South America based on an ensemble of regional climate models. *Clim. Dyn.* 52, 819-830.
- Zhang, J., Jiang, F., Li, G., Qin, W., Li, S., Gao, H., Cai, Z., Lin, G., Zhang, T., 2019. Maxent modeling for predicting the spatial distribution of three raptors in the Sanjiangyuan National Park, China. *Ecol. Evol.* 9, 6643-6654.
- Zimmermann, B.L., Crivellaro, M.S., Hauschild, C.B., Bartholomei-Santos, M.L., Crandall, K.A., Pérez-Losada, M., Giri, F., Collins, P., Santos, S., 2018. Phylogeography reveals unexpectedly low genetic diversity in a widely distributed species: the case of the freshwater crab *Aegla platensis* (Decapoda: Anomura). *Biol. J. Linn. Soc.* XX, 1-15.

Tabela 1 – Quantificação em km<sup>2</sup> das áreas de adequação ambiental projetadas pela modelagem de nicho ecológico para o gênero *Aegla*, e as espécies *Aegla platensis* e *Aegla obstipa*, em cada classe (*Unsuitable*: 0 – 0.2, *Low*: 0.2 - 0.4, *Moderate*: 0.4 – 0.6 e *High*: 0.6 – 1). As letras ao lado dos períodos correspondem ao cenário, a - SSP2-4.5 (cenário para emissões intermediárias de gases do efeito estufa) e b- SSP5-8.5 (cenário para emissões mais altas de gases do efeito estufa).

Period	<i>Aegla</i>			<i>A. platensis</i>			<i>A. obstipa</i>		
	Low suitability	Moderate suitability	High suitability	Low suitability	Moderate suitability	High suitability	Low suitability	Moderate suitability	High suitability
Present	355226.28 (4.56%)	249810.92 (3.21 %)	225373.21 (2.89 %)	321584.62 (4.13 %)	105381.19 (1.35 %)	182593.99 (2.35 %)	958.02 (0.25 %)	1003.94 (0.26 %)	597.58 (0.15 %)
2040a	405671.39 (5.21 %)	154948.47 (1.99 %)	196185.12 (2.52 %)	492738.68 (6.33 %)	166456.54 (2.14 %)	35692.65 (0.46 %)	691.26 (0.18 %)	785.19 (0.20 %)	208.63 (0.05 %)
2040b	367901.68 (4.73 %)	208929.93 (2.68 %)	134493.59 (1.73%)	472680.66 (6.07 %)	87739.26 (1.13 %)	14288.64 (0.18 %)	2637.48 (0.68 %)	116.33 (0.03 %)	
2060a	300916.8 (3.86 %)	137135.33 (1.76 %)	115045.59 (1.48 %)	464153.81 (5.96 %)	156146.32 (2.00 %)	22558.17 (0.29 %)	73.14 (0.02 %)		
2060b	339072.72 (4.35 %)	134329.74 (1.73 %)	143115.18 (1.84 %)	678006.87 (8.71 %)	336615.54 (4.32 %)	188372.36 (2.42 %)	325.77 (0.08 %)		
2080a	395565.21 (5.08 %)	142555.6 (1.83 %)	125906.2 (1.62 %)	512304.87 (6.58 %)	110473 (1.42 %)	15906.72 (0.20 %)	1141.56 (0.29 %)	614.63 (0.16 %)	158.79 (0.04 %)
2080b	380883.4 (4.89 %)	151664.26 (1.95 %)	84350.36 (1.08 %)	599840.63 (7.70 %)	312541.29 (4.01 %)	100770.84 (1.29 %)	1869.7 (0.48 %)	1092.26 (0.28 %)	309.04 (0.08 %)
2100a	398256.37 (5.11 %)	159080.94 (2.04 %)	119886.72 (1.54 %)	385952.83 (4.96 %)	133570.89 (1.72 %)	28230.42 (0.36 %)	5328.59 (1.37 %)	2806.2 (0.72 %)	3637.6 (0.94 %)
2100b	345203.99 (4.43 %)	112020.14 (1.44 %)	81415.73 (1.05 %)	840787.43 (10.80 %)	339343.16 (4.36 %)	235581.03 (3.03 %)	1430.58 (0.37 %)	190.04 (0.05 %)	8.79 (0.00 %)

Área de estudo 7786213.67 km<sup>2</sup> (100 %).



Tabela 2 - Quantificação em km<sup>2</sup> das áreas de adequação ambiental dentro de áreas protegidas (PAs) projetadas pela modelagem de nicho ecológico para o gênero *Aegla*, e as espécies *Aegla platensis* e *Aegla obstipa*, em cada classe (*Unsuitable*: 0 – 0.2, *Low*: 0.2 - 0.4, *Moderate*: 0.4 – 0.6 e *High*: 0.6 – 1). As letras ao lado dos períodos correspondem ao cenário, a - SSP2-4.5 (cenário para emissões intermediárias de gases do efeito estufa) e b- SSP5-8.5 (cenário para emissões mais altas de gases do efeito estufa).

Period	<i>Aegla</i>			<i>A. platensis</i>			<i>A. obstipa</i>		
	Low suitability	Moderate suitability	High suitability	Low suitability	Moderate suitability	High suitability	Low suitability	Moderate suitability	High suitability
Present	43880.13 (3.64 %)	16880.67 (1.40 %)	12695.68 (1.05 %)	34286.85 (2.85 %)	10609.7 (0.88 %)	3864.93 (0.32 %)	0.75 (0.00 %)		
2040a	54246.55 (4.50 %)	12396.4 (1.03 %)	13225.82 (1.10 %)	30057.55 (2.49 %)	15020.7 (1.25 %)	2120.48 (0.18 %)	11.15 (0.00 %)		
2040b	50470.84 (4.19 %)	16953.77 (1.41 %)	5319.38 (0.44 %)	34856.2 (2.89 %)	6408.46 (0.53 %)	238.14 (0.02 %)	14.84 (0.00 %)		
2060a	43857.33 (3.64 %)	10335.96 (0.86 %)	5368.6 (0.45 %)	30558.15 (2.54 %)	12602.13 (1.05 %)	2766.89 (0.23 %)			
2060b	46502.3 (3.86 %)	9862.81 (0.82 %)	5024.94 (0.42 %)	60107.58 (4.99 %)	19881.46 (1.65 %)	13641.73 (1.13 %)			
2080a	56876.27 (4.72 %)	14787.92 (1.23 %)	5408.3 (0.45 %)	40410.53 (3.35 %)	6827.71 (0.57 %)	1493.96 (0.12 %)	0.74 (0.00 %)		
2080b	65557.18 (5.44 %)	17677.58 (1.47 %)	6780.16 (0.56 %)	45051.7 (3.74 %)	22871.67 (1.90 %)	8686.01 (0.72 %)	27.71 (0.00 %)		
2100a	69282.84 (5.75 %)	18385.06 (1.53 %)	9572.98 (0.79 %)	26701.12 (2.22 %)	12564.86 (1.04 %)	737.42 (0.06 %)	635.67 (0.05 %)	101.06 (0 %)	29.77 (0 %)
2100b	85933.91 (7.13 %)	19476.58 (1.62 %)	7258.08 (0.60 %)	57218.17 (4.75 %)	32152.41 (2.67 %)	10702.48 (0.89 %)	42.72 (0.00 %)	1.49 (0 %)	

Área das PAs 1205064.23 km<sup>2</sup> (100%).

Tabela S1. Porcentagem de contribuição das variáveis do banco de dados WorldClim 2.1 (Fick e Hijmans, 2017) para os modelos de nicho ecológico para o gênero *Aegla*, e para as espécies *Aegla platensis* e *Aegla obstipa*, teste *Jackknife*, para os períodos e cenários analisados.

<b>Variables</b>	<b><i>Aegla</i></b>	<b><i>A. platensis</i></b>	<b><i>A. obstipa</i></b>
bio1 ( <i>Annual mean temperature</i> )	16.6	0	0
bio2 ( <i>Mean diurnal range</i> )	9.2	1.2	21.8
bio4 ( <i>Temperature seasonality</i> )	6.4	20.9	11.6
bio8 ( <i>Mean temperature of wettest quarter</i> )	1.4	5.4	15.3
bio9 ( <i>Mean temperature of driest quarter</i> )	8.7	2.9	0
bio10 ( <i>Mean temperature of warmest quarter</i> )	2.6	4.7	0
bio12 ( <i>Annual precipitation</i> )	0.8	0.1	0
bio13 ( <i>Precipitation of wettest month</i> )	2.8	7.4	0
bio14 ( <i>Precipitation of driest month</i> )	44	10	34.7
bio15 ( <i>Precipitation seasonality</i> )	5.4	41.1	5.9
Elevation	2.3	6.3	10.6

Fick, S.E., Hijmans, R.J., 2017. WorldClim 2: new 1 km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *Int. J. Climatol.* 37, 4302-4315.

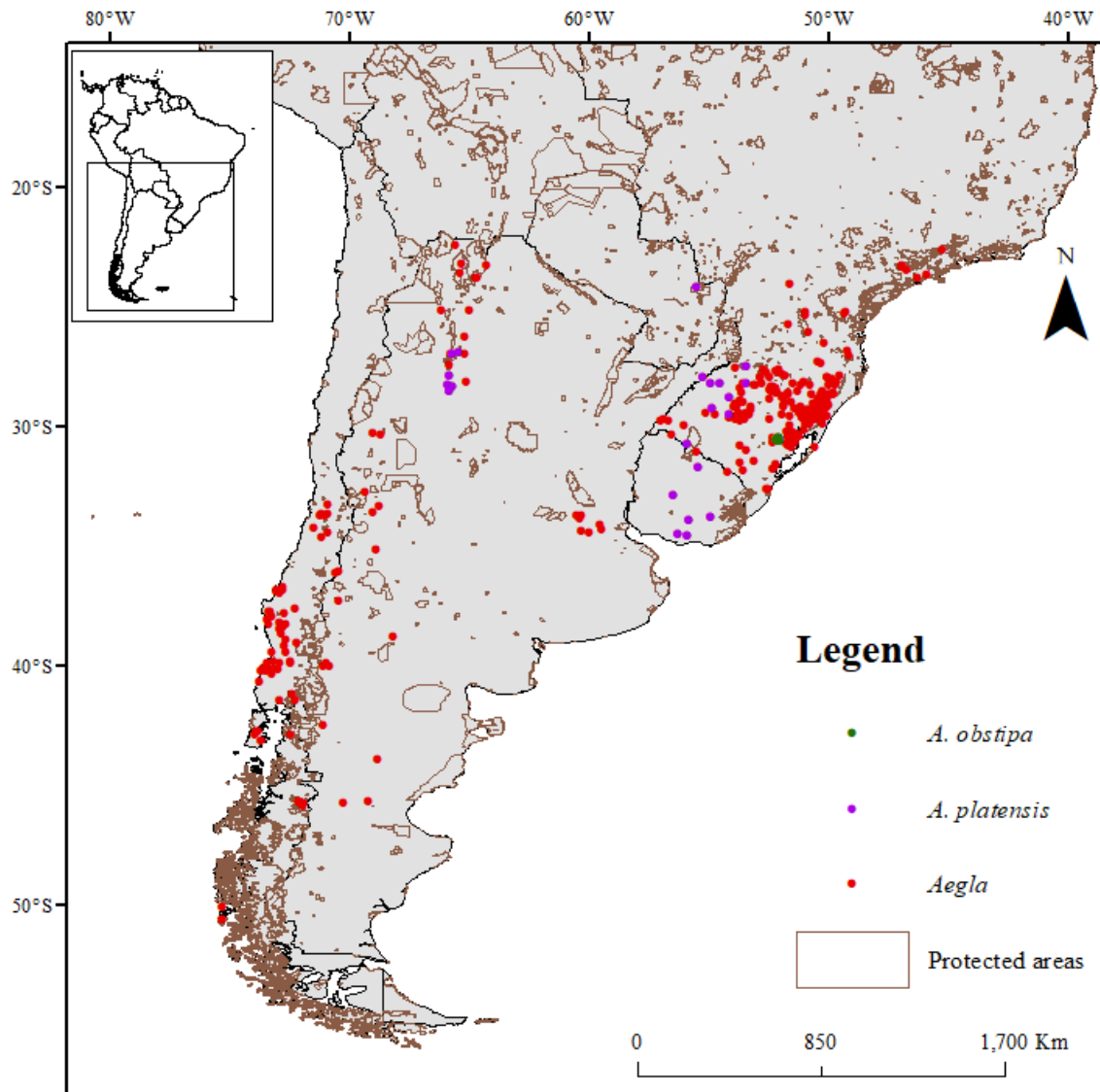


Figura 1 - Mapa da área de estudo, no Sul da América do Sul, mostrando os pontos de ocorrência de *Aegla*, *Aegla platensis* e *Aegla obstipa* utilizados nas análises. Os pontos coloridos representam os registros de ocorrência das espécies, vermelho para *Aegla*, lilás para *A. platensis* e verde para *A. obstipa*. As linhas marrons sólidas delimitam as áreas protegidas.

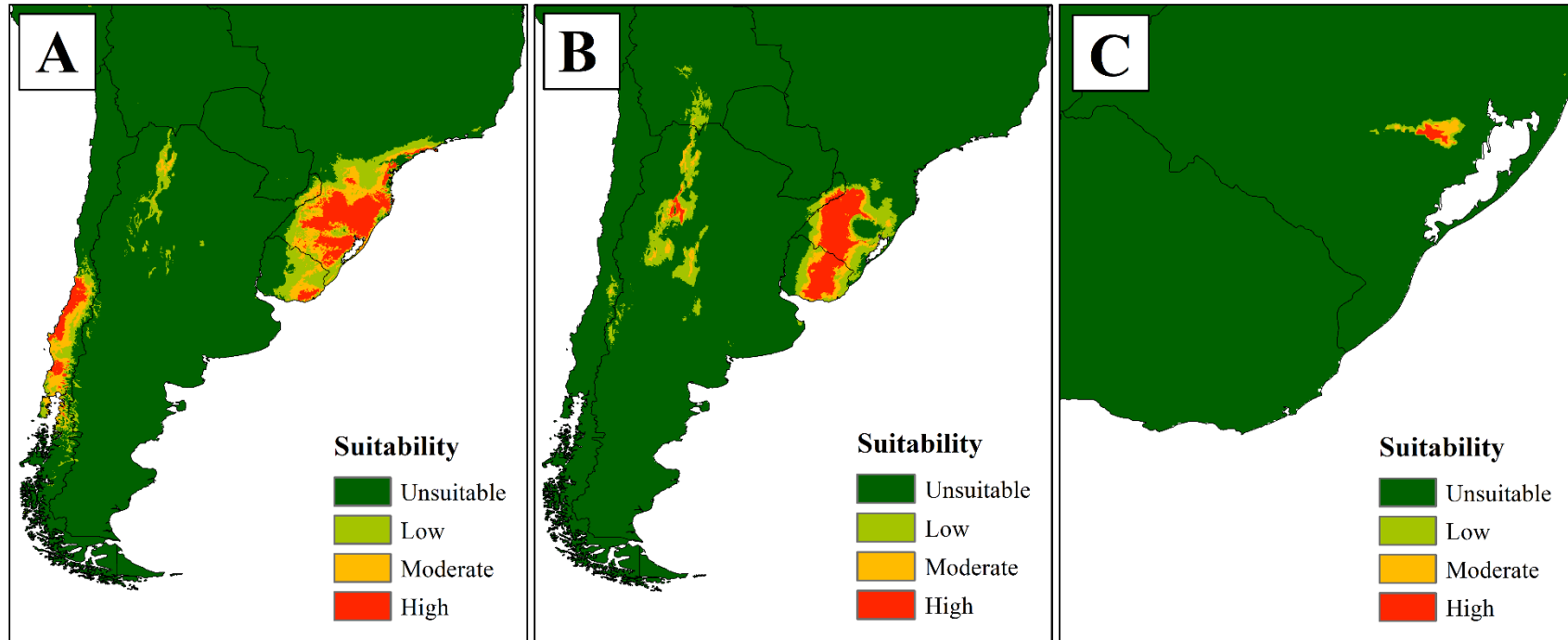


Figura 2 - Distribuição das áreas de adequabilidade ambiental das modelagens de nicho ecológico (ENMs) para (A) gênero *Aegla*, (B) *Aegla platensis* e (C) *Aegla obstipa*, para o período presente. Para *Aegla obstipa* foi realizado um recorte para aproximar as áreas de adequabilidade a fim de melhorar a visualização.

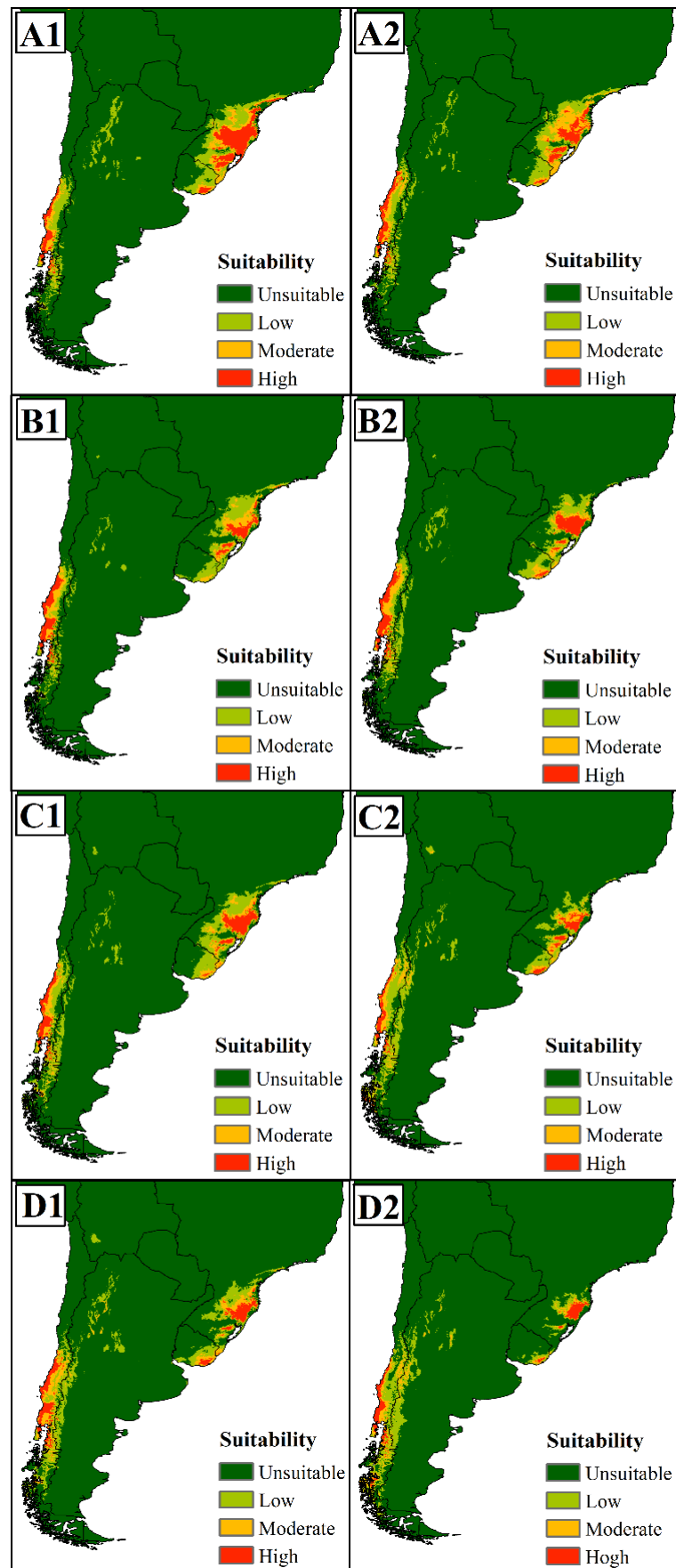


Figura 3 - Projeções futuras das áreas de adequabilidade ambiental das modelagens de nicho ecológico (ENMs) para *Aegla*. As letras representam os períodos: A) 2021-2040, B) 2041-2060, C) 2061-2080, e D) 2081-2100 e os números representam os cenários socioeconômicos: 1) SSP2-4.5, 2) SSP5-8.5.

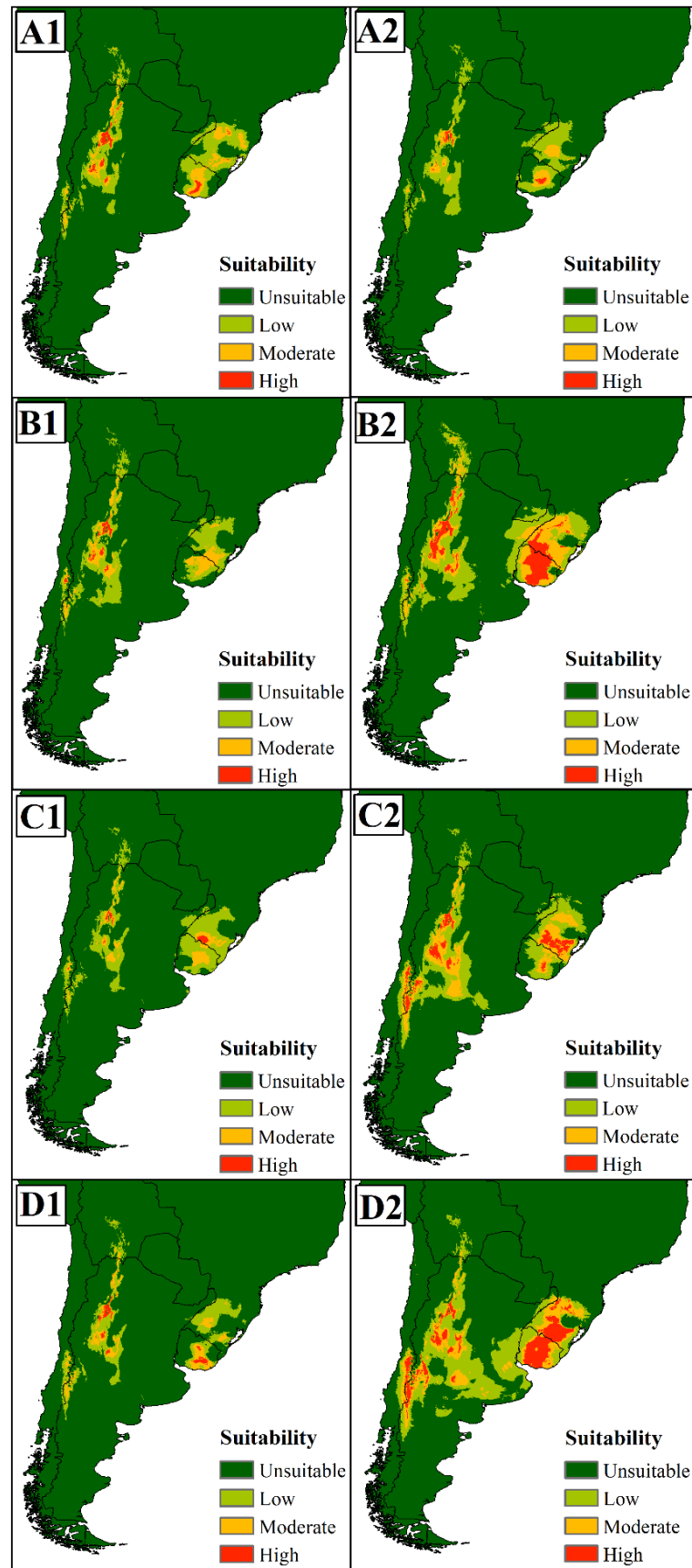


Figura S1. Projeções futuras das áreas de adequabilidade ambiental das modelagens de nicho ecológico (ENMs) para *Aegla platensis*. As letras representam os períodos: A) 2021-2040, B) 2041-2060, C) 2061-2080, e D) 2081-2100 e os números representam os cenários socioeconômicos: 1) SSP2-4.5, 2) SSP5-8.5.

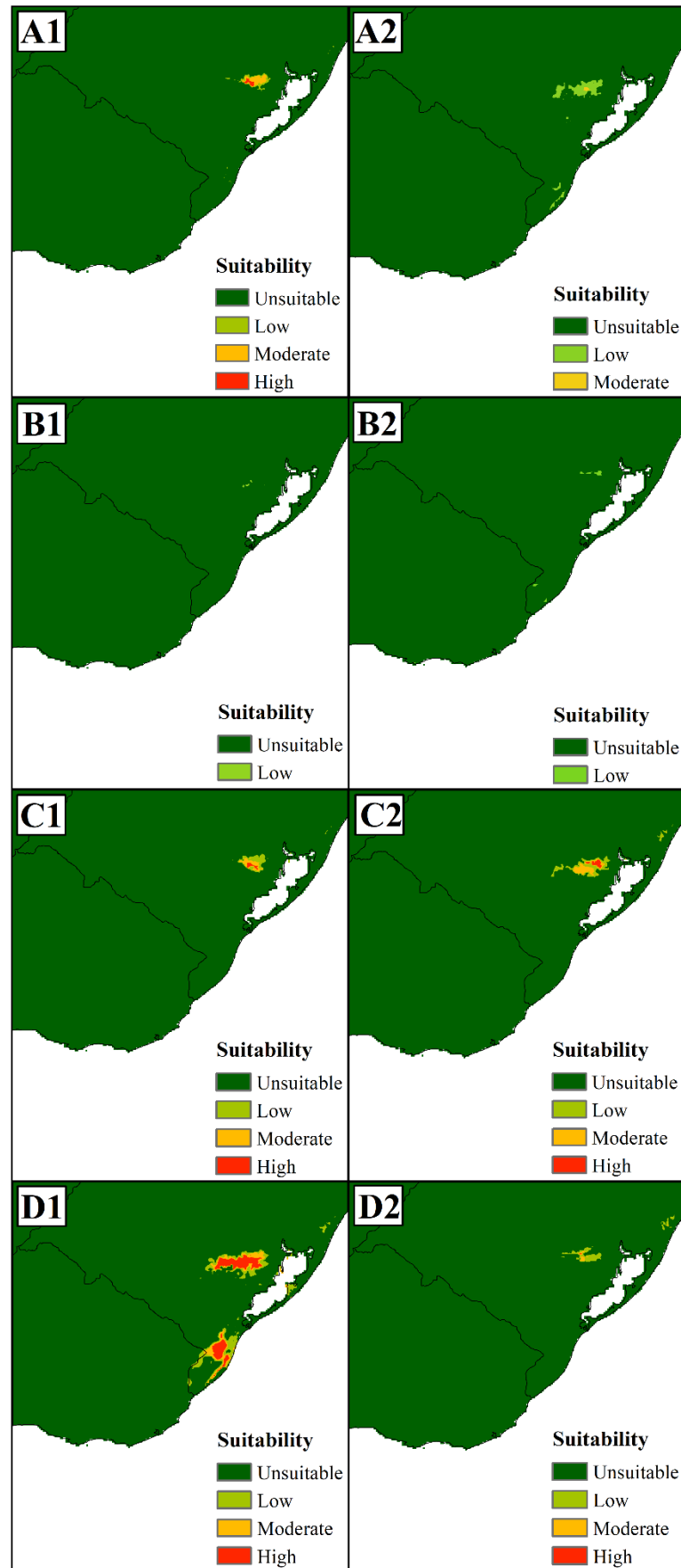


Figura S2. Projeções futuras das áreas de adequabilidade ambiental das modelagens de nicho ecológico (ENMs) para *Aegla obstipa*. As letras representam os períodos: A) 2021-2040, B) 2041-2060, C) 2061-2080, e D) 2081-2100 e os números representam os cenários socioeconômicos: 1) SSP2-4.5, 2) SSP5-8.5. Foi realizado um recorte para aproximar as áreas de adequabilidade a fim de melhorar a visualização.

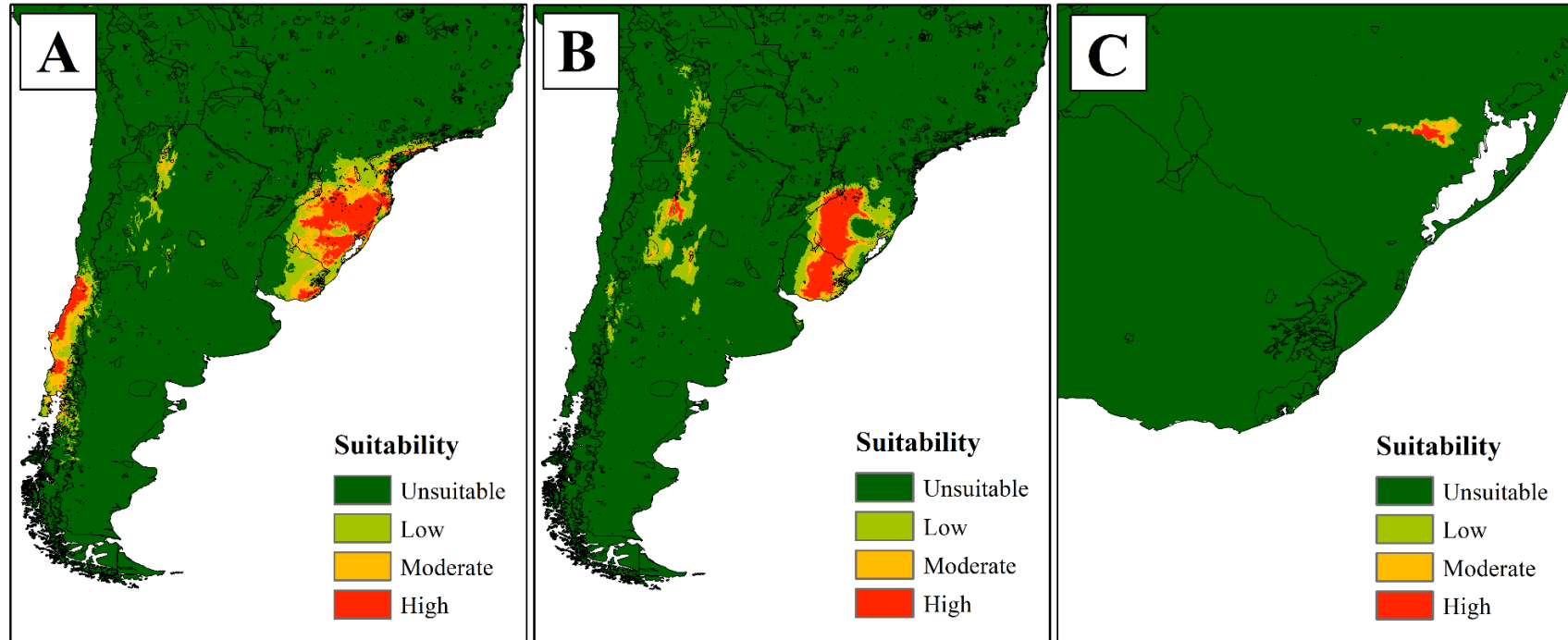


Figura S3. Mapa das áreas de adequabilidade ambiental das modelagens de nicho ecológico (ENMs) para (A) *Aegla*, (B) *Aegla platensis* e (C) *Aegla obstipa*, para o período atual, sobrepostas à extensão geográfica da rede de PAs. Para *A. obstipa* foi realizado um recorte para aproximar as áreas de adequabilidade a fim de melhorar a visualização.



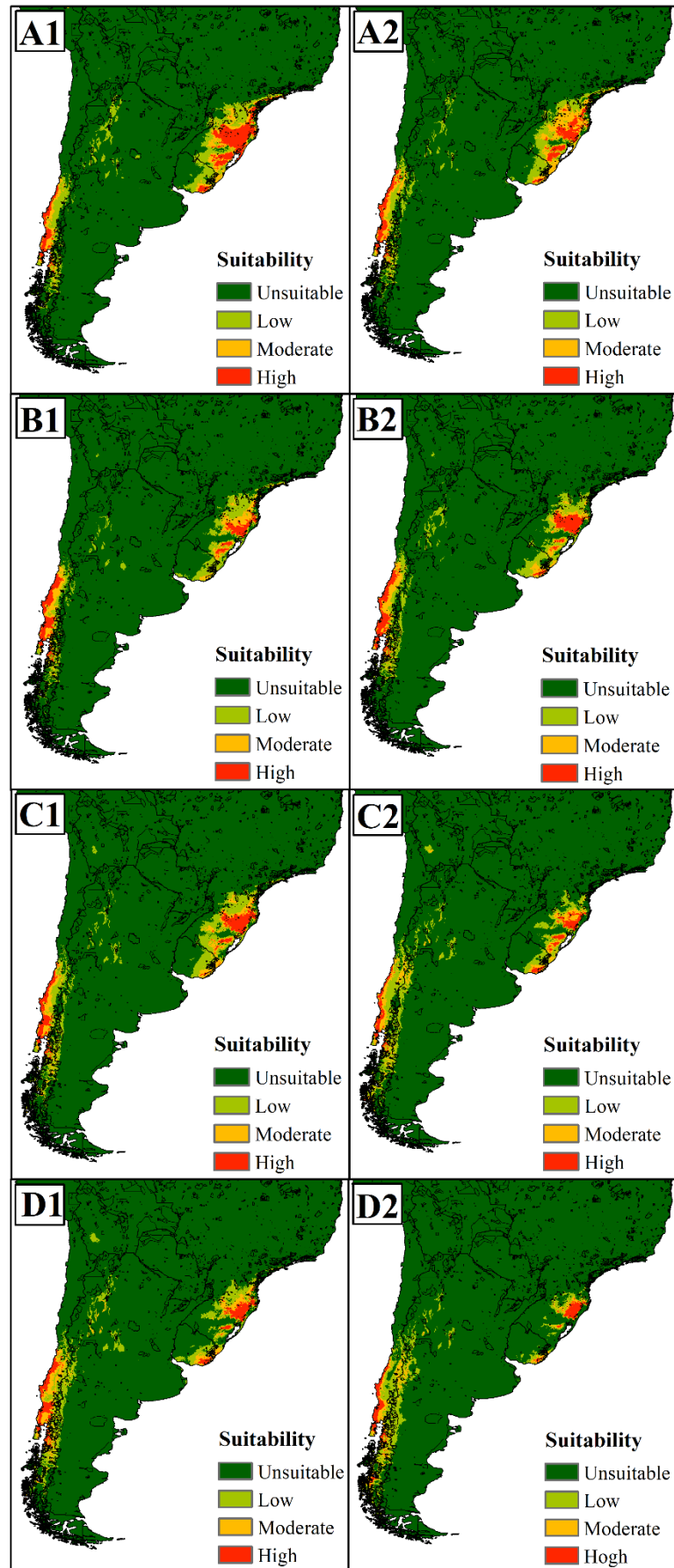


Figura S4. Projeções futuras das áreas de adequabilidade ambiental das modelagens de nicho ecológico (ENMs) para o gênero *Aegla*, sobrepostas à extensão geográfica da rede de áreas protegidas (PAs). As letras representam os períodos: A) 2021-2040, B) 2041-2060, C) 2061-2080, e D) 2081-2100 e os números representam os cenários socioeconômicos: 1) SSP2-4.5, 2) SSP5-8.5.

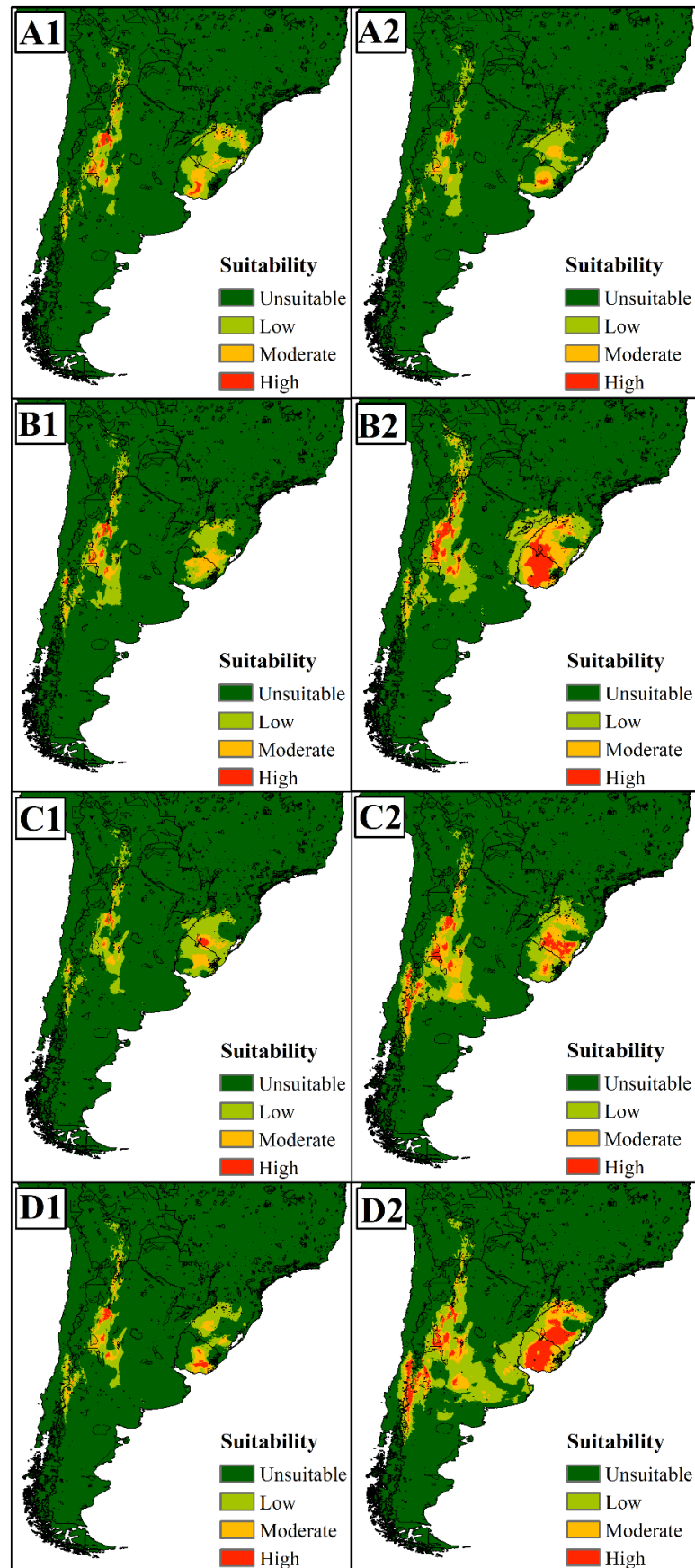


Figura S5. Projeções futuras das áreas de adequabilidade ambiental das modelagens de nicho ecológico (ENMs) para *Aegla platensis*, sobrepostas à extensão geográfica da rede de áreas protegidas (PAs). As letras representam os períodos: A) 2021-2040, B) 2041-2060, C) 2061-2080, e D) 2081-2100 e os números representam os cenários socioeconômicos: 1) SSP2-4.5, 2) SSP5-8.5.

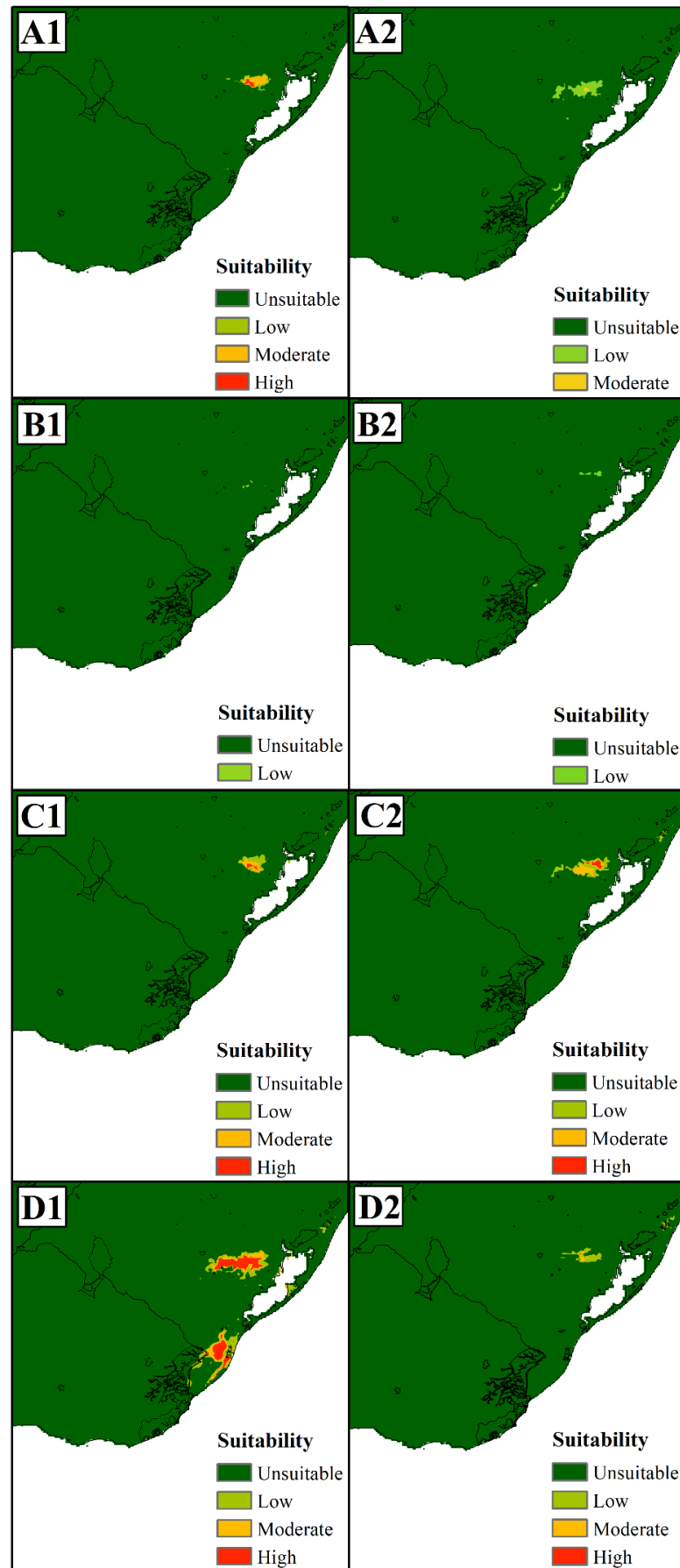


Figura S6. Projeções futuras das áreas de adequabilidade ambiental das modelagens de nicho ecológico (ENMs) para *Aegla obstipa*, sobrepostas a extensão geográfica da rede de áreas protegidas (PAs). As letras representam os períodos: A) 2021-2040, B) 2041-2060, C) 2061-2080, e D) 2081-2100 e os números representam os cenários socioeconômicos: 1) SSP2-4.5, 2) SSP5-8.5. Foi realizado um recorte para aproximar as áreas de adequabilidade a fim de melhorar a visualização.

**CAPÍTULO II - Abordagem integrativa para compreensão dos processos que moldaram a distribuição atual de eglídeos (Crustacea, Anomura, Aeglidae) no Sul da América do Sul**

## **Abordagem integrativa para compreensão dos processos que moldaram a distribuição atual de eglídeos (Crustacea, Anomura, Aeglidae) no Sul da América do Sul**

Gislaine Puli<sup>1</sup>, Alberto Senra Gonçalves<sup>1</sup>, Sandro Santos<sup>1</sup> e Marlise L. Bartholomei-Santos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Animal, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil

**Resumo:** As oscilações climáticas dos ciclos glaciais-interglaciais tiveram grande influência sobre a diversificação das espécies, tendo um relevante papel na formação dos padrões atuais da biodiversidade. Entretanto, os efeitos das flutuações climáticas do Pleistoceno na diversificação e distribuição atual das espécies ainda são pouco compreendidos para o Hemisfério Sul e alguns grupos taxonômicos, como por exemplo os invertebrados. Nesse estudo, utilizamos uma abordagem integrativa de métodos filogeográficos (reconstrução de área ancestral e difusão espacial) e modelagem de nicho ecológico (ENM) para investigar os processos relacionados à diversificação e distribuição do crustáceo de água doce *Aegla platensis*. O tempo de divergência estimado foi de aproximadamente 106 mil anos atrás, e a maior parte da diversificação da espécie observada nas análises filogeográficas ocorreu antes do Último Máximo Glacial. Esses dados, juntamente com as projeções das modelagens de nicho ecológico, que apontaram uma maior e mais abrangente adequabilidade ambiental para o Último Interglacial, e uma diminuição da adequabilidade no Último Máximo Glacial, sugerem que as oscilações climáticas dos ciclos glaciais-interglaciais influenciaram a diversificação e distribuição de *A. platensis*. Além disso, a Cordilheira dos Andes, o mar de areia na região pampeana da Argentina, e o manto de sedimentos loéssicos na planície Chaco – Pampeana se mostraram importantes barreiras para a dispersão da espécie.

**Palavras-chave:** Crustáceos, glaciação, distribuição potencial, Último Interglacial, Último Máximo Glacial, Holoceno médio

### **1. INTRODUÇÃO**

As oscilações climáticas e os eventos geológicos foram importantes impulsionadores da diversificação das espécies, desempenhando relevantes papéis na formação dos padrões atuais da biodiversidade (Hewitt, 2000, 2004; Hoorn et al., 2010). As flutuações climáticas, em especial dos ciclos glaciais-interglaciais do Pleistoceno, modificaram de forma drástica e repetida o habitat, resultando em uma ampla gama de respostas das espécies, incluindo especiação, redistribuição, adaptações locais e eventos de extinção (Hewitt, 2000, 2004; Nogués-Bravo et al., 2018). Entretanto, essas respostas se mostraram variadas para as diferentes espécies e regiões do planeta (Hewitt, 2000), e ainda não se encontram totalmente compreendidas (Nogués-Bravo et al., 2018).

Muitas espécies responderam negativamente às oscilações climáticas do Pleistoceno, sendo extintas ou sobrevivendo em refúgios dispersos (Hewitt, 2000; Petit et al., 2003). Na região neotropical, as informações paleoecológicas apontam uma maior frequência da

ocorrência de sobrevivências em microrrefúgios com condições climáticas mais favoráveis durante o Quaternário em comparação com processos de extinções completas (Vegas-Vilarrubia, Rull, Montoya, & Safont, 2011). Os microrrefúgios compreendem pequenas áreas ambientalmente favoráveis que permitem a sobrevivência de pequenas populações diante de condições ambientais regionais desfavoráveis, e possuem evidente significado biogeográfico para o estabelecimento dos padrões bióticos atuais (Rull, 2009), de forma que seu estudo permite, entre outros, lançar luz sobre a história evolutiva dos táxons.

Investigados por meio de abordagens filogeográficas, os efeitos das oscilações climáticas do passado sobre a biodiversidade são bem documentados para o Hemisfério Norte (Hewitt, 2000, 2004), mais ainda pouco estudados no Hemisfério Sul (Beheregaray, 2008; Turchetto-Zolet, Pinheiro, Salgueiro, & Palma-Silva, 2013). Um exemplo disso é o continente sul-americano, uma região biogeograficamente diversa com uma alta diversidade biológica (Aragon et al., 2011; Myers, Mittermeier, Mittermeier, Fonseca, & Kent, 2000; Morrone, 2004, 2006), para a qual os processos que influenciaram a atual distribuição geográfica e a diversificação das espécies ainda não são bem compreendidos. Além disso, os estudos filogeográficos existentes para o continente se restringem a poucos grupos taxonômicos, principalmente plantas e vertebrados (Turchetto-Zolet et al., 2013).

Investigações sobre a influência das oscilações climáticas do Pleistoceno e demais processos envolvidos na diversificação da fauna com táxons pouco estudados, como os invertebrados (Turchetto-Zolet et al., 2013), são relevantes para uma melhor compreensão da evolução da biodiversidade da América do Sul. Adicionalmente, frente a projeções futuras que apontam um aumento de temperatura que pode chegar a mais de 5° C no continente (Nuñez, Solman, & Cabré, 2009), a compreensão das respostas biológicas às mudanças climáticas anteriores pode ajudar a prever como as espécies responderão as mudanças futuras. Nesse contexto, os caranguejos de água doce da família Aeglidae, endêmica do Sul da América do Sul, são modelos interessantes para investigações filogeográficas, pois apesar de uma capacidade de dispersão limitada possuem uma ampla distribuição (Ayres-Peres et al., 2011; Bond-Buckup & Buckup, 1994), além de serem sensíveis a variações de temperatura (Cerezer et al. 2021) e altamente ameaçados de extinção (Santos et al., 2017).

A espécie *Aegla platensis*, incluída na categoria DD (dados insuficientes) (Santos et al., 2017) quando avaliada utilizando os critérios de ameaça da *International Union for Nature Conservation* (IUCN, 2012), é de especial interesse por ser a mais amplamente distribuída da família, com ocorrência no Brasil, Argentina, Uruguai e Paraguai (Santos et al., 2017). Dentro dessa ampla distribuição, foi documentada uma considerável variação na forma

da carapaça entre populações da espécie (Marchiori, Fornel, & Santos, 2015), o que em associação com o parafiletismo apresentado entre espécimes da Argentina e do Brasil, em um estudo que reconstruiu a filogenia da família Aeglidae (Pérez-Losada, Bond-Buckup, Jara, & Crandall, 2004), apontava *A. platensis* como sendo potencialmente um complexo de espécies crípticas, assim como observado para *Aegla paulensis* (Moraes et al., 2016) e *Aegla longirostri* (Crivellaro et al., 2018). Entretanto, um estudo recente mostrou que 16 populações analisadas de *A. platensis* formam um grande agrupamento monofilético, e apenas duas populações podem representar espécies novas não reconhecidas (Zimmermann et al., 2018).

Nada é conhecido a respeito do possível local de origem e os processos que influenciaram na atual distribuição geográfica e na diversificação genética de *A. platensis*. Entretanto, sabe-se que as alterações climáticas ocorridas durante o Pleistoceno influenciaram a filogeografia de *Aegla alacalufi* na Patagônia chilena (Xu, Pérez-Losada, Jara, & Crandall, 2009). Além disso, há indícios de que a *A. platensis* passou por um recente declínio no seu tamanho populacional e na sua diversidade genética, o qual pode ser resultado de uma redução demográfica devido à transgressão marinha que ocorreu após o Último Máximo Glacial estendendo-se até a metade do Holoceno (~18.000 a 6.000 anos atrás), efeito que poderá ser intensificado pelas ações antrópicas da atualidade (Zimmermann et al., 2018) e mudanças climáticas futuras.

Nesse estudo, utilizamos uma abordagem integrativa de métodos filogeográficos e modelagem de nicho ecológico (ENM) para investigar os processos relacionados à diversificação e distribuição de populações de *A. platensis*. Nosso objetivo foi compreender: (i) as possíveis áreas ancestrais e rotas de colonização de novas áreas da espécie e seus ancestrais hipotéticos, (ii) como os processos climáticos podem ter influenciado a sua distribuição atual, e (iii) qual é a área potencial de distribuição atual e histórica de *A. platensis*.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Filogenia e tempo de divergência

Foram utilizadas sequências dos genes mitocondriais *16S* (394 pb) e *COI* (585 pb) de indivíduos provenientes de nove populações de *A. platensis* (Tabela 1) da Argentina e do Brasil (Figura 1), e de *A. jujuyana*, *A. camargoi*, *A. schmitti*, *A. abtao*, *A. riolimayana* e *A. affinis* como grupo externo, previamente obtidas e depositadas no Genbank (Zimmermann et

al., 2018). Uma árvore filogenética foi gerada por análise Bayesiana utilizando o método *Monte Carlo Markov Chain* (MCMC) implementado no *software Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees* (BEAST) versão 1.8. (Drummond, Suchard, Xie, & Rambaut, 2012), com estimativas de tempos de divergência entre linhagens, utilizando as sequências dos genes *16S* e *COI*. Para estimar o tempo de divergência foram realizadas quatro cadeias de 30 milhões de gerações, com amostragem a cada 3.000 gerações. Os modelos evolutivos Hasegawa-Kishino-Yano com sítios invariáveis (HKY+I) para o gene *COI* e Tamura-Nei (TrN) para o gene *16S*, foram selecionados usando o JModeltest 2.1.10 (Darriba et al., 2012). Para a escolha do relógio molecular (estrito ou relaxado) e do *tree prior* (coalescente ou Yule), estimativas de verossimilhança marginal (MLE – *marginal likelihood estimate*) foram realizadas para os modelos combinados usando o método *Stepping-stone Sampling* (Xie et al., 2011), implementado no BEAST, usando 30 milhões de gerações de 100 passos. O *Bayes Factor* foi calculado para comparação dos modelos, de acordo com Kass & Raftery (1995) (Tabela S1). O melhor modelo (coalescência e relógio molecular relaxado - *uncorrelated lognormal relaxed clock*) foi utilizado nas análises subsequentes. A taxa de substituição do DNA mitocondrial (mtDNA) utilizada foi de 0,118 substituições/site/Myr, anteriormente estimada para mtDNA de *A. alacalufi* e utilizada para *A. platensis* (Xu et al., 2009; Zimmermann et al., 2018), com um intervalo de confiança de 95%. O software Tracer (Rambaut, Suchard, Xie, & Drummond, 2014) foi utilizado para verificar a convergência dos parâmetros amostrados e um burn-in de 10% foi usado para o cálculo das probabilidades posteriores. O software TreeAnnotator v1.8.0 foi utilizado para sumarizar as informações obtidas nas árvores amostradas pelo BEAST em uma árvore de clados de máxima credibilidade.

## 2.2. Reconstrução de área ancestral

Usamos a análise estatística de dispersão-vicariância (S-DIVA) (Yu, Harris, & He, 2010), implementada no software RASP (*Reconstruct Ancestral State in Phylogenies*) (Yu, Harris, Blair, & He, 2015), para reconstruir as possíveis áreas ancestrais da espécie na árvore filogenética, e para detectar os eventos geradores dos padrões de distribuição nos nós ancestrais e terminais. A análise S-DIVA reconstrói distribuições ancestrais em uma filogenia, com uma matriz de custos tridimensional onde eventos de extinção e dispersão são penalizados mais que eventos de vicariância; o método também gera suporte estatístico para a reconstrução da faixa ancestral (Yu et al., 2010). Para a análise, usamos o conjunto de árvores



geradas a partir da análise do tempo de divergência no BEAST, e como árvore condensada, a árvore de clados de máxima credibilidade obtida. Em relação às áreas a serem atribuídas aos terminais da filogenia, levando em consideração a área biogeográfica da espécie, as sub-bacias onde os espécimes foram coletados foram consideradas como uma área unitária: A) Rio Ijuí, B) Rio Ibicuí, C) Rio Icamaquã, D) Rio Itacuarare, E) Rio Tafi, F) Rio Quaraí, G) Grupo externo. As análises foram executadas com configurações padrão e áreas máximas = 2, uma vez que cada população analisada está distribuída somente em uma das áreas consideradas.

### 2.3. Difusão filogeográfica

Para investigar a história filogeográfica de populações de *A. platensis*, implementamos a análise filogeográfica discreta no BEAST (Lemey, Rambaut, Drummond, & Suchard, 2009). Todos os parâmetros foram mantidos conforme descrito anteriormente para a árvore filogenética na seção filogenia e tempo de divergência. Utilizamos a árvore de máxima credibilidade dos clados gerada no BEAST, com informações espaciais discretas, juntamente com as coordenadas decimais de cada local de amostragem, como entrada para o programa SPREAD 1.0.7 (Bielejec, Rambaut, Suchard, & Lemey, 2011) para gerar um arquivo *kml* (*Keyhole Markup Language*) contendo o histórico filogeográfico com reconstrução dos caminhos de rota de dispersão das populações de *A. platensis* analisadas. O arquivo *kml* gerado foi visualizado no Google Earth.

### 2.4. Modelagem de nicho ecológico (ENM)

As informações sobre a distribuição geográfica da espécie *A. platensis* foram obtidas na literatura (Santos et al., 2017; Zimmermann et al., 2018) e somaram 23 registros de ocorrência (Tabela 1), com populações da Argentina, Brasil, Paraguai e Uruguai (Figura 1). A modelagem de nicho ecológico foi realizada no *software* MaxEnt v3.4.1 (Phillips, Dudík, & Schapire, 2019) para identificar áreas potenciais de distribuição no passado e no presente com base em variáveis climáticas. Essa técnica foi adotada por necessitar apenas dos dados de presença e incorporar informações sobre variação ambiental na área de estudo, podendo alcançar um maior poder discriminatório do que métodos somente de presença (Peterson et al., 2011) Além disso, o MaxEnt demonstrou melhor desempenho preditivo em estudos

comparativos com outros algoritmos, especialmente em tamanhos de amostra pequenos e conjuntos de dados apenas de presença (Elith et al., 2006; Ray, Behera, & Jacob, 2018).

As projeções para as condições climáticas passadas foram desenvolvidas para três períodos: 120-140 mil anos atrás (Último Interglacial - LIG), 21 mil anos atrás (Último Máximo Glacial - LGM) e 6 mil anos atrás (metade do Holoceno – MID-HOL). As inferências das distribuições atuais e passadas foram feitas usando camadas de dados bioclimáticos do banco de dados WorldClim (Hijmans, Cameron, Parra, Jones, & Jarvis, 2005). A fim de evitar o excesso de ajuste do modelo, utilizamos 10 das 19 camadas bioclimáticas disponíveis (bio1: Annual mean temperature, bio2: Mean diurnal range, bio4: Temperature seasonality, bio8: Mean temperature of wettest quarter, bio9: Mean temperature of driest quarter, bio10: Mean temperature of warmest quarter, bio12: Annual precipitation, bio13: Precipitation of wettest month, bio14: Precipitation of driest month and bio 15: Precipitation seasonality), selecionadas previamente através de uma matriz de correlação de variáveis e significado biológico para o grupo em um estudo com *Aegla* (Gonçalves, Costa, Bond-Buckup, Bartholomei-Santos, & Santos, 2018). A resolução utilizada para as projeções foi de 30 arc-seg (área de pixel = 1 km<sup>2</sup>), com exceção das camadas do período LGM para a qual não está disponível e foi feita transformação de 2,5 arco-min (área de pixel = 5 km<sup>2</sup>) para 30 arc-seg.

As seguintes configurações foram utilizadas para gerar os modelos no MaxEnt: para a etapa de treino/calibração foram usados 70 % dos registros de presença, enquanto 30 % foram usados para o teste, 10.000 de número máximo de pontos de fundo, 10 réplicas tipo Bootstrap, 5000 iterações máximas e limiar de convergência de 0.00001. Verificamos o desempenho do modelo usando a área sob a curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*), a AUC (*Area Under the Curve*). Os valores da AUC variam de 0 a 1, sendo que valores superiores a 0.5 indicam um desempenho melhor do que o acaso; quanto maior o valor de AUC melhor o modelo, com 1 representando uma previsão perfeita (Hanley & McNeil, 1982). Nos resultados das análises é gerado pelo MaxEnt um *raster* contínuo com valores de adequabilidade ambiental de 0 a 1. Para facilitar a visualização, reclassificamos os mapas de adequação ambiental resultantes, utilizando o *software ArcGIS v10.5*, em quatro categorias: *Unsuitable* (inadequado) de 0 – 0.2, *Low* (baixa adequabilidade) de 0.2 - 0.4, *Moderate* (adequabilidade moderada) de 0.4 – 0.6 e *High* (alta adequabilidade) de 0.6 – 1 (Zhang et al., 2019).

### 3. RESULTADOS

### 3.1. Filogenia e tempo de divergência

A árvore filogenética gerada por análise Bayesiana, usando sequências dos genes *16S* e *COI*, mostrou que todas as populações de *A. platensis* analisadas formam um grupo monofilético bem suportado (Figura S1). O tempo de divergência estimado para o ancestral comum mais recente de *A. platensis* foi de aproximadamente 106 mil anos atrás (95% HPD = 47 – 211 ka), com a maior parte da diversificação da espécie ocorrendo anteriormente aos últimos 30 ka (Figura S1).

### 3.2. Reconstrução de área ancestral

O resultado da análise S-DIVA sugere uma história biogeográfica complexa para *A. platensis*, na qual tanto eventos de dispersão quanto de vicariância foram vitais na formação do atual padrão de distribuição da espécie (Figura 2). A reconstrução de área ancestral propôs as áreas AB, BC, AD, AC e CD (A = Rio Ijuí, B = Rio Ibicuí, C = Rio Icamaquã e D = Rio Itacuarare; nó 171 na Figura 2) como possíveis áreas ancestrais para a espécie, com probabilidades marginais de 20.69% a 15.13% (Tabela 2). Todas estas sub-bacias encontram-se na bacia do Rio Uruguai. O início do processo de diversificação da espécie iniciou há cerca de 106 mil anos, por meio de eventos de dispersão (da área AB para as áreas C e D) e de vicariância (AC|BD), embora esta rota proposta tenha baixo suporte (20% aproximadamente) (Tabela 2). A partir do nó 171 há a separação em dois nós filhos, o nó 170 e o nó 119 (Figura 2). O nó 170 tem como possível área ancestral AC, com probabilidade marginal de 87.50%. Um evento de vicariância, há cerca de 80 mil anos, pode ter acontecido a partir desse nó, resultando na separação das populações nas áreas A (nó 169) e C (nó 132). Há cerca de 45 mil anos, um evento de dispersão pode ter acontecido a partir do nó 160 (o qual tem origem no nó 169), em direção ao oeste, atingindo a bacia de Mar Chiquita há aproximadamente 35 mil anos (nó 151), onde encontra-se a área E (Rio Tafi). Já o outro nó originado a partir do início da diversificação, o nó 119, passou por um processo de vicariância há cerca de 64 mil anos, dando origem às populações das áreas B e D (Figura 2 e Tabela 2). O processo de vicariância influenciou de forma significativa a distribuição dos eglídeos, ocorrendo de forma isolada nos nós 170, 151, 139 e 119 e associado a evento de dispersão no nó 171. A dispersão foi inferida associada à vicariância no início da diversificação de *A. platensis* (nó 171) e isoladamente nos nós 160 e 140 (Tabela 2).

### 3.3. Difusão filogeográfica

A análise de difusão filogeográfica sugeriu uma origem brasileira para o grupo *A. platensis* no Rio Icamaquazinho (Figura 3A), a partir de onde ocorreram expansões colonizando áreas marginais (Figuras 3B,C) e dispersão sentido oeste para a Argentina na Barragem La Angostura (Figura 3B). Mais recentemente, a partir de 9 ka, ocorreram duas dispersões a partir da Argentina, na Barragem La Angostura, para o leste, colonizando o Tributário do Rio Ijuí e Córrego Sarandi no sul do Brasil, havendo também um aumento do tamanho das populações (Figura 3D). A maioria dos eventos de dispersão ocorreu antes de 35 ka, e nenhum evento de dispersão para as linhagens de *A. platensis* foi observado durante o LGM (Figura 3).

### 3.4. Modelagem de nicho ecológico (ENM)

Os altos valores da AUC mostraram que as ENMs apresentaram um excelente poder preditivo para todos os períodos analisados (média da AUC do LIG: 0.978; média da AUC do LGM: 0.978; média da AUC do MID-HOL: 0.980, e média da AUC do presente: 0.981). Os resultados das ENMs (Figura 4) mostraram distribuições potenciais de *A. platensis* (ou de seus ancestrais) mais abrangentes durante o LIG (Figura 4A), cobrindo grande parte da área de estudo. Posteriormente, no LGM, as áreas de alta e moderada adequação ambiental foram reduzidas em comparação com o LIG (Tabela 3), com a alta adequabilidade ficando restrita ao sul do Chile e da Argentina (Figura 4B).

Após o LGM no MID-HOL áreas de alta e moderada adequabilidade ambiental voltam a se estender pelo Uruguai e região sul do Brasil (Figura 4C), mantendo-se na ENM do presente (Figura 4D). Para o presente, as projeções da ENM indicaram que a área potencial adequada para a *A. platensis* reduziu significativamente em todas as classes de adequabilidade (Tabela 3), e ficou fragmentada em áreas isoladas de distribuições potenciais, com uma área se estendendo da divisa da Argentina com o Brasil, sul do Brasil e Uruguai, e uma área de adequabilidade na região central do Chile e outra no norte da Argentina (Figura 4D). Em todos os modelos testados foi identificada uma faixa de baixa adequabilidade ambiental que se estendeu pela planície argentina.

## 4. DISCUSSÃO

Os resultados das análises cronofilogenética e filogeográfica mostraram que a diversificação de *A. platensis* teve início no Pleistoceno, há cerca de 106 mil anos, no início do último período glacial, quando ocorreu a maior parte de sua diversificação genética, com a maioria das populações surgindo antes do LGM. Esses resultados coincidem com o observado nas análises de ENM, as quais apontaram uma maior adequabilidade ambiental para a espécie (ou seus ancestrais) durante o LIG e uma drástica redução de áreas adequadas no LGM. As alterações de adequabilidade observadas entre o LIG e o LGM explicam o longo período de estabilidade demográfica que a espécie experimentou, seguido por uma retração populacional logo após o LGM, conforme observado por Zimmermann et al. (2018). A influência das oscilações climáticas dos ciclos glaciais-interglaciais do Pleistoceno sobre a diversidade e a distribuição de espécies tem sido observada para uma ampla gama de táxons da América do Sul (Turchetto-Zolet et al., 2013).

Na América do Sul, assim como na maioria dos continentes do hemisfério sul, as geleiras eram ausentes ou descontínuas durante os períodos glaciais, e ao invés de efeitos diretos das geleiras, muitos estudos observaram os efeitos das mudanças na aridez e na temperatura (Peçanha et al., 2017; Vieira, Montenegro, Santana, & Vieira, 2018). A estabilidade da água (determinada considerando fatores como as condições permanente ou temporário dos corpos d'água e regime de precipitação, entre outros) e a temperatura foram apontadas por Tumini, Giri, Williner, and Collins (2016) como importantes preditores de ocorrência para cinco famílias de decápodes de água doce, incluindo Aeglidae. O cenário de temperatura amena e umidade mais elevada durante o LIG (Otto-Bliesner, Marshall, Overpeck, Miller, & Hu, 2006) tornaram o ambiente mais adequado para os eglídeos, conforme o observado na ENM, possibilitando o estabelecimento de populações em novas áreas, como detectado pelas análises S-DIVA e difusão espacial.

Durante o LGM a plataforma continental apresentou clima seco e frio (Behling & Negrelle, 2001), dificultando a colonização por espécies adaptadas a habitats úmidos. O modelo de nicho ecológico mostrou que as áreas de alta adequabilidade ambiental para *A. platensis* foram restritas ao sul do Chile e da Argentina durante esse período, com redução da adequação nas áreas do interior. As regiões chilenas são refúgios improváveis para *A. platensis*, visto estarem localizadas no lado oeste da Cordilheira dos Andes, uma importante barreira geográfica para dispersão dos eglídeos, conforme demonstrado por Pérez-Losada et al. (2004) e corroborado por nossos resultados. Entretanto, *A. platensis* pode ter persistido em micro refúgios ao longo de sua distribuição a leste da Cordilheira dos Andes durante esse período glacial.

A sobrevivência em refúgios foi observada anteriormente em *A. alacalufi*. Xu et al. (2009) observaram que durante os avanços glaciais, as populações de *A. alacalufi* da Patagônia foram eliminadas ou forçadas a refúgios, e durante os recuos glaciais recolonizavam e expandiam suas populações. As retrações durante os ciclos glaciais e expansões das áreas de adequabilidade ambiental nos períodos interglaciais observadas para *A. platensis* indicam que a espécie pode ter seguido um padrão semelhante ao observado para *A. alacalufi*. Considerando que os eglídeos são estritamente associados a habitats úmidos, é provável que o extenso mar de areia na região pampeana da Argentina e o manto de sedimentos loéssicos depositado na planície Chaco - Pampeana (Latrubesse, 2003) constituíram um importante limitador da distribuição da *A. platensis*, impedindo a sua dispersão para as áreas de alta adequabilidade ambiental no sul da Argentina durante o LGM. Dessa forma, *A. platensis* provavelmente persistiu em micro refúgios em áreas de moderada adequabilidade ambiental ao longo de sua distribuição.

Para o MID-HOL, a ENM apontou uma expansão e aumento da adequabilidade ambiental para o interior do subcontinente, coincidindo com a análise de difusão espacial que apontou a ocorrência de colonização de novas áreas e um aumento no tamanho estimado das populações. O começo do Holoceno médio foi marcado por mudanças no cenário de aridez observados no LGM, que foi substituído por clima úmido e temperado na planície Chaco - Pampeana e nas bacias do alto Paraná e Uruguai (Iriando & García, 1993; Stevaux & Santos, 1998), condições favoráveis aos eglídeos.

A área de baixa adequabilidade observada no sul do Brasil, entre os domínios dos Pampas e da Mata Atlântica, mais evidente para o período do presente quando ficou categorizada como inadequada para eglídeos, também foi observada para o roedor *Oxymycterus nasutus* por Peçanha et al. (2017). A baixa adequabilidade dessa área para espécies tão diferentes pode estar relacionada às condições de umidade do ambiente, pois assim como *Aegla*, *O. nasutus* está associado a habitats úmidos, ocorrendo próximo a rios e riachos (Barlow, 1969).

Com base nos resultados das análises filogeográficas e de ENM, associados aos históricos geológico, climático e hídrico do sul da América do Sul, sugerimos que as flutuações climáticas do Pleistoceno impactaram profundamente a diversificação e distribuição de *A. platensis*, com a extensão e retração de faixas de áreas de adequação ambiental para a espécie durante os períodos estudados. Além da influência das oscilações climáticas, a Cordilheira dos Andes mostrou-se uma importante barreira para a espécie, impedindo a colonização de áreas adequadas no Chile.

## REFERÊNCIAS

- Anderson, R. P., & Raza, A. (2010). The effect of the extent of the study region on GIS models of species geographic distributions and estimates of niche evolution: preliminary tests with montane rodents (genus *Nephelomys*) in Venezuela. *Journal of Biogeography*, *37*, 1378-1393.
- Aragon, E., Goin, F. J., Aguilera, Y. E., Woodburne, M. O., Carlini, A. A., & Roggiero, M. F. (2011). Palaeogeography and palaeoenvironments of northern Patagonia from the Late Cretaceous to the Miocene: The Palaeogene Andean gap and the rise of the North Patagonian High Plateau. *Biological Journal of the Linnean Society*, *103*, 305-315.
- Ayres-Peres, L., Coutinho, C., Baumart, J. S., Gonçalves, A. S., Araújo, P. B., & Santos, S. (2011). Radio-telemetry techniques in the study of displacement of freshwater anomurans. *Nauplius*, *19*, 41-54.
- Barlow, J. C. (1969). Observations on the biology of rodents in Uruguay. *Life sciences contributions, Royal Ontario Museum*, *75*, 1-59.
- Beheregaray, L. B. (2008). Twenty years of phylogeography: The state of the field and the challenges for the Southern Hemisphere. *Molecular Ecology*, *17*, 3754-3774.
- Behling, H., & Negrelle, R. R. B. (2001). Tropical rain forest and climate dynamics of the Atlantic lowland, southern Brazil, during the Late Quaternary. *Quaternary Research*, *56*, 383-389.
- Bielejec, F., Rambaut, A., Suchard, M. A., & Lemey, P. (2011). SPREAD: Spatial Phylogenetic Reconstruction of Evolutionary Dynamics. *Bioinformatics*, *27*(20): 2910-2912.
- Bond-Buckup, G., & Buckup, L. (1994). A família Aeglidae (Crustacea, Decapoda, Anomura). *Arquivos de Zoologia*, *32*, 159-347.
- Cerezer, C., Leitemperger, J.W., do Amaral, A.M.B., Ferreira, B. C., Marins, A. T., Loro, V. L., ... Santos, S. (2020). Raising the water temperature: consequences in behavior and biochemical biomarkers of the freshwater crab *Aegla longirostri* (Crustacea, Anomura). *Environmental Science and Pollution Research*, *27*, 45349-45357.
- Crivellaro, M. S., Zimmermann, B. L., Bartholomei-Santos, M. L., Crandall, K. A., Pérez-Losada, M., Bond-Buckup, G., & Santos, S. (2018). Looks can be deceiving: species delimitation reveals hidden diversity in the freshwater crab *Aegla longirostri* (Decapoda: Anomura). *Zoological Journal of the Linnean Society*, *182*, 24-37.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., & Posada, D. (2012). jModelTest 2: More models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, *9*, 772.
- Drummond, A. J., Suchard, M. A., Xie, D., & Rambaut, A. (2012). Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*, *29*, 1969-1973.
- Elith, J., Catherine, H. G., Anderson, R. P., Dudík, M., Ferrier, S., Guisan, ... Zimmermann, N. E. (2006). Novel methods improve prediction of species' distributions from occurrence data. *Ecography*, *29*, 129-151.
- Gonçalves, A. S., Costa, G. C., Bond-Buckup, G., Bartholomei-Santos, M. L., & Santos, S. (2018). Priority areas for conservation within four freshwater ecoregions in South America: A scale perspective based on freshwater crabs (Anomura, Aeglidae). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, *28*, 1077-1088.
- Hanley, J. A., & McNeil, B. J. (1982). The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. *Radiology*, *143*, 29-036.
- Hewitt, G. (2004). Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, *359*, 183-195.
- Hewitt, G. (2000). The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, *405*, 907-913.

- Hijmans, R. J., Cameron, S. E., Parra, J. L., Jones, G., & Jarvis, A. (2005). Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, 1978, 1965-1978.
- Hoorn, C., Wesselingh, F. P., Ter Steege, H., Bermudez, M. A., Mora, A., Sevink, J., ... Antonelli, A. (2010). Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. *Science*, 330(6006): 927-931.
- Iriondo, M., & García, N. O. (1993). Climatic variations in the Argentine plains during the last 18.000 years. *Paleogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 101, 209-220.
- IUCN. (2012). Red list categories and criteria: version 3.1, 2nd edn. Gland, Switzerland and Cambridge, UK: IUCN.
- Kass RE, & Raftery, A. E. (1995). Bayes factors. *Journal of the American Statistical Association*, 90, 773-795.
- Latrubesse, E. M. (2003). The Late Quaternary paleohydrology of large South-American fluvial systems. In Gregory, K., & Benito, G. (Eds.), *Palaeohydrology: understanding global change*. (pp. 193-212). Chichester: Wiley.
- Lemey, P., Rambaut, A., Drummond, A. J., & Suchard, M. A. (2009). Bayesian phylogeography finds its roots. *PLoS Computational Biology*, 5(9), e1000520.
- Marchiori, A. B., Fornel, R., & Santos, S. (2015). Morphometric variation in allopatric populations of *Aegla platensis* (Crustacea: Decapoda: Anomura): Possible evidence for cryptic speciation. *Zoomorphology*, 134, 45-53.
- Moraes, J. C. B., Terossi, M., Buranelli, R. C., Tavares, M., Mantelatto, F. L., & Bueno, S. L. (2016). Morphological and molecular data reveal the cryptic diversity among populations of *Aegla paulensis* (Decapoda, Anomura, Aeglidae), with descriptions of four new species and comments on dispersal routes and conservation status. *Zootaxa*, 4193, 1-48.
- Morrone, J. J. (2004). Panbiogeografía, componentes bióticos y zonas de transición. *Revista Brasileira de Entomologia*, 48, 149-162.
- Morrone, J. J. (2006). Biogeographic areas and transition zones of Latin America and the Caribbean islands based on panbiogeographic and cladistic analyses of the entomofauna. *Annual Review of Entomology*, 51, 467-494.
- Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., da Fonseca, G. A. B., & Kent J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, 853-858.
- Nogués-Bravo, D., Rodríguez-Sánchez, F., Orsini, L., Boer, E., Jansson, R., Morlon, H., ... Jackson, S. T. (2018). Cracking the Code of Biodiversity Responses to Past Climate Change. *Trends in Ecology & Evolution*, 33, 765-776.
- Núñez, M. N., Solman, S. A., & Cabré, M. F. (2009). Regional climate change experiments over southern South America. II: Climate change scenarios in the late twenty-first century. *Climate Dynamics*, 32, 1081-1095.
- Otto-Bliesner, B. L., Marshall, S. J., Overpeck, J. T., Miller, G. H. & Hu, A. (2006). Simulating Arctic climate warmth and icefield retreat in the last interglaciation. *Science*, 311, 1751-1753.
- Peçanha, W. T., Althoff, S. L., Galiano, D., Quintela, F. M., Maestri, R., Gonçalves, G. L., & Freitas, T. R. O. (2017). Pleistocene climatic oscillations in Neotropical open areas: Refuge isolation in the rodent *Oxymycterus nasutus* endemic to grasslands. *PLoS One*, 12(11), e0187329.
- Pérez-Losada, M., Bond-Buckup, G., Jara, C. G., & Crandall, K. A. (2004). Molecular systematics and biogeography of the southern South American freshwater “crabs” *Aegla* (Decapoda: Anomura: Aeglidae) using multiple heuristic tree search approaches. *Systematic Biology*, 53, 767-780.



- Peterson, A. T., Soberón, S., Pearson, R. G., Anderson, R. P., Martínez-Meyer, E., Nakamura, M., & Araújo, M. B. (2011). *Ecological Niches and Geographic Distributions. Monographs in Population Biology (MPB-49)*. Princeton: Princeton University Press.
- Petit, R. J., Aguinagalde, I., de Beaulieu, J. L., Bittkau, C., Brewer, S., Cheddadi, R., ... Vendramin, G. G. (2003). Glacial refugia: Hotspots but not melting pots of genetic diversity. *Science*, *300*, 1563-1565.
- Phillips, S. J., Dudík, M., & Schapire, R. E. (2019). Maxent software for modeling species niches and distributions (Version 3.4.1). Available in: [http://biodiversityinformatics.amnh.org/open\\_source/maxent/](http://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/maxent/).
- Rambaut, A., Suchard, M. A., Xie, D., & Drummond, A. J. (2014). Tracer version 1.6. Available in: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.
- Ray, D., Behera, M. D., & Jacob, J. (2018). Evaluating Ecological Niche Models: A comparison between Maxent and GARP for predicting distribution of *Hevea brasiliensis* in India. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, *88*, 1337-1343.
- Rull, V. (2009) Microrefugia. *Journal of Biogeography*, *36*, 481-484.
- Santos, S., Bond-Buckup, G., Gonçalves, A. S., Bartholomei-Santos, M. L., Buckup, L., & Jara, C. G. (2017). Diversity and conservation status of *Aegla* spp. (Anomura, Aeglidae): Anupdate. *Nauplius*, *25*, e2017011.
- Stevaux, J. C. & Santos, M. L. dos. (1998). Palaeohydrological changes in the upper Paraná River, Brazil, during the Late Quaternary: a facies approach. In Benito, G., Baker, V. R. & Gregory, K. J. (Eds.). *Palaeohydrology and Environmental Change*. (pp. 273-285). London: Wiley.
- Tumini, G., Giri, F., Williner, V., & Collins, P. A. (2016). The importance of biogeographical history and extant environmental conditions as drivers of freshwater decapod distribution in southern South America. *Freshwater Biology*, *61*, 715-28.
- Turchetto-Zolet, A. C., Pinheiro, F., Salgueiro, F., & Palma-Silva, C. (2013). Phylogeographical patterns shed light on evolutionary process in South America. *Molecular Ecology*, *22*, 1193-1213.
- Vegas-Vilarrubia, T., Rull, V., Montoya, E., & Safont, E. (2011) Quaternary palaeoecology and nature conservation: a general review with examples from the neotropics. *Quaternary Science Reviews*, *30*, 2361-2388.
- Vieira, K. S., Montenegro, P. F. G., Santana, G. G., & Vieira, W. L. D. S. (2018). Effect of climate change on distribution of species of common horned frogs in South America. *PLoS One*, *13*(9), e0202813.
- Xie, W., Lewis, P.O., Fan, Y., Kuo, L., & Chen, M.-H. (2011). Improving marginal likelihood estimation for bayesian phylogenetic model selection. *Systematic Biology*, *60*, 150-160.
- Xu, J., Pérez-Losada, M., Jara, C. G., & Crandall, K. A. (2009). Pleistocene glaciation leaves deep signature on the freshwater crab *Aegla alacalufi* in Chilean Patagonia. *Molecular Ecology*, *18*, 904-918.
- Yu, Y., Harris, A. J., & He, X. (2010). S-DIVA (statistical Dispersal-Vicariance Analysis): A tool for inferring biogeographic histories. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *56*, 848-850.
- Yu, Y., Harris, A. J., Blair, C., & He, X. J. (2015). RASP (Reconstruct Ancestral State in Phylogenies): a tool for historical biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *87*, 46-49.
- Zhang, J., Jiang, F., Li, G., Qin, W., Li, S., Gao, H., ... Zhang, T. (2019). Maxent modeling for predicting the spatial distribution of three raptors in the Sanjiangyuan National Park, China. *Ecology and Evolution*, *9*: 6643 - 6654.

Zimmermann, B. L., Crivellaro, M. S., Hauschild, C. B., Bartholomei-Santos, M. L., Crandall, K. A., Pérez-Losada, M., ... Santos, S. 2018. Phylogeography reveals unexpectedly low genetic diversity in a widely distributed species: the case of the freshwater crab *Aegla platensis* (Decapoda: Anomura). *Biological Journal of the Linnean Society*, XX, 1-15.

**TABELA 1.** Populações de *A. platensis* utilizadas no estudo, localização e referência bibliográfica dos dados.

Local	Código	Bacia Hidrográfica	Sub-bacia	Código da área (S-DIVA)	Latitude (S)	Longitude (O)	Referência
Tributário de Curuçú	CURUCU BR	Rio Uruguai	Rio Ibicuí	B	29° 13' 20"	54° 51' 55"	Zimmermann <i>et al.</i> , 2018
Tributário de Toropí	TOROPI BR	Rio Uruguai	Rio Ibicuí	B	29° 26' 55"	54° 07' 38"	Zimmermann <i>et al.</i> , 2018
Rio Icamaquazinho	ICAMAQUAZINHO BR	Rio Uruguai	Rio Icamaquã (Piratini)	C	28° 46' 35"	54° 07' 38"	Zimmermann <i>et al.</i> , 2018
Rio Alegre	ALEGRE BR	Rio Uruguai	Rio Ijuí	A	28° 11' 16"	53° 25' 54"	Zimmermann <i>et al.</i> , 2018
Córrego Albino	ALBINO BR	Rio Uruguai	Rio Ijuí	A	28° 08' 12"	54° 55' 31"	Zimmermann <i>et al.</i> , 2018
Tributário do Rio Ijuí	IJUI BR	Rio Uruguai	Rio Ijuí	A	28° 10' 58"	54° 31' 33"	Zimmermann <i>et al.</i> , 2018
Rio da Várzea†	VARZEA BR	Rio Uruguai	Rio da Várzea	-	27° 25' 28"	53° 24' 41"	Zimmermann <i>et al.</i> , 2018
Córrego Sarandi	SARANDI BR	Rio Uruguai	Rio Quarai	F	30° 39' 53"	55° 52' 25"	Zimmermann <i>et al.</i> , 2018
Rio Singuil†	SINGUIL AR	Mar Chiquita	Rio Singuil	-	27° 51' 00"	65° 50' 03"	Zimmermann <i>et al.</i> , 2018
Córrego Los Nogales†	LOSNOGALES AR	Rio Serrano	Rio Las Trancas	-	28° 13' 02"	65° 52' 34"	Zimmermann <i>et al.</i> , 2018
Córrego El Tala†	ELTALA AR	Rio Serrano	Rio del Valle	-	28° 27' 56"	65° 49' 55"	Zimmermann <i>et al.</i> , 2018
Córrego Nogales†	NOGALES AR	Rio Serrano	Rio Las Trancas	-	28° 12' 58"	65° 52' 55"	Zimmermann <i>et al.</i> , 2018
Barragem Pirquitas†	PIRQUITAS DAM AR	Rio Serrano	Rio Las Trancas	-	28° 16' 08"	65° 44' 22"	Zimmermann <i>et al.</i> , 2018
Rio Pirquitas†	PIRQUITAS RIV AR	Rio Serrano	Rio Las Trancas	-	28° 17' 13"	65° 43' 46"	Zimmermann <i>et al.</i> , 2018
Barragem La Angostura	LAANGUSTURA AR	Mar Chiquita	Rio Tafi	E	26° 55' 23"	65° 40' 55"	Zimmermann <i>et al.</i> , 2018
Rio Itacuarare	ITACUARARE AR	Rio Uruguai	Rio Itacuarare	D	27° 52' 15"	55° 16' 39"	Zimmermann <i>et al.</i> , 2018
Tributário Rio Jejui†	-	Rio Paraguai	Rio Jejui	-	24°08'0.91"	55°31'53.2"	Santos <i>et al.</i> , 2017
Tributário Rio Negro†	-	Rio Uruguai	Rio Negro	-	32°50'59.04"	56°30'45.38"	Santos <i>et al.</i> , 2017
Tributário Tucuaembó†	-	Rio Uruguai	Rio Negro	-	31°38'53.17"	55°25'32.80"	Santos <i>et al.</i> , 2017
Rio Santa Lucia†	-	Rio La Plata	Rio Santa Lucia	-	33°54'16.92"	55°49'20.55"	Santos <i>et al.</i> , 2017
Arroyo Pando Canelones†	-	Rio La Plata	Pando	-	34°32'11.32"	55°55'40.86"	Santos <i>et al.</i> , 2017
Embalse Canelon Grande†	-	Rio La Plata	Rio Santa Lucia	-	34°27'34.06"	56°16'20.05"	Santos <i>et al.</i> , 2017
Rio Cebollatí†	-	Atlântico Sul	Rio Cebollatí	-	33°44'19.25"	54°53'42"	Santos <i>et al.</i> , 2017

†Usados somente para a ENM.

**TABELA 2.** Áreas ancestrais mais prováveis e cenário mais prováveis dos eventos que influenciaram a distribuição de *Aegla platensis*, identificados pelo método S-DIVA. Os nós estão numerados de acordo com o cladograma da Figura 2.

Nó	Datação (ka)	Área Ancestral/ Probabilidade (%)	Tipo de Evento	Quantidade	Rota Probabilidade (%)
171	106	AB/20.69 BC/19.44 AD/17.34 AC/16.76 CD/15.13	Dispersão + Vicariância	2 + 1	AB->ACBD->AC BD 19.91
170	80	AC/96.25 CE/ 3.75	Vicariância	1	AC->A C 87.50
169	58	A/90.91 AE/9.09	-	-	A->A^A->A A 74.38
160	45	A/81.82 AE/17.27	Dispersão	1	A->A^A->AE^A->A AE 79.16
151	35	AE/96.75 AF/3.25	Vicariância	1	AE->A E 89.01
140	13	E/92.00 EF/8.00	Dispersão	1	E->E^E->EF^E->EF E 92.00
139	6	EF/100.00	Vicariância	1	EF->E F 100.00
119	64	BD 100.00	Vicariância	1	BD->B D 100.00
118	33	B/100.00	-	-	B->B^B->B B 100.00

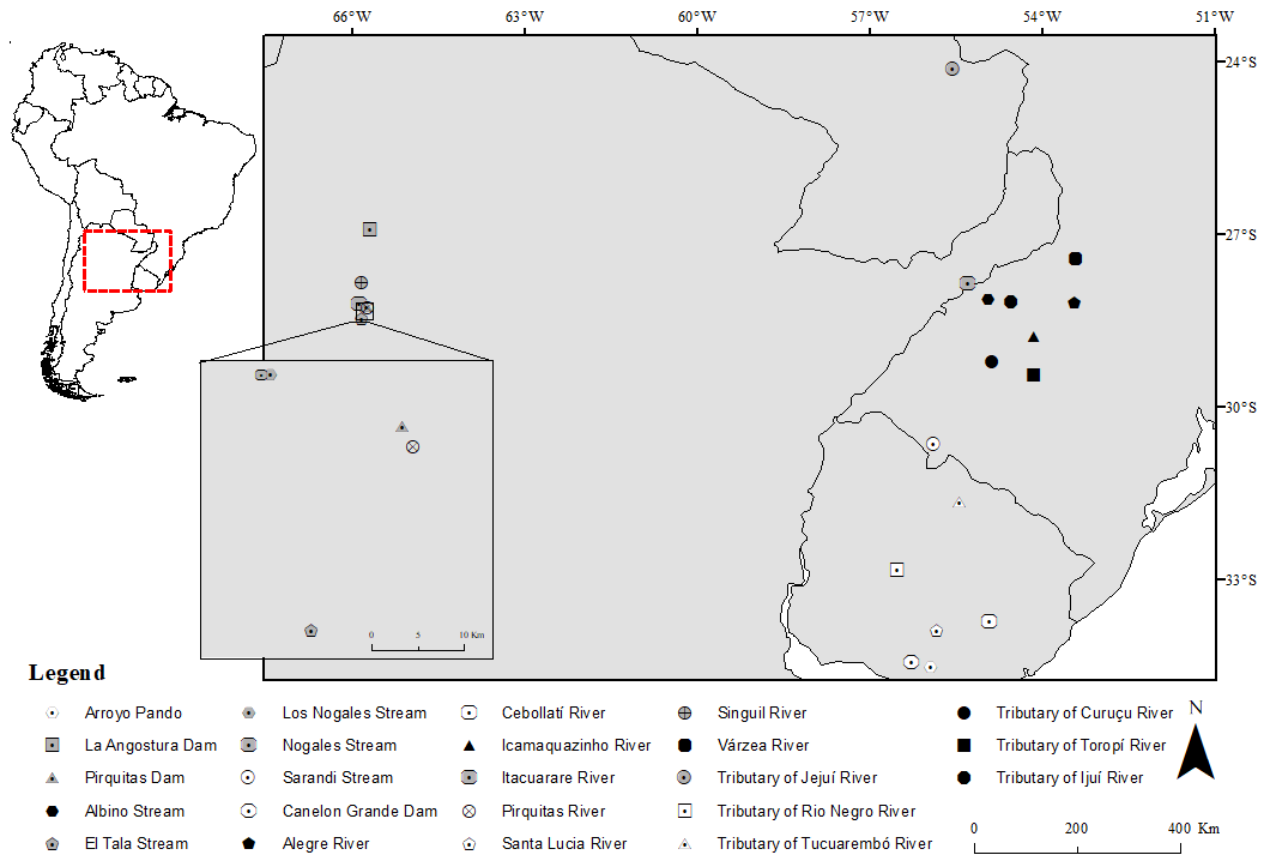
A) Rio Ijuí, B) Rio Ibicuí, C) Rio Icamaquã, D) Rio Itacuarare, E) Rio Tafi, F) Rio Quaraí, G) Grupo externo

**TABELA 3.** Áreas em km<sup>2</sup> de adequabilidade ambiental e porcentagem de cada classe nos períodos do passado (Último Interglacial (LIG), Último Máximo Glacial (LGM) e metade do Holoceno (MID-HOL)) e presente na área de estudo (5.260.631 km<sup>2</sup> = 100 %).

Período	Área das classes		
	Low suitability	Moderate suitability	High suitability
LIG	1471298.89 (27.97 %)	2486956.33 (47.27 %)	687975.95 (13.08 %)
LGM	3338777.24 (63.47 %)	571076.08 (10.86 %)	527229.25 (10.02 %)
MID-HOL	3132223.47 (59.54 %)	731701.42 (13.91 %)	490084.61 (9.32%)
Presente	396537.28 (7.54 %)	106658.24 (2.03 %)	206757.62 (3.93 %)

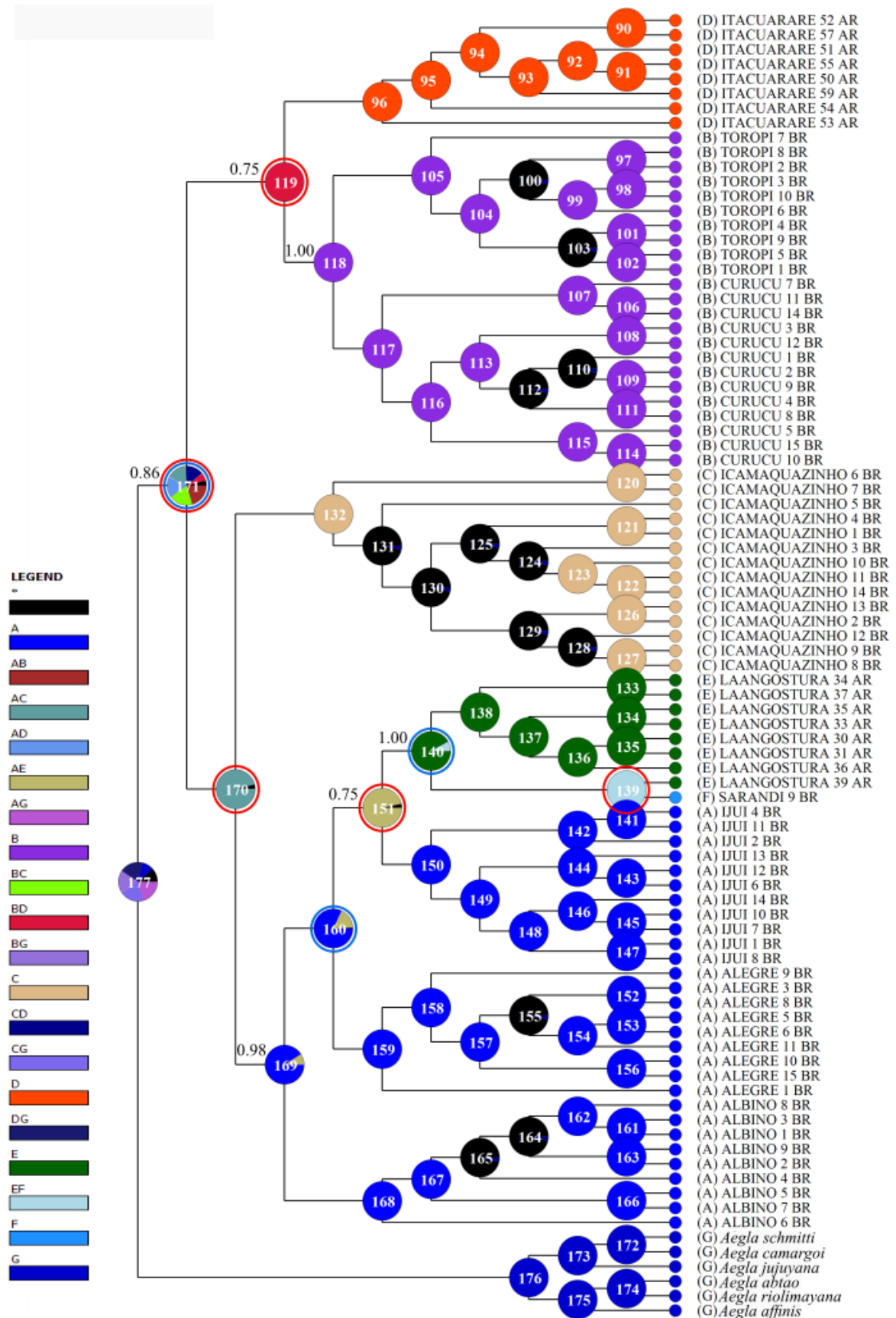
**TABELA S1.** Desempenho dos modelos testados na análise filogenética, classificados de acordo com valores de MLE (*marginal likelihood estimate*) e Bayes Factor (BF). Todos os valores de BF foram calculados em relação ao modelo coalescente e relógio molecular relaxado (considerado modelo 1 nos cálculos), de acordo com Kass & Raftery (1995). Valores positivos de BF indicam suporte ao modelo 1.

Modelo	MLE	BF	Classificação
Coalescente e relógio molecular relaxado	-2787.49		1
Coalescente e relógio molecular estrito	-2897.46	219.94	3
Yule e relógio molecular relaxado	-2794.33	13.68	2
Yule e relógio molecular estrito	-2981.94	388.9	4



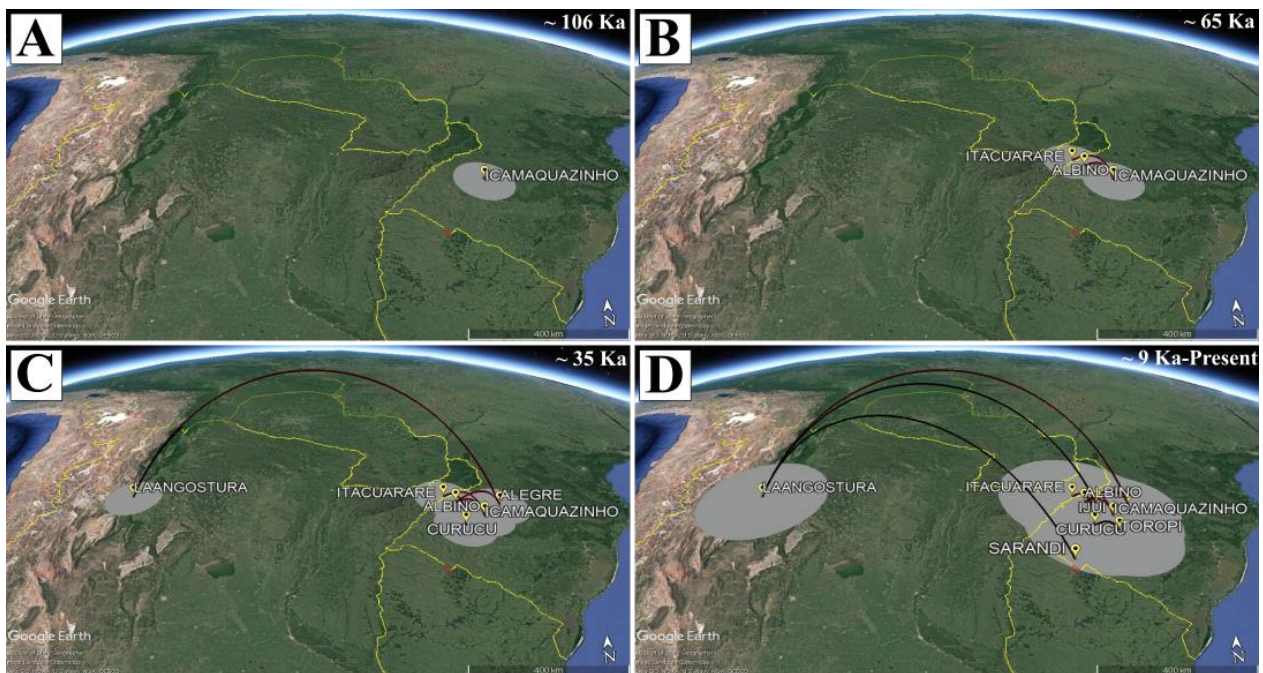
**FIGURA 1**

Mapa da distribuição das populações de *Aegla platensis* estudadas.



**FIGURA 2**

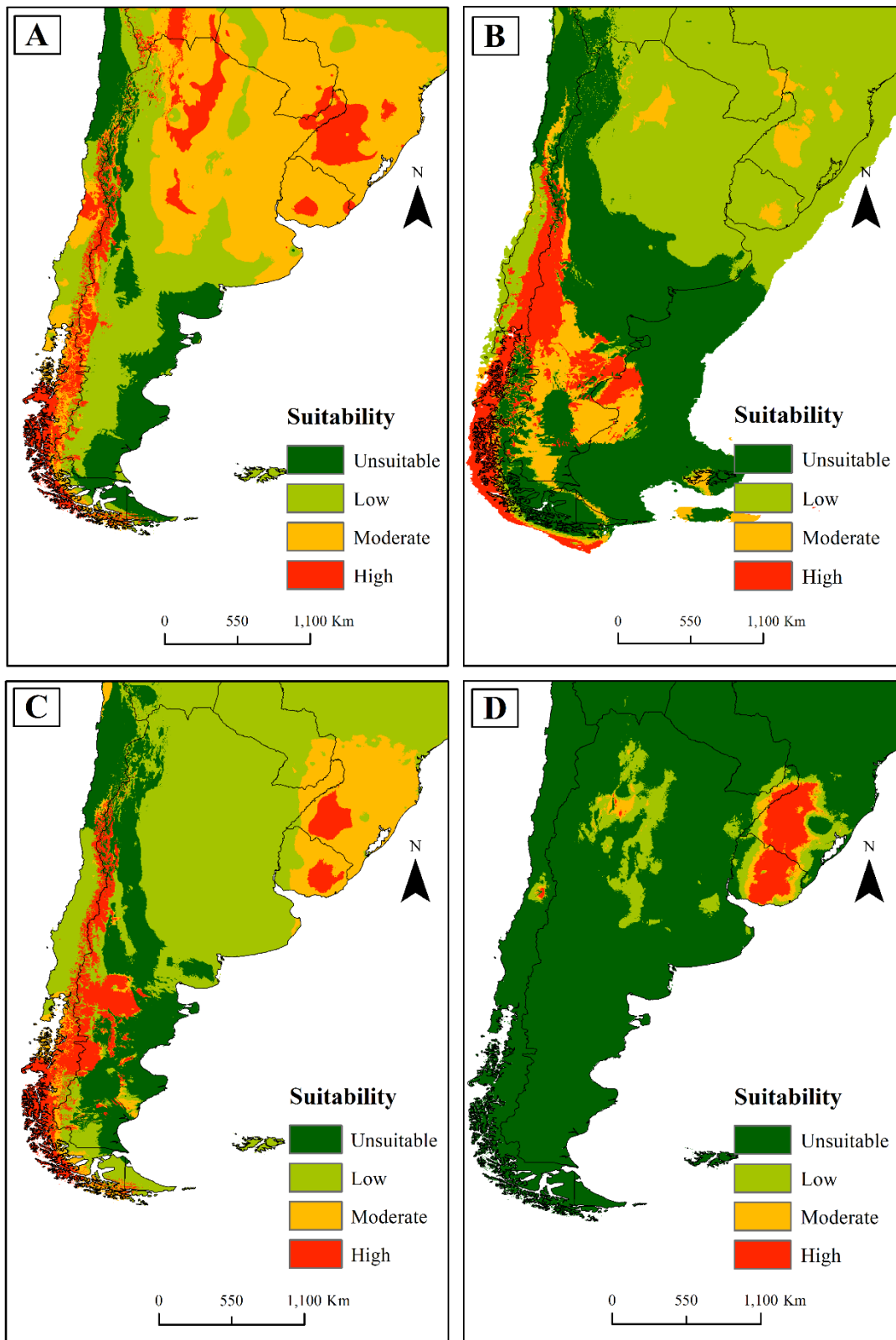
Representação gráfica das distribuições ancestrais de *Aegla platensis* obtida por análise S-DIVA. As letras indicam os locais, sendo A) Rio Ijuí, B) Rio Ibicuí, C) Rio Icamaquã, D) Rio Itacuarare, E) Rio Tafí, F) Rio Quaraí, G) Grupo externo. Os gráficos de pizza coloridos nos nós indicam possíveis intervalos ancestrais, e círculos azuis contornando os gráficos indicam dispersão e círculos vermelhos vicariância. Preto com um asterisco representa outras faixas ancestrais. Os números ao lado dos círculos referem-se aos valores de suporte S-DIVA.



**FIGURA 3**

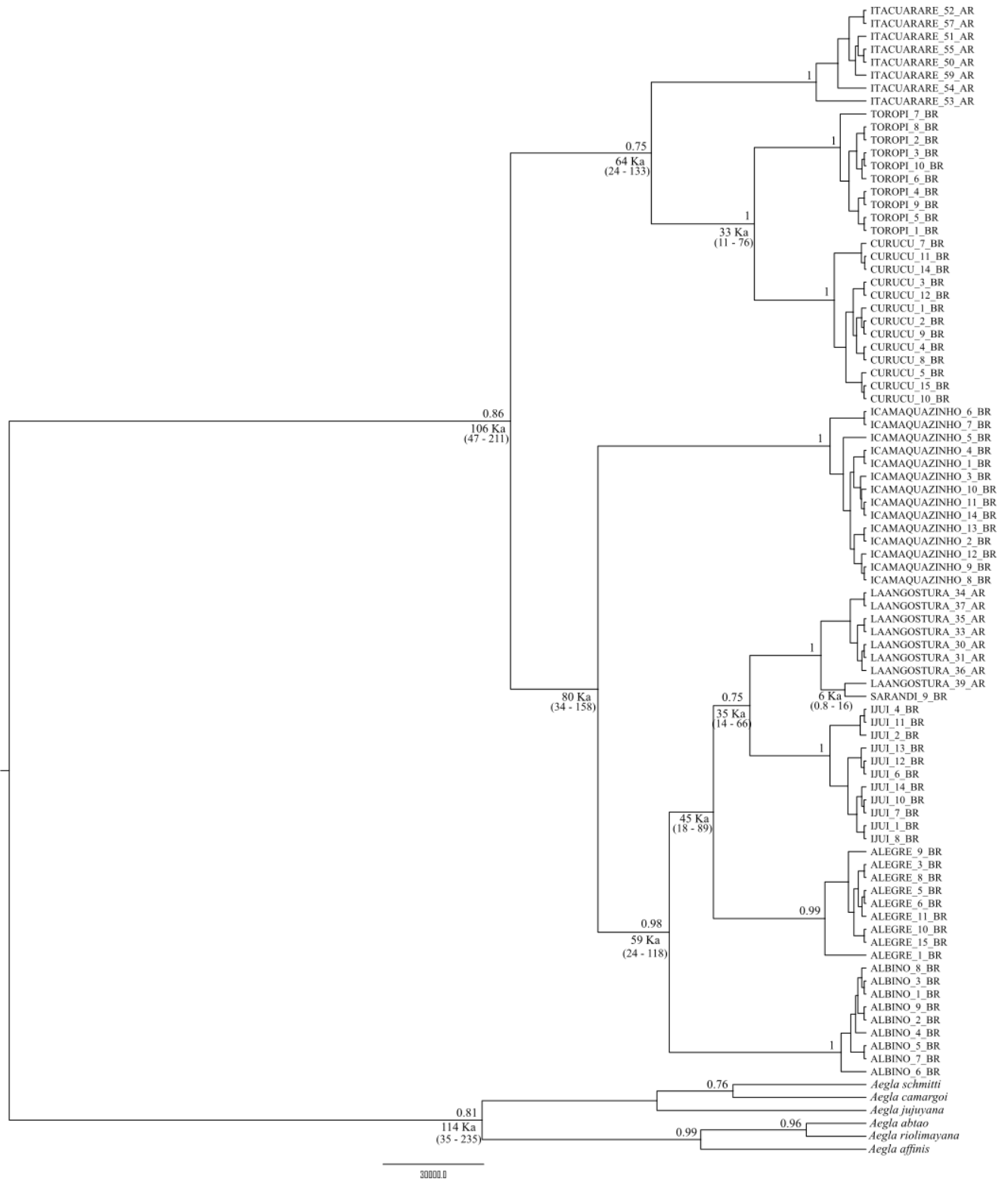
Dinâmica espaço-temporal da difusão de linhagens de *Aegla platensis* no sul da América do Sul. A) ~106 ka, origem do grupo *A. platensis*, B) ~65 ka, dispersão para áreas próximas a oeste do Rio Icamaquazinho, C) ~35 ka, dispersões subsequentes para áreas próximas ao Rio Icamaquazinho e para a Barragem La Angostura na Argentina, e D) ~9 ka até o presente, dispersões mais recentes da espécie. Ramos vermelhos indicam eventos relativamente mais antigos e ramos pretos indicam eventos posteriores, o tamanho dos polígonos representa o tamanho da população histórica inferida. Os mapas foram gerados usando o Google Earth.





**FIGURA 4**

Projeções das áreas de adequabilidade ambiental das modelagens de nicho ecológico (ENMs) para *A. platensis* no sul da América do Sul. A) Último Interglacial - LIG (120-140 mil anos atrás), B) Último Máximo Glacial - LGM (21 mil anos atrás), C) Metade do Holoceno – MID-HOL (6 mil anos atrás) e D) Período presente.



**FIGURA S1**

Árvore bayesiana com a datação estimada (ka = mil anos atrás, intervalo de confiança de 95%), baseada em sequências *COI* e *16S* (DNA mitocondrial) de *Aegla platensis*. Números acima dos ramos correspondem à probabilidade posterior.

**CAPÍTULO III - No evidence for *Wolbachia* infection (Alphaproteobacteria: Rickettsiales) in the threatened freshwater crustacean *Aegla* Leach, 1820 (Decapoda: Anomura: Aeglidae)**

Os testes realizados mostraram que *Wolbachia* não infecta *Aegla* que, portanto, não estaria influenciando os resultados de nossos estudos filogeográficos. Publicado na revista *Journal of Crustacean Biology*, v. 40, p. 141-144 (2019).

**No evidence for *Wolbachia* infection (Alphaproteobacteria: Rickettsiales) in the threatened freshwater crustacean *Aegla* Leach, 1820 (Decapoda: Anomura: Aeglidae)**

Gislaine Puli<sup>1</sup>, Andrielli P. Maria<sup>2</sup>, Bianca L. Zimmermann<sup>1,3</sup>, Sandro Santos<sup>1</sup> and Marlise L. Bartholomei-Santos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Animal, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil;*

<sup>2</sup>*Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil; and*

<sup>3</sup>*Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, Campus Ibirubá, Rua Nelci Ribas Fritsch, 1111, 98200-000, Ibirubá, RS, Brazil*

Correspondence: M.L. Bartholomei-Santos: e-mail: [marlises@gmail.com](mailto:marlises@gmail.com)

(Received 7 May 2019; accepted 12 September 2019)

ABSTRACT

*Wolbachia* bacteria (Alphaproteobacteria, Rickettsiales) are worldwide endosymbionts infecting arthropods and nematodes, which, among other effects, interfere with reproduction and the mitochondrial DNA polymorphism of their hosts. Among crustaceans, the bacteria have been mainly found in isopods, but its complete range of hosts is still unknown. We investigated the presence of *Wolbachia* in 10 species of *Aegla* Leach, 1820, a freshwater anomuran endemic to southern South America. We found no evidence for the presence of the bacteria, ensuring the reliability of studies employing mitochondrial DNA as molecular markers in aeglids.

**Key Words:** bacterial infections, endangered species, endosymbiosis, freshwater crabs, threatened species

*Wolbachia* infects a wide range of arthropods and nematodes (Cordaux *et al.*, 2012), constituting the most abundant endosymbiont of arthropods worldwide (Zimmermann *et al.*, 2015). *Wolbachia* consists of gram-negative alphaproteobacteria, which have been divided so far into 16 different main evolutionary lineages (A–Q) named supergroups (Glowska *et al.*, 2015). The genus attracts attention for its broad spectrum of hosts and capacity to manipulate their reproduction in order to ensure its transmission (Hilgenboecker *et al.*, 2008; Werren *et al.*, 2008). Moreover, *Wolbachia* can influence the mitochondrial DNA polymorphism and hence the inferences on phylogeographic, phylogenetic, population structure, and barcode

based-taxonomic studies of their hosts (Hurst & Jiggins, 2005; Whitworth *et al.*, 2007; Jiang *et al.*, 2018). *Wolbachia* and mtDNA are usually found in linkage disequilibrium in natural populations, suggesting that they are maternally co-transmitted (review in Hurst & Jiggins, 2005). Selective pressures influencing the spread of *Wolbachia* within a population may lead to selective sweep so that the mtDNA haplotype associated with the initial infection will increase in frequency. Because the infection is fixed in the population, the original mtDNA haplotype is replaced by the one associated with the infection (Hurst & Jiggins, 2005). Other mechanisms by which the bacteria can influence the mtDNA are also possible (Hurst & Jiggins, 2005; Whitworth *et al.*, 2007; Jiang *et al.*, 2018). The presence of the bacteria poses an additional difficulty for the conservation of endangered arthropod species since it may complicate management programs (Nice *et al.*, 2009; Hamm *et al.*, 2014).

Despite being widely studied, we still do not know the actual diversity of hosts infected by *Wolbachia*. The first detection of *Wolbachia* in a crustacean was in the terrestrial isopods *Armadillidium vulgare* (Latreille, 1804) and *Porcellio dilatatus* Brandt, 1833 (Rousset *et al.*, 1992). Later studies evidenced the infection not only in terrestrial isopods (Zimmermann *et al.*, 2015), but in amphipods (Cordaux *et al.*, 2001, 2012), ostracodes (Baltanas *et al.*, 2007), barnacles (Cordaux *et al.*, 2012), and copepods (Wiwatanaratanabutr, 2013) as well. Several other crustacean groups, nevertheless, have not been tested for the presence of the bacteria. *Wolbachia* from amphipods and barnacles belongs to supergroup B (Cordaux *et al.*, 2012), copepods are infected both with supergroups A and B (Wiwatanaratanabutr & Grandjean, 2016), while terrestrial isopods may be infected with supergroups A, B, and F (Zimmermann *et al.*, 2015).

We investigated for the first time species of *Aegla* Leach, 1820 for *Wolbachia* infection. *Aegla* is the only extant genus of the family Aegliidae Dana, 1852, anomurans that inhabit continental waters in southern South America (Bond-Buckup & Buckup, 1994; Pérez-Losada *et al.*, 2002). About 70% of the species of *Aegla* are under some level of threat of extinction due to their restricted distribution and the fast decline in the quality of their freshwater habitat (Santos *et al.*, 2017). Its peculiar evolutionary history and the high number of species allied to the *Wolbachia* ability to influence several aspects of the host's life history makes *Aegla* an important candidate to investigate a possible infection.

A total of 90 specimens belonging to 10 species of *Aegla* were tested (Table 1, Fig. 1). These species were chosen to include representatives of the five clades found in the molecular phylogeny of *Aegla* (Pérez-Losada *et al.*, 2004). Total DNA was extracted using QIAamp DNA Mini kit (QIAGEN, Hilden, Germany) or Chelex 100 Resin (Bio-Rad Laboratories,

Berkeley, CA, USA), following the manufacturers' instructions. We tested the presence of *Wolbachia* through the polymerase chain reaction (PCR) assay to amplify the bacterial 16S rDNA, *coxA* and *ftsZ* genes. Specific *Wolbachia* primer sequences are those from O'Neill et al. (1992) (16S rDNA) and Baldo et al. (2006) (*coxA* and *ftsZ*). PCR conditions were the same as those described by Zimmermann *et al.* (2015). We used DNA from an infected individual of the terrestrial isopod *Armadillium vulgare* as a positive PCR control. All *Aegla* samples were previously tested by amplifying the mitochondrial gene 16S using the primers 16SAeglidae-f/ 16SAeglidae-r (Pérez- Losada *et al.*, 2002) to avoid the possibility of false negative results due to the quality of the DNA sample. PCR products were tested by electrophoresis on 1% agarose gels.

Despite the wide range of hosts and distribution of *Wolbachia*, such genes were absent in the 10 species of *Aegla* tested. Studies with other freshwater crustaceans, such as crayfishes, also noted the absence of infection with *Wolbachia* (Heneghan *et al.*, 2014). Among crustaceans, the bacteria have been found more often in terrestrial isopods. Despite their occurrence in marine cirripeds and amphipods (Cordaux *et al.*, 2012), besides freshwater copepods (Wiwatanaratanabutr & Grandjean, 2016), *Wolbachia* seems to infect terrestrial species more frequently, which could be related to a continental origin of the bacteria (Bouchon *et al.*, 1998) or simply the result of a more restricted number of investigations in aquatic animals.

Even considering a possible low rate of infection, as seen by Zimmermann *et al.* (2015) in some terrestrial isopods in South America, the probability of detection of at least one infected individual out of 90 samples tested would be 99.01%, assuming an infection frequency of 5% and applying the formula of Heneghan *et al.* (2014). The evidence against the presence of *Wolbachia* in species of *Aegla* has practical importance in studies employing mtDNA, providing support for the reliability of mtDNA markers used for phylogeography and species delimitation in aeglids (Crivellaro *et al.*, 2018; Zimmermann *et al.*, 2018). *Aegla* is a monophyletic genus whose species group in five major clades, referred as A to E (Pérez-Losada *et al.*, 2004). Testing for the bacteria in aeglids from different phylogenetic clades supported the hypothesis that infection is probably absent both in the first clades to diverge (A and B) and the more derived ones (C, D, and E). The analysis encompassed a wide range in the distribution of the species of *Aegla*. Moreover, in face of the worrisome panorama for the conservation of aeglids and the difficulties in delimiting these species based on morphology only, it is reassuring that *Wolbachia* is probably not influencing the mtDNA polymorphism of

aeglids and that we can rely on the existing studies on the genetic diversity, population structure, and species delimitation in *Aegla* using this particular marker.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the anonymous reviewers who kindly improved the manuscript. We are grateful to Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for a productivity fellowship granted to SS and for a scholarship to GP.

#### REFERENCES

- Baldo, L., Hotopp, J.C.D., Jolley, K.A., Bordenstein, S.R., Biber, S.A., Choudhury, R.R., Hayashi, C., Maiden, M.C.J., Tettelin, H. & Werren, J.H. 2006. Multilocus sequence typing system for the endosymbiont *Wolbachia pipientis*. *Applied and Environmental Microbiology*, **72**: 7098–7110.
- Baltanas, A., Pita, M., Zabal-Aguirre, M. & Lopez, C. 2007. *Wolbachia* identified in a new crustacean host: an explanation of the prevalence of asexual reproduction in non-marine ostracods? *Fundamental and Applied Limnology*, **69**: 217–221.
- Bond-Buckup, G. & Buckup, L. 1994. A família Aeglidae (Crustacea, Decapoda, Anomura). *Arquivos de Zoologia*, **32**: 159–346.
- Bouchon, D., Rigaud, T. & Juchault, P. 1998. Evidence for widespread *Wolbachia* infection in isopod crustaceans: molecular identification and host feminization. *Transactions of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*, **265**: 1081–1090.
- Buckup, L. & Rossi, A. 1977. O gênero *Aegla* no Rio Grande do Sul, Brasil (Crustacea, Decapoda, Anomura, Aeglidae). *Revista Brasileira de Biologia*, **37**: 879–892.
- Brandt, J.F. 1833. Conspectus monographiae crustaceorum oniscodorum Latreillii. *Bulletin de la Société Impériale des Naturalistes de Moscou*, **4**: 171–193.
- Cordaux, R., Michel-Salzat, A. & Bouchon, D. 2001. *Wolbachia* infection in crustaceans: novel hosts and potential routes for horizontal transmission. *Journal of Evolutionary Biology*, **14**: 237–243.
- Cordaux, R., Pichon, S., Hatira, H.B.A., Doublet, V., Grève, P., Marcadé, I., Braquart-Varnier, C., Souty-Grosset, C., Charfi-Cheikhrouha, F. & Bouchon, D. 2012. Widespread *Wolbachia* infection in terrestrial isopods and other crustaceans. *Zookeys*, **176**: 123–131.
- Crivellaro, M.S., Zimmermann, B.L., Bartholomei-Santos, M.L., Crandall, K.A., Pérez-Losada, M., Bond-Buckup, G. & Santos, S. 2018. Looks can be deceiving: species delimitation reveals hidden diversity in the freshwater crab *Aegla longirostri* (Decapoda: Anomura). *Zoological Journal of the Linnean Society*, **182**: 24–37.
- Głowska, E., Dragun-Damian, A., Dabert, M. & Gerth, M. 2015. New *Wolbachia* supergroups detected in quill mites (Acari: Syringophilidae). *Infection, Genetics and Evolution*, **30**: 140–146.
- Hamm, C.A., Handley, C.A., Pike, A., Forister, M.L., Fordyce, J.A. & Nice, C.C. 2014. *Wolbachia* infection and Lepidoptera of conservation concern. *Journal of Insect Science*, **14**: 1–8.
- Heneghan, D.A., Hansen, I.A., Boecklen, W.J. & James, A.C. 2014. Evidence against the presence of *Wolbachia* in a population of the crayfish species *Procambarus clarkii*. *Advances in Ecology*, **2014**: 731291 [doi: org/10.1155/2014/731291].

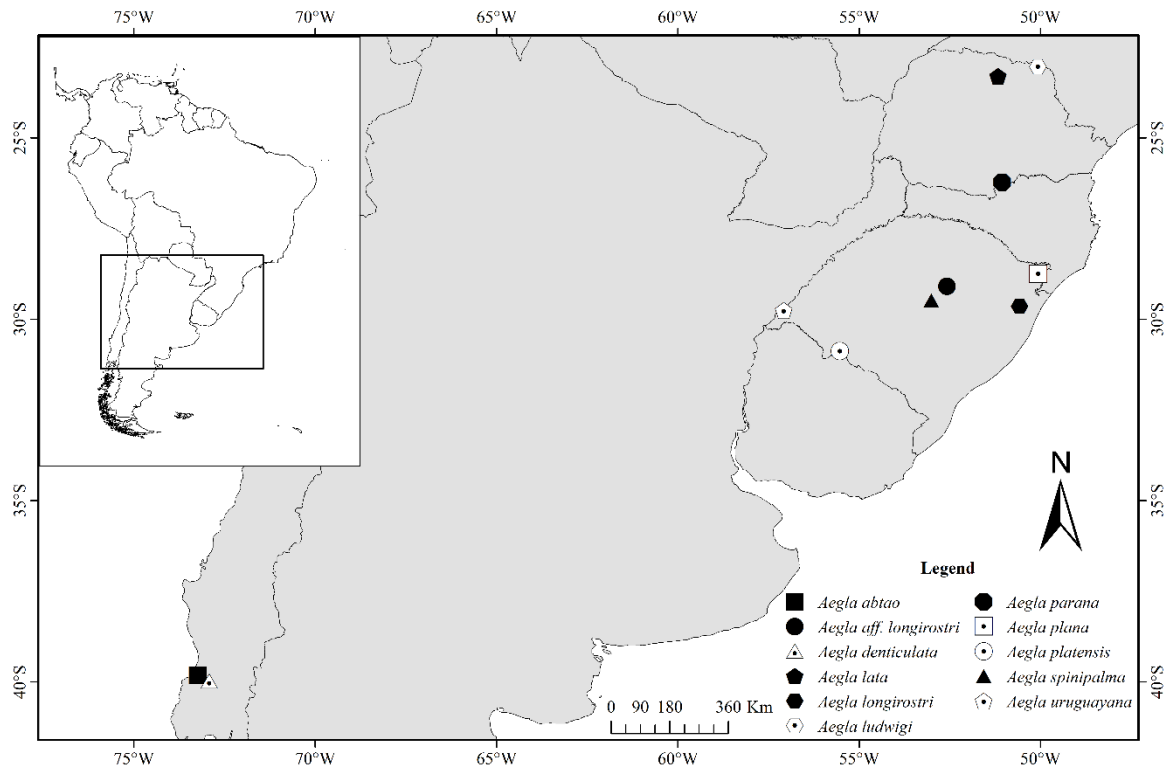
- Hilgenboecker, K., Hammerstein, P., Schlattmann, P., Telschow, A. & Werren, J.H. 2008. How many species are infected with *Wolbachia*? – a statistical analysis of current data. *FEMS Microbiology Letters*, **281**: 215–220.
- Hurst, G.D.D. & Jiggins, F.M. 2005. Problems with mitochondrial DNA as a marker in population, phylogeographic and phylogenetic studies: the effects of inherited symbionts. *Transactions of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*, **272**: 1525–1534.
- Jiang, W., Zhu, J., Wu, Y., Li, L., Li, Y., Ge, C., Wang, Y., Endersby, N.M., Hoffmann, A.A. & Yu, W. 2018. Influence of *Wolbachia* infection on mitochondrial DNA variation in the genus *Polytremis* (Lepidoptera: HesperIIDae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **129**: 158–170.
- Latreille, P.A. 1804. *Histoire naturelle, générale et particulière des Crustacés et des Insectes*, Vol. 14. F. Dufart, Paris.
- Leach, W.E. 1820. Galatéadées. In: *Dictionnaire des Sciences Naturelles*, Vol. 18, pp. 49–56. F.G. Levrault, Paris.
- Nice, C.C., Gompert, Z., Forister, M.L. & Fordyce, J.A. 2009. An unseen foe in arthropod conservation efforts: the case of *Wolbachia* infections in the Karner blue butterfly. *Biological Conservation*, **142**: 3137–3146.
- Nicolet, H. 1849. Crustáceos: In: Gay, C. *Historia física y política de Chile*, pp. 198–201. Vol. 3: Maulde et Renou, Paris.
- O'Neill, S.L., Giordano, R., Colbert, A.M.E., Karr, T.L. & Robertson, H.M. 1992. 16S rRNA phylogenetic analysis of the bacterial endosymbionts associated with cytoplasmic incompatibility in insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **89**: 2699–2702.
- Pérez-Losada, M., Jara, C.G., Bond-Buckup, G. & Crandall, K.A. 2004. Molecular systematics and biogeography of South American freshwater “crabs” *Aegla* (Decapoda: Anomura: Aeglidae) using multiple heuristic tree search approaches. *Systematic Biology*, **53**: 767–80.
- Pérez-Losada, M., Jara, C.G., Bond-Buckup, G., Porter, M.L. & Crandall, K.A. 2002. Phylogenetic position of the freshwater anomuran family Aeglidae. *Journal of Crustacean Biology*, **22**: 670–676.
- Rousset, F., Bouchon, D., Pintureau, B., Juchault, P. & Solignac, M. 1992. *Wolbachia* endosymbionts responsible for various alterations of sexuality in arthropods. *Transactions of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*, **250**: 91–98.
- Santos, S., Bond-Buckup, G., Gonçalves, A.S., Bartholomei-Santos, M.L., Buckup, L. & Jara, C.G. 2017. Diversity and conservation status of *Aegla* spp. (Anomura, Aeglidae): an update. *Nauplius*, **25**: e2017011 [doi: org/10.1590/2358-2936e2017011].
- Santos, S., Jara, C.G., Bartholomei-Santos, M.L., Pérez-Losada, M. & Crandall, K.A. 2013. New species and records of the genus *Aegla* Leach, 1820 (Crustacea, Anomura, Aeglidae) from the West-Central region of Rio Grande do Sul, Brazil. *Nauplius*, **21**: 211–223.
- Schmitt, W. 1942. The species of *Aegla*, endemic South American freshwater crustaceans. *Proceedings of the United States National Museum*, **91**: 431–520.
- Werren, J., Baldo, L. & Clark, M.E. 2008. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. *Nature Reviews Microbiology*, **6**: 741–751.
- Whitworth, T.L., Dawson, R.D., Magalon, H., & Baudry, E. 2007. DNA barcoding cannot reliably identify species of the blowfly genus *Protocalliphora* (Diptera: Calliphoridae). *Transactions of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*, **274**: 1731–1739.



- Wiwatanaratanabutr, I. 2013. Distribution, diversity and density of wolbachial infections in cladocerans and copepods from Thailand. *Journal of Invertebrate Pathology*, **114**: 341–345.
- Wiwatanaratanabutr, I. & Grandjean, F. 2016. Impacts of temperature and crowding on sex ratio, fecundity and *Wolbachia* infection intensity in the copepod, *Mesocyclops thermocyclopoides*. *Journal of Invertebrate Pathology*, **141**: 18–23.
- Zimmermann, B., Bouchon, D., Almerão, M.P. & Araujo, P.B. 2015. *Wolbachia* in Neotropical terrestrial isopods. *FEMS Microbiology Ecology*, **91**: 1–10.
- Zimmermann, B.L., Crivellaro, M.S., Hauschild, C.B., Bartholomei- Santos, M.L., Crandall, K.A., Pérez-Losada, M., Giri, F., Collins, P. & Santos, S. 2018. Phylogeography reveals unexpectedly low genetic diversity in a widely distributed species: the case of the freshwater crab *Aegla platensis* (Decapoda: Anomura). *Biological Journal of the Linnean Society*, **123**: 578–592.

**Table 1.** Species of *Aegla* and number of specimens tested for the presence of *Wolbachia* bacteria belonging to the five phylogenetic clades established for the group.

Species	Clade	Number of specimens	Sampling location
<i>Aegla abtao</i> Schmitt, 1942	B	10	Chile (Valdívía)
<i>Aegla denticulata</i> Nicolet, 1849	A	10	Chile (Valdívía)
<i>Aegla lata</i> Bond-Buckup & Buckup, 1994	-	4	Brazil (Londrina)
<i>Aegla longirostri</i> Bond-Buckup & Buckup, 1994	E	12	Brazil (Rolante)
<i>Aegla</i> aff. <i>longirostri</i> Bond-Buckup & Buckup, 1994	E	10	Brazil (Barros Cassal)
<i>Aegla ludwigi</i> Santos & Jara, 2013 (Santos <i>et al.</i> , 2013)	E	4	Brazil (Cambará)
<i>Aegla parana</i> Schmitt, 1942	C	4	Brazil (União da Vitória)
<i>Aegla plana</i> Buckup & Rossi, 1977	E	10	Brazil (São José dos Ausentes)
<i>Aegla platensis</i> Schmitt, 1942	D	12	Brazil (Santana do Livramento)
<i>Aegla spinipalma</i> Bond-Buckup & Buckup, 1994	-	4	Brazil (Lagoa Bonita do Sul)
<i>Aegla uruguayana</i> Schmitt, 1942	D	10	Brazil (Uruguaiiana)



**Figure 1.** Sampling locations in southern South America of the ten species of *Aegla* tested for the presence of *Wolbachia* alphaproteobacteria.

## DISCUSSÃO GERAL

A família Aeglidae apresenta uma ampla distribuição em águas continentais no sul da América do Sul, entre as latitudes 20°18'S (BUENO; SHIMIZU; ROCHA, 2007) e 50°34'S (OYANEDEL et al., 2011), contrastando com uma limitada capacidade de dispersão (AYRES-PERES et al., 2011), além de uma alta sensibilidade a alterações ambientais (BOND-BUCKUP; SANTOS, 2007; TREVISAN et al., 2009) e ausência de infecção por bactérias *Wolbachia* (PULI et al., 2020), que interferem no polimorfismo do DNA mitocondrial e dificultam a interpretação de estudos realizados com estes marcadores moleculares. Além disso, é um grupo ecologicamente único, pois é a única família de crustáceos anomuros com todas as suas espécies atuais restritas à água doce (BOND-BUCKUP; BUCKUP, 1994). Estas características tornam os eglídeos um excelente modelo para compreender os mecanismos que influenciaram a diversificação e distribuição de espécies de invertebrados de água doce no sul da América do Sul, bem como os impactos das mudanças climáticas futuras sobre essas espécies. Integrando métodos filogeográficos e modelagem de nicho ecológico, esta dissertação apresenta dados interessantes sobre os efeitos das oscilações climáticas passadas e futuras em *Aegla*, o único gênero vivo da família. No capítulo I documentamos reduções nas áreas de adequabilidade ambiental para a família e para *A. obstipa*, que possui uma distribuição restrita, e mudanças de alcance na distribuição de áreas de adequabilidade ambiental para *A. platensis*; e no capítulo II relatamos os impactos das oscilações climáticas do Pleistoceno em *A. platensis*, espécie mais amplamente distribuída dentre os eglídeos. No capítulo III, apresentamos evidências de que a Alphaproteobacteria *Wolbachia*, a qual infecta uma ampla gama de artrópodes e nematódes, manipulando a reprodução de seus hospedeiros, não infecta o gênero *Aegla*. Visto que a presença de *Wolbachia* impõe dificuldades adicionais para a conservação de artrópodes (NICE et al., 2009; HAMM et al., 2014) e pode influenciar o polimorfismo do DNA mitocondrial, consequentemente interferindo nas inferências filogeográficas, filogenéticas, entre outras, a ausência desta bactéria nos eglídeos é um dado importante face ao cenário preocupante para a conservação do grupo.

As oscilações climáticas dos ciclos glaciais-interglaciais do Pleistoceno desempenharam relevantes papéis na diversificação e distribuição das espécies (HEWITT, 2000, 2004). Em uma revisão sobre a filogeografia da América do Sul, Turchetto-Zolet et al. (2013) observaram que em mais da metade dos estudos filogeográficos realizados no

continente, as espécies analisadas apresentaram alterações demográficas associadas às oscilações climáticas do Pleistoceno. Os resultados desse estudo corroboram com esse padrão observado, uma vez que a modelagem de nicho ecológico (ENM) apontou a ocorrência de expansão e retração das áreas de adequabilidade ambiental para *A. platensis* nos ciclos glaciais-interglaciais, e as análises filogeográficas mostraram que a diversificação da espécie seguiu esses eventos. Efeitos das oscilações climáticas do Pleistoceno foram descritos anteriormente para *A. alacalufi* na Patagônia, que teve sua história filogeográfica associada aos ciclos glaciais (XU et al., 2009).

Os efeitos dos ciclos glaciais-interglaciais do Pleistoceno sobre a diversificação e distribuição de *A. platensis* refletem os cenários de temperatura amena e umidade elevada durante o período interglacial (OTTO-BLIESNER et al., 2006) e de clima frio e seco durante o período glacial (BEHLING; NEGRELLE, 2001). Extensas áreas de adequabilidade ambiental foram observadas para *A. platensis*, ao longo do sul da América do Sul no Último Interglacial (LIG), ocorrendo uma redução dessa adequabilidade no interior do continente durante o Último Máximo Glacial (LGM), conforme observado na ENM, o que pode explicar o longo período de estabilidade demográfica e a posterior retração populacional que ocorreu logo após o LGM para a espécie (ZIMMERMANN et al., 2018). Além disso, as análises filogeográficas apontaram o início e a maior parte da diversificação genética da espécie ocorrendo durante o período interglacial, com a colonização de novas áreas.

Os resultados apontaram três importantes barreiras para a dispersão de *A. platensis*. A Cordilheira dos Andes, apontada anteriormente por Pérez-Losada et al. (2004) como responsável pelo isolamento das espécies de *Aegla* chilenas das demais, o mar de areia na região pampeana da Argentina, e o manto de sedimentos loéssicos na planície Chaco – Pampeana (LATRUBESSE, 2003). Essas barreiras fazem das áreas de alta adequabilidade ambiental observadas no sul do Chile e da Argentina para *A. platensis* improváveis refúgios durante o LGM. Dessa forma, *A. platensis* pode ter persistido em micro refúgios ao longo de sua distribuição, colonizando novas áreas após mudanças no cenário de aridez na metade do Holoceno (MID-HOL) (IRIONDO; GARCIA, 1993; STEVAUX; SANTOS, 1997), conforme observado nas análises filogeográficas. A sobrevivência em refúgios durante períodos glaciais já foi observada anteriormente em *A. alacalufi*. Xu et al. (2009) observaram que durante os avanços glaciais, as populações de *A. alacalufi* da Patagônia foram eliminadas ou forçadas a refúgios e após, durante os recuos glaciais, os sobreviventes recolonizavam e expandiam suas populações.

Nas projeções futuras, as ENMs mostraram uma redução significativa nas áreas de adequabilidade ambiental para *Aegla* até o final do século XXI, em comparação com as áreas do presente, e perda total das áreas de alta e moderada adequabilidade ambiental em alguns períodos (2040 e 2060) para *A. obstipa*. Para *A. platensis* não foi observado grandes perdas de áreas de adequabilidade ambiental, porém houve mudança de alcance na distribuição dessas áreas. Os efeitos das mudanças climáticas podem diferir de espécie para espécie (DAUFRESNE et al., 2004; CHESSMAN, 2009; DYER et al., 2013), e comumente são mais severos em espécies com distribuição restrita (MALCOLM et al., 2006; PARMESAN, 2006; DOMISCH et al., 2013), o que é preocupante, pois muitos eglídeos possuem distribuição restrita assim como *A. obstipa*. A mudança de alcance de distribuição observada para *A. platensis*, que possui distribuição ampla, também pode ser problemática, pois a limitada capacidade de dispersão e a fragmentação dos habitats de água doce podem impedir a colonização dessas novas áreas.

Essas previsões para o futuro podem refletir as condições mais secas previstas para a maior parte da América do Sul (FERNANDEZ; FRANCHITO; RAO, 2019; ZANINELLI et al., 2019), e o aumento na temperatura que poderá chegar a 5,5 °C (NUÑEZ; SOLMAN; CABRÉ, 2009), uma vez que, em condições de baixo fluxo de água as espécies de água doce se tornam mais vulneráveis a variações de temperatura. Este aspecto é preocupante, considerando as respostas apresentadas por *A. platensis* durante o clima seco do LGM, o que reforça a necessidade de medidas urgentes de conservação para os eglídeos e leva a outro ponto abordado nesse estudo, a eficácia das áreas de Proteção Ambiental para a conservação do grupo. As áreas de Proteção Ambiental são atualmente as principais ferramentas para a conservação da biodiversidade, no entanto essas áreas podem não ser representativas da fauna de água doce (ABELL; ALLAN; LEHNER, 2007; DARWALL et al., 2011). Nossos resultados mostraram pouca sobreposição entre a rede atual de PAs e as áreas climaticamente adequadas para *Aegla*. Além disso, com base nas projeções de adequação climática futura, espera-se que essa cobertura seja reduzida, diminuindo ainda mais a eficácia de conservação.

## CONCLUSÃO

Os resultados das análises filogeográficas e dos modelos de nicho ecológico do passado, associados aos históricos geológico, climático e hídrico do sul da América do Sul, mostraram que *A. platensis* teve sua história filogeográfica associada aos ciclos glaciais-interglaciais do Pleistoceno. As mudanças na aridez e na temperatura afetaram a diversificação da espécie, que ocorreu predominantemente durante o Último Interglacial, com a colonização de novas áreas que se mostraram adequadas climaticamente, com as temperaturas amenas e umidade elevada observadas para o período.

A Cordilheira dos Andes se mostrou uma importante barreira para a dispersão de *A. platensis*, impedindo a ocorrência de colonização no Chile, que apresentou áreas climaticamente adequadas ao longo do tempo de diversificação da espécie, até os dias atuais. Durante o Último Máximo Glacial, o extenso mar de areia na região pampeana da Argentina e o manto de sedimentos loéssicos na planície Chaco–Pampeana possivelmente constituíram um importante limitador da dispersão de *A. platensis* e, juntamente com a Cordilheira dos Andes, restringiram a distribuição da espécie aos ambientes menos favoráveis do interior do continente, onde a espécie persistiu em micro refúgios, acarretando em retração populacional.

Mudanças na aridez e na temperatura também se mostram importantes para a distribuição futura de *Aegla*. Diante da perspectiva de clima mais seco e temperaturas mais elevadas, os modelos de nicho ecológico apontaram a redução das áreas de adequabilidade ambiental para *Aegla*, mudança de alcance das áreas climaticamente adequadas para *A. platensis*, e o desaparecimento das áreas de alta e moderada adequabilidade para *A. obstipa* em alguns dos períodos analisados. Os efeitos mais severos das mudanças climáticas futuras para *A. obstipa* são preocupantes, considerando que a maioria das espécies de *Aegla* possui distribuição restrita e poderão sofrer consequências semelhantes. Este aspecto denota a necessidade de especial atenção a essas espécies.

Além disso, atual rede de Proteção Ambiental cobre muito pouco das áreas de distribuição potencial atual e futuras para *Aegla*, evidenciando a necessidade de ampliação ou criação de novas áreas de Proteção Ambiental no sul da América do Sul, a fim de melhorar a proteção da biodiversidade de água doce. Nossos resultados ressaltam a importância de considerar diferentes grupos taxonômicos e a distribuição potencial futura das espécies para que as medidas de conservação sejam realmente eficazes.

Um aspecto positivo observado foi a ausência de infecção por bactérias *Wolbachia* em *Aegla*, as quais afetam a reprodução de seu hospedeiro. Esse resultado também tem uma importância prática em estudos que empregam mtDNA, como o nosso, pois considerando que a *Wolbachia* pode influenciar o polimorfismo do mtDNA, a evidência de ausência de infecção por essa bactéria em *Aegla* fornece suporte para a confiabilidade dos marcadores de mtDNA usados para filogeografia e delimitação de espécies em eglídeos, estudos que fornecem informações importantes para a conservação do grupo.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELL, R.; ALLAN, J. D.; LEHNER, B. Unlocking the potential of protected areas for freshwaters. **Biological Conservation**, v. 134, n. 1, p. 48–63, 2007.

ARENAS, R. L. La cordillera de la costa como refugio de la fauna dulcícola preglacial. **Archivos de Biología y Medicina Experimentales**. v. 10, p. 1-40, 1974

AYRES-PERES, L. et al. Radio-telemetry techniques in the study of displacement of freshwater anomurans. **Nauplius**, v. 19, n.1, p. 41-54, 2011.

BEHLING, H.; NEGRELLE, R. R. B. Tropical rain forest and climate dynamics of the Atlantic lowland, Southern Brazil, during the late Quaternary. **Quaternary Research**, v. 56, n. 3, p. 383–389, 2001.

BIELEJEC, F. et al. SPREAD: Spatial phylogenetic reconstruction of evolutionary dynamics. **Bioinformatics**, v. 27, n. 20, p. 2910–2912, 2011.

BOND-BUCKUP, G. et al. Global diversity of crabs (Aeglidae: Anomura: Decapoda) in freshwater. **Hydrobiologia**, v. 595, n. 1, p. 267–273, 2008.

BOND-BUCKUP, G.; BUCKUP, L. A família Aeglidae (Crustacea, Decapoda, Anomura). **Arquivos de Zoologia**, v. 32, p. 159-346, 1994.

BUENO, A. A. P.; BOND-BUCKUP, G. Natural Diet of *Aegla platensis* Schmitt and *Aegla ligulata* Bond-Buckup (Crustacea, Decapoda, Aeglidae) from Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 16, n. 2, p. 115–127, 2004.

BOND-BUCKUP, G.; SANTOS, S. Crustáceos anomuros de águas continentais: diversidade e aspectos biológicos. **Ciência e Ambiente**, v. 35, n. 35, p. 47-54, 2007.

BUENO, S. L. S.; SHIMIZU, R. M.; ROCHA, S. S. Estimating the population size of *Aegla franca* (Crustacea: Decapoda: Anomura) by mark-recapture technique from an isolated section of Barro Preto stream, county of Claraval, state of Minas Gerais, southeastern Brazil. **Journal of Crustacean Biology**, v. 27, n. 4, p. 553–559, 2007.

CASSINI, M. H. et al. Scale-dependent analysis of an otter-crustacean system in Argentinean Patagonia. **Naturwissenschaften**, v. 96, n. 5, p. 593–599, 2009.

CHESSMAN, B. C. Climatic changes and 13-year trends in stream macroinvertebrate assemblages in New South Wales, Australia. **Global Change Biology**, v. 15, n. 11, p. 2791–2802, 2009.

COGO, G. B.; SANTOS, S. The role of aeglids in shredding organic matter in neotropical streams. **Journal of Crustacean Biology**, v. 33, n. 4, p. 519–526, 2013.

DARWALL, W. R. T. et al. Implications of bias in conservation research and investment for freshwater species. **Conservation Letters**, v. 4, n. 6, p. 474–482, 2011.

- DAUFRESNE, M. et al. Long-term changes within the invertebrate and fish communities of the Upper Rhône River: Effects of climatic factors. **Global Change Biology**, v. 10, n. 1, p. 124–140, 2004.
- DOMISCH, S. et al. Modelling distribution in European stream macroinvertebrates under future climates. **Global Change Biology**, v. 19, n. 3, p. 752–762, 2013.
- DYER, J. J. et al. The influence of coarse-scale environmental features on current and predicted future distributions of narrow-range endemic crayfish populations. **Freshwater Biology**, v. 58, n. 6, p. 1071–1088, 2013.
- FELDMANN, R. M. *Haumuriaegla glaessneri* n. gen. and sp. (Decapoda; Anomura; Aeglidae) from Haumurian (Late Cretaceous) rocks near Cheviot, New Zealand. **New Zealand Journal of Geology and Geophysics**, v. 27, n. 3, p. 379–385, 1984.
- FELDMANN, R. M. et al. Early cretaceous arthropods from the Tlayua formation at Tepexi de Rodriguez, Puebla, Mexico. **Journal of Paleontology**, v. 72, n. 1, p. 79–90, 1998.
- FERNANDEZ, J. P. R.; FRANCHITO, S. H.; RAO, V. B. Future Changes in the Aridity of South America from Regional Climate Model Projections. **Pure and Applied Geophysics**, v. 176, n. 6, p. 2719–2728, 2019.
- GONÇALVES, A. S. et al. Priority areas for conservation within four freshwater ecoregions in South America: A scale perspective based on freshwater crabs (Anomura, Aeglidae). **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems**, v. 28, n. 5, p. 1077–1088, 2018.
- HAMM, C.A. et al. *Wolbachia* infection and Lepidoptera of conservation concern. **Journal of Insect Science**, v. 14, n. 1, p. 1–8, 2014.
- HEWITT, G. The genetic legacy of the quaternary ice ages. **Nature**, v. 405, n. 6789, p. 907–913, 2000.
- HEWITT, G. M. Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 359, n. 1442, p. 183–195, 2004.
- IRIONDO, M. H.; GARCIA, N. O. Climatic variations in the Argentine plains during the last 18,000 years. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 101, n. 3–4, p. 209–220, 1993.
- JARA, C. G.; RUDOLPH, E. H.; GONZÁLEZ, E. R. Estado de conocimiento de los malacostráceos dulceacuicolas de Chile. **Gayana**, v. 70, n. 1, p. 40–49, 2006.
- LARA, G. P.; MORENO, C. A. Effects of predation of *Aegla abtao* (Crustacea, Aeglidae) on the spatial distribution pattern and abundance of *Diplodon chilensis* (Bivalvia, Hyriidae) in Lake Panguipulli, Chile. **Revista Chilena de Historia Natural**, v. 68, p. 123–129, 1995.

LATRUBESSE, E. M. The Late Quaternary Paleohydrology of Large South American Fluvial Systems. In: **Palaeohydrology: Understanding Global Change**. p. 193–213, 2003.

MAGNI, S. T.; PY-DANIEL, V. *Aegla platensis* Schitt, 1942 (Decapoda Anomura) um predador de imaturos de Simuliidae (Diptera: Culicomorpha). **Revista de Saúde Pública**, v. 23, n. 3, p. 258–9, 1989.

MAGRIS, R. A. et al. Quantification of extinction risk for crustacean species: an overview of the National Red Listing process in Brazil. **Nauplius**, p. 129–135, 2010.

MALCOLM, J. R. et al. Global warming and extinctions of endemic species from biodiversity hotspots. **Conservation Biology**, v. 20, n. 2, p. 538–548, 2006.

MARÇAL, I. C. et al. Taxonomic revision of *Aegla lata* bond-Buckup & buckup, 1994 (Decapoda: Anomura: Aeglidae), with the description of a new species of *Aegla leach*, 1820 from the Upper Paraná Ecoregion, Brazil. **Journal of Crustacean Biology**, v. 40, n. 4, p. 425–434, 2020.

MARKOVIC, D. et al. Europe's freshwater biodiversity under climate change: Distribution shifts and conservation needs. **Diversity and Distributions**, v. 20, n. 9, p. 1097–1107, 2014.

MELO, M. T. Q. **Dieta de *Caiman latirostris* (Daudin, 1802) na Estação Ecológica do Taim, RS**. Porto Alegre, Instituto de Biociências, Pontifícia, Universidade Católica do Rio Grande do Sul. p. 63, 1990.

MORAES, J. C. B.; BUENO, S. L. D. S. Description of the newly-hatched juvenile of *Aegla perobae* (Crustacea: Decapoda: Aeglidae). **Zootaxa**, v. 3973, n. 3, p. 491–510, 2015.

NICE, C. C. et al. An unseen foe in arthropod conservation efforts: the case of *Wolbachia* infections in the Karner blue butterfly. **Biological Conservation**, v. 142, n. 12, p. 3137–3146, 2009.

NUÑEZ, M. N.; SOLMAN, S. A.; CABRÉ, M. F. Regional climate change experiments over southern South America. II: Climate change scenarios in the late twenty-first century. **Climate Dynamics**, v. 32, n. 7–8, p. 1081–1095, 2009.

OTTO-BLIESNER, B. L. et al. Simulating arctic climate warmth and icefield retreat in the last interglaciation. **Science**, v. 311, n. 5768, p. 1751–1753, 2006.

OYANEDEL, A. et al. The Southernmost Freshwater Anomurans of the World: Geographic Distribution and New Records of Patagonian Aeglids (Decapoda: Aeglidae). **Journal of Crustacean Biology**, v. 31, n. 3, p. 396–400, 2011.

PÁEZ, F. P. et al. A new species of *Aegla* Leach, 1820 (Crustacea, Anomura) from the Iguazu River basin, Brazil. **Zootaxa**, v. 4527, n. 3, p. 335–346, 2018.

PARMESAN, C. Ecological and evolutionary responses to recent climate change. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 37, p. 637–669, 2006.

PÉREZ-LOSADA, M. et al. Molecular systematics and biogeography of the southern South

American freshwater “crabs” *Aegla* (Decapoda: Anomura: Aeglidae) using multiple heuristic tree search approaches. **Systematic Biology**, v. 53, n. 5, p. 767–780, 2004.

PETERSON, A. T. et al. **Ecological Niches and Geographic Distributions (MPB-49)**. Princeton University Press, 2011.

POFF, N. L., OLDEN, J. D. & STRAYER, D. L. Climate change and freshwater fauna extinction risk. In: HANNAH LJ (Ed.). **Saving a million species: extinction risk from climate change**. p. 309–336, 2012.

PULI, G. et al. No evidence for Wolbachia infection (Alphaproteobacteria: Rickettsiales) in the threatened freshwater crustacean *Aegla* (Decapoda: Anomura: Aeglidae). **Journal of Crustacean Biology**, v. 40, n. 1, p. 141-144, 2020.

SANTOS, S. et al. Natural diet of the freshwater anomuran *Aegla longirostri* (Crustacea, Anomura, Aeglidae). **Journal of Natural History**, v. 42, n. 13–14, p. 1027–1037, 2008.

SANTOS, S. et al. Diversity and conservation status of *Aegla* spp. (Anomura, Aeglidae): an update. **Nauplius**, v. 25, n. 0, 2017.

STEVAUX, J. C.; SANTOS, M. L. Paleohydrological changes in the Upper Paraná River (Brazil) during the Late Quaternary: a faciological approach. In: BENITO, G., BAKER, V. R. & GREGORY, K. J. (Ed.). **Paleohydrological and the Hydrological Sciences**. p. 273–285, 1998.

TREVISAN, A.; HEPP, L.U.; SANTOS, S. Abundância e distribuição de Aeglidae (Crustacea: Anomura) em função do uso da terra na bacia hidrográfica do Rio Jacutinga, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia (Impresso)**, 26, n. 3, p. 419-426, 2009.

TROMBETTA, A. et al. *Aegla nebeccana* n. sp. (Crustacea, Aeglidae) from Ivaí basin, Paraná, Brazil. **Zootaxa**, v. 4712, n. 1, p. 138–150, 2019.

TUMINI, G. et al. Selecting and ranking areas for conservation of *Aegla* (Crustacea: Decapoda: Anomura) in southern South America integrating biogeography, phylogeny and assessments of extinction risk. **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems**, v. 29, n. 5, p. 693–705, 2019.

TURCHETTO-ZOLET, A. C. et al. Phylogeographical patterns shed light on evolutionary process in South America. **Molecular Ecology**, v. 22, n. 5, p. 1193–1213, 2013.

XU, J. et al. Pleistocene glaciation leaves deep signature on the freshwater crab *Aegla alacalufi* in Chilean Patagonia. **Molecular Ecology**, v. 18, n. 5, p. 904–918, 2009.

YU, Y. et al. RASP (Reconstruct Ancestral State in Phylogenies): A tool for historical biogeography. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 87, p. 46–49, 2015.

YU, Y.; HARRIS, A. J.; HE, X. S-DIVA (Statistical Dispersal-Vicariance Analysis): A tool for inferring biogeographic histories. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 56, n. 2, p. 848–850, 2010.

ZANINELLI, P. G. et al. Future hydroclimatological changes in South America based on an ensemble of regional climate models. **Climate Dynamics**, v. 52, n. 1–2, p. 819–830, 2019.

ZIMMERMANN, B. L. et al. Phylogeography reveals unexpectedly low genetic diversity in a widely distributed species: The case of the freshwater crab *Aegla platensis* (Decapoda: Anomura). **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 123, n. 3, p. 578–592, 2018.