



FELIPE BEZERRA RIBEIRO

Taxonomia e relações filogenéticas dos lagostins de água doce do gênero *Parastacus* Huxley, 1879 (Crustacea, Decapoda, Parastacidae)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Biologia Animal.

Área de Concentração: Biologia Comparada

Orientadora: Profa. Dra. Paula Beatriz de Araujo

Coorientador: Prof. Dr. Augusto Ferrari

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

PORTE ALEGRE

2017

Taxonomia e relações filogenéticas dos lagostins de água doce do gênero *Parastacus*
Huxley, 1879 (Crustacea, Decapoda, Páristacidae)

FELIPE BEZERRA RIBEIRO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Biologia Animal.

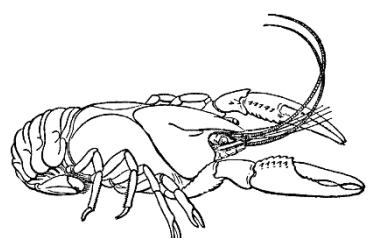
Aprovada em _____ de _____ de 2017.

Professora Dra. Georgina Bond-Buckup – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Professor Dr. Fernando Mantelatto – Universidade de São Paulo

Professora Dra. Jocélia Grazia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Aos lagostins de água doce, minha
família, minha orientadora e meus
amigos queridos ...



Agradecimentos

Aos órgãos de fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas concedidas (bolsa de doutorado e doutorado sanduíche no exterior SWE - CNPQ processo 206439/2014-8). Assim como ao projeto CAPES - COFECUB que financiou parte das coletas.

À minha orientadora, a Professora Dra. Paula Beatriz Araujo, por aceitar me orientar, sem me conhecer previamente, por toda a confiança investida durante esse doutorado, por ter me incentivado a adentrar no ramo da taxonomia (que eu não largarei mais!) e por sempre ser uma pessoa querida e uma mãe com todos os seus orientados.

Ao meu co-orientador, o Professor Dr. Augusto Ferrari, pelas aulas e ensinamentos de filogenia e biogeografia, pela confiança e por sempre solucionar minhas dúvidas enviando um conjunto de artigos.

To my international supervisor, Professor Dr. Christoph Schubart, for having accepted me in his research group in the University of Regensburg (Germany) during my PhD sandwich period, for the teachings of molecular phylogeny and for always being a fun person. Dankeschön!

À Dra. Ivana Miranda, a qual foi minha co-orientadora durante o período de doutorado sanduíche na Alemanha, por me ensinar tudo referente às técnicas de extração de DNA e PCR, assim como as análises filogenéticas e também por ser sempre uma amiga querida e partilhar dos momentos difíceis de se viver fora do seu país de origem.

Aos professores Dr. Fernando Mantelatto da USP e Dra. Jocélia Grazia e Dra. Georgina Bond-Buckup, por terem aceitado participar da banca e pelas valiosas sugestões na tese.

Aos professores do PPG BAN, em especial Dr. Márcio Borges-Martins, Luiz Alexandre Campos, Jocélia Grazia, Augusto Ferrari, Maríndia Deprá, Paula Araujo e Luiz Malabarba, pelas ótimas aulas e conhecimentos passados nas disciplinas.

Aos queridos professores e amigos Dr. Ludwig Buckup e Dra. Georgina Bond-Buckup por todos os imensuráveis ensinamentos transmitidos e por nos acolherem como netos científicos.

À doutoranda, Kelly Martinez Gomes, que além de ser parceira no estudo dos lagostins, também é uma grande amiga para todas as horas. Obrigado por todos os ótimos momentos em campo, pela troca de conhecimentos, por rirmos juntos e me ensinar tudo sobre os ambientes de água doce, e também por me levar em campo mesmo antes de eu não ter entrado oficialmente no doutorado.

Ao aluno de Ciências Biológicas Augusto Frederico Huber, meu primeiro orientado, por seu interesse e dedicação ao estudo taxonômico dos lagostins, pela imensurável ajuda com as pranchas dos desenhos, por ser sempre uma pessoa educada e querida que transmite paz a todos, pelos bolos que a mãe dele faz e ele leva para lab e por ser mais que um orientado, um amigo querido, sempre preocupado se eu estava trabalhando demais!

Ao doutorando Diego Kenne, por ser meu grande amigo em Porto Alegre (como de infância), além de colega de laboratório, por todo o seu companheirismo durante esses quatro anos, todas as risadas, combos duplos e aventuras juntos e por servir como um suporte emocional em vários momentos.

Aos meus companheiros (passados e presentes) do Laboratório de Carcinologia da UFRGS, Pedro Pezzi, Lara Bueno, Camila Wood, Monique, Luana, Bárbara, Bianca Zimmermann, Gabriel Dalló, Carol Sokolowickz, Aline Quadros, Alice Hirschmann, Kimberly Marta e Ana Carolina, por todos os

ótimos momentos de convivência juntos e auxílios em campo. Aos também companheiros de laboratório, mas amigos do peito, Giovanna Cardoso, Ivanklin e Tainã, por toda a amizade sincera e divertida nesses anos que se passaram e por todas as ajudas na correção de artigos e análises.

To my lab colleagues from the research group of Zoology and Evolutionary Biology from the University of Regensburg: Salise Martins, Murilo Marochi, Ivana Miranda, Theodor Poettinger, Adnan Shahdadi, Ludwig Fischer and Linda Dengler for help in lab procedures or analysis and also for the friendship during my PhD sandwich.

Aos meus amigos cearenses de longa data Gabriela Fernandes e Marcos André, por estarem juntos comigo desde a graduação e agora seremos doutores juntos! Muito obrigado por esses dez anos de amizade sinceros.

Ao programa de Pós-Graduação em Biologia Animal e a Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) pela oportunidade de acesso à pesquisa e ao ensino de qualidade.

Aos órgãos de fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas concedidas (bolsa de doutorado e doutorado sanduíche no exterior SWE - CNPQ processo 206439/2014-8). Assim como ao projeto CAPES - COFECUB que financiou parte das coletas.

Às coleções, museus e seus curadores que se dispuseram a me receber e fornecer dados que permitiram a realização deste trabalho, em especial Alejandro Tablado, Ana Verdi, Jorge Pérez-Schulteiss, Oliver Coleman, Dieter Fieger, Stefan Friedrich, Marcos Tavares, Miranda Lowe, Daniel Roccatagliatta, Margarete Lucena, Inés César, Karen van Dorp, Laure Corbari e Paul Clark.

À toda a minha família, meus sinceros agradecimentos pelo amor e confiança depositados ao primeiro doutor da família!

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho e da minha formação acadêmica e que torceram para eu chegar até aqui.

“There is grandeur in this view of life, with its several powers, having been originally breathed into a few forms or into one; and that, whilst this planet has gone cycling on according to the fixed law of gravity, from so simple a beginning endless forms most beautiful and most wonderful have been, and are being, evolved.”

Charles Darwin

*“(...) Once there was a child`s dream
One night the clock struck twelve
The window open wide
Once there was a child`s heart
The age I learned to fly
And took a step outside*

Fly to a dream far across the sea

All the burdens gone (...)”

*Tuomas Holopainen (Dark Chest of Wonders
- Nightwish*

Sumário

PREFÁCIO	10
RESUMO	12
ABSTRACT	13
INTRODUÇÃO GERAL	14
<i>Classificação e diversidade</i>	14
<i>Taxonomia molecular e diversidade críptica</i>	16
<i>Filogenia</i>	16
<i>Habitat e hábitos escavadores</i>	18
<i>Biologia reprodutiva</i>	20
<i>Conservação</i>	21
REFERÊNCIAS	22
OBJETIVOS	30
Objetivo Geral	30
Objetivos específicos	30
CAPÍTULOS (ARTIGOS)	31
CAPÍTULO I: Two new species of South American freshwater crayfish genus <i>Parastacus</i> Huxley, 1879 (Crustacea: Decapoda: Parastacidae)	31
CAPÍTULO II: A new species of <i>Parastacus</i> Huxley, 1879 (Crustacea, Decapoda, Parastacidae) from a swamp Forest in southern Brazil	33
CAPÍTULO III: A molecular phylogenetic investigation of South American freshwater crayfish (Crustacea: Decapoda: Parastacidae) with emphasis on <i>Parastacus</i>	48
CAPÍTULO IV: Taxonomic review of the genus <i>Parastacus</i> Huxley, 1879 (Crustacea: Decapoda: Astacidea: Parastacidae)	50
CONSIDERAÇÕES FINAIS	53

Prefácio

Os lagostins de água doce constituem um grupo ímpar entre os crustáceos decápodos, sendo amplamente distribuídos pelo mundo, em especial no sul da América do Sul. O gênero *Parastacus*, até então com apenas oito espécies, sempre foi um grupo subestimado no quesito de riqueza específica. O aumento do conhecimento acerca da diversidade e evolução do grupo é o grande objetivo desta tese. Ao longo deste trabalho foi possível explorar ferramentas morfológicas e moleculares, assim como a análise de diversos espécimes depositados em várias coleções do mundo e também oriundos de expedições de campo.

A tese inicia com uma introdução geral, onde são abordadas aspectos gerais de classificação diversidade e bioecologia dos lagostins de água doce, além de diversidade críptica, filogenia e taxonomia molecular. Posteriormente, esta tese está estruturada em quatro capítulos que correspondem a artigos desenvolvidos de forma relacionada, abordando taxonomia e sistemática filogenética usando dados moleculares e morfológicos.

O capítulo I - **Two new species of South American crayfish genus *Parastacus* Huxley, 1879 (Crustacea, Decapoda, Parastacidae)** [Duas novas espécies de lagostins sulamericanos do gênero *Parastacus* Huxley, 1879 (Crustacea, Decapoda, Parastacidae)] aborda a descrição de duas novas espécies para o gênero *Parastacus*, incluindo novos caracteres morfológicos e morfométricos nas descrições, além de uma descrição do habitat, análise de distribuição e avaliação do estado de conservação.

O capítulo II - **A new species of *Parastacus* Huxley, 1879 (Crustacea, Decapoda, Parastacidae) from a swamp forest in southern Brazil** [Uma nova espécie de *Parastacus* Huxley, 1879 (Crustacea, Decapoda, Parastacidae) de uma mata paludosa no sul do Brasil] é referente à descrição de uma nova espécie para o gênero *Parastacus*, incluindo uma análise molecular com um gene mitocondrial, além de uma descrição do habitat, análise de distribuição e avaliação do estado de conservação.

No capítulo III - **A molecular phylogenetic investigation of South American freshwater crayfish (Crustacea: Decapoda: Parastacidae) with emphasis on**

***Parastacus* [Uma investigação filogenética molecular dos lagotins de água doce da América do Sul (Crustacea: Decapoda: Parastacidae) com ênfase em *Parastacus*],** são investigadas a monofilia e as relações filogenéticas do gênero *Parastacus* e dos dois outros gêneros sulamericanos (*Samastacus* e *Virilastacus*). Além disso, novas espécies são identificadas sob o ponto de vista molecular e um novo gênero também é proposto.

Por fim, no capítulo IV - **Taxonomic review of the genus *Parastacus* Huxley, 1879 (Crustacea: Decapoda: Astacidea: Parastacidae)** [Revisão Taxonômica do gênero *Parastacus* Huxley, 1879 (Crustacea: Decapoda: Astacidea: Parastacidae)], a taxonomia das espécies já descrita para o gênero *Parastacus* é revisada, sendo todas as espécies redescritas. Além disso, um gênero novo é proposto e dez novas espécies são descritas. Mapas de distribuição são atualizados e uma nova chave de identificação é proposta para os lagostins sulamericanos.

Resumo

Os lagostins de água doce sulamericanos (Família Parastacidae) são representados por três gêneros: *Parastacus* Huxley, 1879, *Samastacus* Riek, 1971 and *Virilastacus* Hobbs, 1991. Esse grupo é distribuído no Sul do Brasil (Rio Grande do Sul and Santa Catarina), Uruguai, Argentina e Chile. Os objetivos dessa tese foram revisar a taxonomia do gênero *Parastacus* e investigar a sua monofilia e relações filogenéticas entre suas espécies e entre os outros gêneros sulamericanos. Para esse propósito, várias coleções e museus ao redor do mundo foram analisados (Brasil, Argentina, Uruguai, Chile, Estados Unidos, Alemanha, Holanda, Inglaterra e França) em adição a coletas realizadas entre Março de 2013 a Setembro de 2016. Os espécimes foram analisados em estereomicroscópio e os desenhos foram preparados com auxílio de *camara lucida*. Para as análises genéticas, uma abordagem multigênica foi utilizada com dois marcadores mitocondriais (Cox1 e 16S) e um nuclear (28S). A análise filogenética foi realizada por Inferência Bayesiana e a distância genética p também foi calculada. Adicionalmente, o risco de extinção foi avaliado para algumas espécies de acordo com o sub-critério B1 da IUCN que leva em consideração a estimativa da Área de Extenção de Ocorrência. Oito espécies foram redescritas: *Parastacus brasiliensis* (von Martens, 1869), *P. defossus* Faxon, 1898, *P. laevigatus* Buckup & Rossi, 1980, *P. pilimanus* (Von Martens, 1869), *P. pugnax* (Poepigg, 1835), *P. promatensis* Fontoura & Conter, 2008 e *P. varicosus* Faxon, 1898. Um novo gênero foi proposto para alojar a espécie *P. nicoleti* (Philippi, 1882) que também foi redescrita. Treze novas espécies foram descritas. Assim como, chaves de identificação, descrições, diagnoses, sinonímias e mapas de distribuição foram providos. As árvores filogenéticas resultantes corroboraram com a monofilia de *Parastacus* e do clado sulamericano, além de dar suporte para o estabelecimento de um novo gênero e novas espécies. Com essa tese, o aumento da riqueza específica para *Parastacus* é de mais de 150% e as novas informações sobre habitat e distribuição trarão suporte para futuros estudos de conservação e manejo.

Palavras-chave: lagostins escavadores, Parastacídeos, Taxonomia, Filogenia Molecular

Abstract

South American freshwater crayfish (Family Parastacidae) are represented by three genera: *Parastacus* Huxley, 1879, *Samastacus* Riek, 1971 and *Virilastacus* Hobbs, 1991. This group is distributed in Southern Brazil (Rio Grande do Sul and Santa Catarina), Uruguay, Argentina and Chile. The goals of this thesis is to review the taxonomy of the genus *Parastacus* and to investigate the monophyly and phylogenetic relationships within *Parastacus* and among South American crayfish genera. For this purpose, several collections and museums around the world were analyzed (Brazil, Argentina, Uruguay, Chile, United States of America, Germany, Netherlands, England, and France) in addition to collectings carried out from March 2013 to September 2016. Specimens were analyzed under a stereomicroscope and drawings were prepared with the aid of a *camara lucida*. For genetic analysis, a multigenic approach was used with two mitochondrial (Cox1 and 16S) and one nuclear (28S) markers. Phylogenetic analysis were performed with Bayesian Inference and genetic *p*-distances were also calculated. In addition, the extinction risk was assessed according to the sub-criterion B1 of IUCN that estimates the Extent of Occurrence (EOO) for some species. Eight species are redescribed: *Parastacus brasiliensis* (von Martens, 1869), *P. defossus* Faxon, 1898, *P. laevigatus* Buckup & Rossi, 1980, *P. pilimanus* (Von Martens, 1869), *P. pugnax* (Poepigg, 1835), *P. promatensis* Fontoura & Conter, 2008 and *P. varicosus* Faxon, 1898. A new genus is proposed to encompass the species *P. nicoleti* (Philippi, 1882) and this species is also redescribed. In addition, 13 new species are described. Identification keys, descriptions, diagnoses, synonymies and distribution maps of the genera and species are provided. Phylogenetic trees corroborated the monophyly of *Parastacus* and the South American crayfish clade, and give support for the establishment of a new genus and new species. With this thesis, the increase in specific richness for *Parastacus* is more than 150% and new information about habitat and distribution will bring support for future conservation and management studies.

Palavras-chave: burrowing crayfish, Parastacids, Taxonomy, Molecular Phylogeny

Introdução geral

Classificação e diversidade

Os lagostins de água doce (“Astacida”) são um grupo diverso de crustáceos decápodos (~640 espécies), pertencentes à infraordem Astacidea Latreille, 1802, constituindo um grande clado monofilético (SCHOLTZ & RICHTER, 1995; RODE & BABCOCK, 2003; BRACKEN et al., 2009). Atualmente, os lagostins são divididos em duas superfamílias. A superfamília Astacoidea Latreille, 1802, distribuída no hemisfério norte, é constituída pelas famílias Cambaridae Hobbs, 1842 e Astacidae Latreille, 1802. A superfamília Parastacoidea Huxley, 1879 é distribuída no hemisfério sul, sendo constituída apenas pela família Parastacidae Huxley, 1879 (HOLDICH, 2002; SINCLAIR et al., 2004; CRANDALL & BUHAY, 2008; BRACKEN et al., 2009) (Figura 1). A família Parastacidae inclui 15 gêneros (~170 espécies), das quais 11 são encontradas na Austrália, Nova Guiné e Nova Zelândia, três na América do Sul e um em Madagascar (CRANDALL & BUHAY, 2008; TOON et al., 2010; RIBEIRO et al., 2016; 2017).

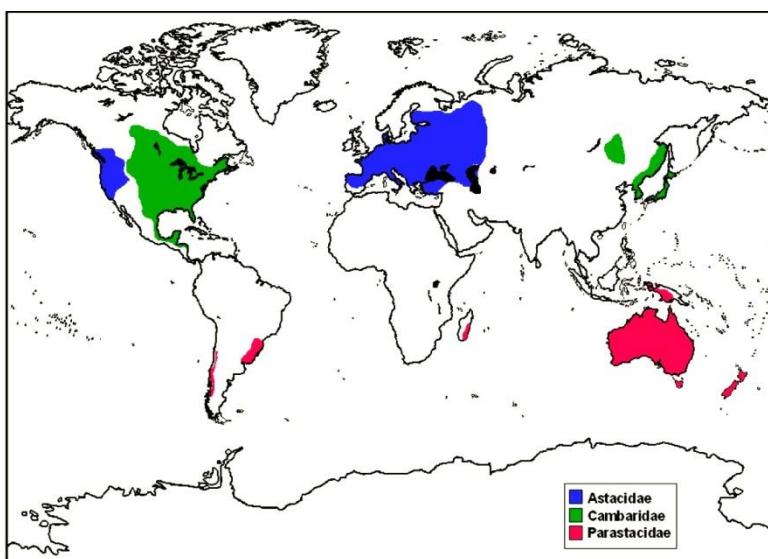


Figura 1. Distribuição mundial das famílias de lagostins de água doce. Modificado de HOBBS (1988).

As espécies nativas da América do Sul pertencem a três gêneros: *Parastacus* Huxley, 1879 (12 espécies); *Samastacus* Riek, 1971 (uma espécie); e *Virilastacus* Hobbs, 1991 (quatro espécies) (BUCKUP & ROSSI, 1980; 1993; RUDOLPH & CRANDALL, 2005; 2007; 2012; RIBEIRO *et al.*, 2016; 2017). Essas espécies são distribuídas no sul do Brasil, Uruguai, centro-sul do Chile e sul e nordeste da Argentina formam um grupo monofilético estabelecido a ~85 milhões de anos (CRANDALL et al., 2000b; TOON *et al.*, 2010) (Figura 2). Fósseis oriundos da Patagônia central foram identificados como astacídeos que ocorreram do Jurássico Superior ao Cretáceo Superior, sugerindo que durante este período as espécies se distribuíram ao longo do sul da América do Sul (TOON *et al.*, 2010). Supostamente, este padrão de distribuição tem sido modelado por transgressões que ocorreram do período Cretáceo até a metade do período Paleógeno (COLLINS *et al.*, 2011).

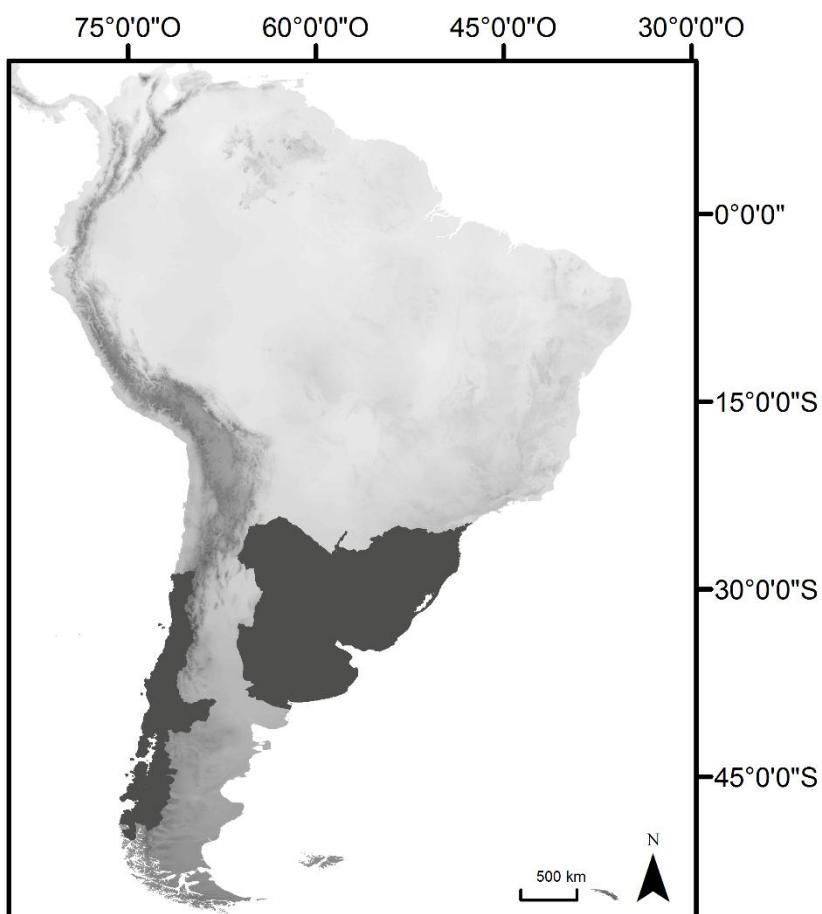


Figura 2. Distribuição geográfica dos gêneros de lagostins sulamericanos representada pela área em negrito.

Taxonomia molecular e diversidade críptica

A conservação dos ecossistemas aquáticos depende primariamente do reconhecimento da biodiversidade. A taxonomia molecular surgiu nas últimas décadas como uma ferramenta importante para aumentar a rapidez da descrição das espécies. Os métodos empregados permitem identificar espécies crípticas que podem não ser totalmente evidentes com a utilização apenas de caracteres morfológicos (HEBERT *et al.*, 2003; BICKFORD *et al.*, 2007; BURNHAM & DAWKINS, 2013).

As espécies crípticas ou complexo de espécies são definidas quando duas ou mais espécies distintas são classificadas como uma única espécie nominal devido ao fato de serem superficialmente morfologicamente pouco distinguíveis (BICKFORD *et al.*, 2007). A descoberta de espécies crípticas é provável que não seja aleatória em relação a taxon e bioma e, portanto, poderia ter profundas implicações para a evolução, biogeografia e planejamento de conservação (BICKFORD *et al.*, 2007). A presença de espécies crípticas já foi documentada em diversos gêneros de lagostins de água doce (MATHEWS *et al.*, 2008; SINCLAIR *et al.*, 2011; HELMS *et al.*, 2015; LARSON *et al.*, 2016). Para a parastacídeos da América do sul, o uso de ferramentas moleculares na descrição de espécies vem sendo adotado frequentemente nos últimos anos (RUDOLPH & CRANDALL, 2005; 2007; 2012; RIBEIRO *et al.* 2017) e a presença de espécies crípticas já vem sendo identificada (I. Miranda *comunicação pessoal*).

Filogenia

Os primeiros estudos que abordaram a história evolutiva dos lagostins de água doce foram desenvolvidos por Huxley (1880) que, através de morfologia comparativa, estabeleceu uma classificação dos gêneros em categorias supragenéricas baseadas na estrutura das brânquias e na ornamentação da carapaça.

Posteriormente ao trabalho de Huxley, os estudos evolutivos dos lagostins receberam pouca atenção até o século posterior com os trabalhos de HOBBS (1942; 1974; 1988) e RIEK (1969, 1971, 1972). Esses trabalhos foram baseados em inferências das relações taxonômicas e a morfologia. Hobbs deteve-se aos lagostins do hemisfério Norte (Cambaridae e Astacidae), enquanto Riek ao hemisfério Sul (Parastacidae).

HOBBS (1988) classificou os lagostins com base principalmente na morfologia dos apêndices e no arranjo branquial. Outros caracteres externos como o formato do rostro e a morfologia dos quelípodos também foram considerados, mas com um menor

valor taxonômico. RIEK (1972), com base em apenas 13 caracteres morfológicos, entre eles os atributos referentes aos níveis de desenvolvimento dos sulcos céfalotoráxicos, à orientação da movimentação dos díctilos do 1º par de pereiópodos (quelípodos) e as modificações sexuais secundários dos machos, inferiu as relações filogenéticas entre os gêneros da família Parastacidae.

Outras análises filogenéticas morfológicas mais recentes realizadas por ALBRECHT (1982), SCHOLTZ (1995, 1998, 1999, 2002) e SCHOLTZ & RICHTER (1995) foram baseadas em caracteres embrionários, de juvenis e de adultos para tentar estabelecer as afinidades filogenéticas dos lagostins com outros táxons e estabelecer a possível monofilia do grupo. A análise cladística de SCHOLTZ & RICHTER (1995) da ordem Decapoda proveu um suporte para a separação das lagostas queladas da superfamília Nephropoidea (“Homarida”) dos lagostins de água doce (Astacoidea e Parastacoidea/ “Astacida”) e determinou que os lagostins formariam um clado junto com as infraordens Brachyura, Anomura e Thalassinida ou que seriam um ramo que emergiria dos Thalassinida.

Outros trabalhos adicionais e relevantes para a compreensão da filogenia dos lagostins inclui estudos de teloblastos (SCHOLTZ, 1993) e ultra-estrutura do esperma (JAMIESON, 1991); e RNAr 18S (KIM & ABELE, 1990) forneceram evidências para a origem monofilética dos lagostins de água doce. Os estudos com marcadores moleculares se tornaram comuns a partir das décadas de 1980 e 1990 e então muitos estudos com vários marcadores foram publicados, abordando variações cromossômicas, de alozimas e de nucleotídeos (ALBRECHT & VON HAGEN, 1981; PATAK *et al.*, 1989; AUSTIN, 1995a,b; CRANDALL & FITZPATRICK, 1996; CRANDALL & CRONIN, 1997; LAWLER & CRANDALL, 1998; CRANDALL *et al.*, 2000a; CRANDALL *et al.*, 2000b; FETZNER & CRANDALL, 2002).

Dentro da família Parastacidae, uma série de filogenias baseadas em evidências a partir de métodos moleculares têm sido formuladas. PATAK & BALDWIN (1984) e PATAK *et al.* (1989) estudaram marcadores eletroforéticos e imunoquímicos entre gêneros dessa família. AUSTIN (1995a, b), usou alozimas para reconstruir a filogenia de vários parastacídeos. Além disso, uma série de estudos (LAWLER & CRANDALL, 1998; PONNIAH & HUGHES, 1998; CRANDALL *et al.*, 1999; CRANDALL *et al.*, 2000b) utilizaram DNA mitocondrial 16S para reconstruir a filogenia dos parastacídeos. CRANDALL *et al.* (2000a) ratifica a monofilia da família Parastacidae e também

mostra que os gêneros sulamericanos formam um grupo monofilético, estreitamente relacionado com os gêneros *Paranephrops* White, 1842 e *Parastacoides* Clark, 1936 na Austrália. De acordo com TOON *et al.*, (2010), a família Parastacidae se originou no início do Jurássico (183 Ma) e o clado sulamericano divergiu dos outros parastacídeos em torno 158 milhões de anos atrás, constituindo um grupo irmão para todos os outros lagostins do hemisfério sul.

A monofilia dos lagostins de água doce foi também avaliada por RODE & BABCOCK (2003), baseando-se em caracteres morfológicos externos da carapaça e dos apêndices. Em sua análise, foram incluídos grupos fósseis e a família de lagostas marinhas Nephropidae. As sinapomorfias de Astacida foram definidas como os padrões distintos de sulcos na região dorsal do céfalo-úbere e a mobilidade do último segmento torácico. Em relação à família Parastacidae, esta foi considerada monofilética, com exceção do gênero *Gramastacus* Riek, 1972 e suas sinapomorfias compreendem a ausência total do primeiro par de pleópodos e pelo padrão diferencial de calcificação da porção distal do télson.

No entanto, não existem estudos mais aprofundados tanto do ponto de vista morfológico quanto molecular para lagostins sulamericanos, sendo necessário ainda estabelecer as relações filogenéticas entre as espécies do gênero *Parastacus* e deste gênero com os demais da família.

Habitat e hábitos escavadores

Uma característica conspícua na evolução dos lagostins de água doce é sua diversidade ecológica, sendo diretamente relacionada à irradiação nos ambientes dulcícolas. As espécies desenvolveram diferentes hábitos de vida, em grande parte subterrâneo de acordo com o habitat ocupado (HORWITZ & RICHARDSON, 1986).

As espécies do gênero *Parastacus* foram classificadas por RIEK (1972) na categoria ecológica de hábitos escavadores pronunciados, juntamente com os gêneros australianos *Engaeus* Erichson, 1846, *Engaewa* Riek, 1967 e *Tenuibranchiurus* Riek, 1951. Essa classificação foi baseada em caracteres morfológicos como os dáctilos dos quelípodos com movimentação vertical, tamanho corporal pequeno ou moderado, abdômen reduzido em largura e comprimento e sulco cervical em formato de V. Essas espécies podem ser encontradas em riachos, banhados, planícies de inundação, matas paludosas com solo permanentemente ou temporariamente inundado com grande

quantidade de matéria orgânica (BUCKUP & ROSSI, 1980; RIBEIRO *et al.*, 2016; 2017). Mesmo que todas as espécies do gênero *Parastacus* tenham o potencial de desenvolver seus hábitos escavadores, elas podem ser classificadas de acordo com a maior ou menor extensão desses hábitos que estão diretamente relacionados com o habitat e refletidos na morfologia corporal (BUCKUP & ROSSI, 1980). No gênero *Parastacus*, as espécies podem construir sistemas complexos de galerias (~1m de profundidade) em áreas alagadas (p. ex., *P. defossus*) ou matas paludosas (p. ex. *P. caeruleodactylus*); outras constroem galerias similares ao longo de corpos d'água (p. ex. *P. brasiliensis* e *P. fluviatilis*) (BUCKUP & ROSSI, 1980; FONTOURA & BUCKUP, 1989; BUCKUP, 1999; NORO & BUCKUP, 2010; RIBEIRO *et al.*, 2016). Além disso, são espécies de hábitos notívagos, podendo sair de suas habitações em busca de alimento no interior da água ou ambientes próximos, alimentando-se de matéria orgânica de origem animal e vegetal (FRIES, 1980). Mas mesmo assim, essas espécies são caracterizadas por uma baixa capacidade de dispersão (DALOSTO, 2012).

Existem duas principais classificações propostas para o nível escavador dos lagostins de água doce. A classificação de HOBBS (1942) leva em consideração a complexidade das tocas, a conexão com corpos d'água, estratégia reprodutiva e tempo que o lagostim permanece no nível subterrâneo. Dessa forma, os lagostins foram classificados em três níveis: (1) escavadores primários: passam a maior parte de sua vida no interior das tocas, as quais são profundas e complexas, podendo apresentar vários túneis; (2) escavadores secundários: passam a maior parte de sua vida no interior das tocas, as quais podem ser profundas e complexas; os adultos podendo permanecer na superfície durante as estações chuvosas; (3) escavadores terciários vivem nos corpos d'água durante a maior parte da sua vida, usando as tocas apenas como abrigo em épocas reprodutivas, proteção contra predadores e dissecação, construindo túneis simples. Já a classificação de HORWITZ & RICHARDSON (1986), leva em consideração a relação entre as tocas e a conexão com os corpos d'água e lençol freático (Figura 3). As tocas do **Tipo 1 (a e b)** ocorrem diretamente no interior dos corpos d'água ou estão diretamente conectados aos mesmos; as tocas do **Tipo 2** são conectados ao lençol freático; e as tocas do **Tipo 3** são independentes do lençol freático (Figura 3).

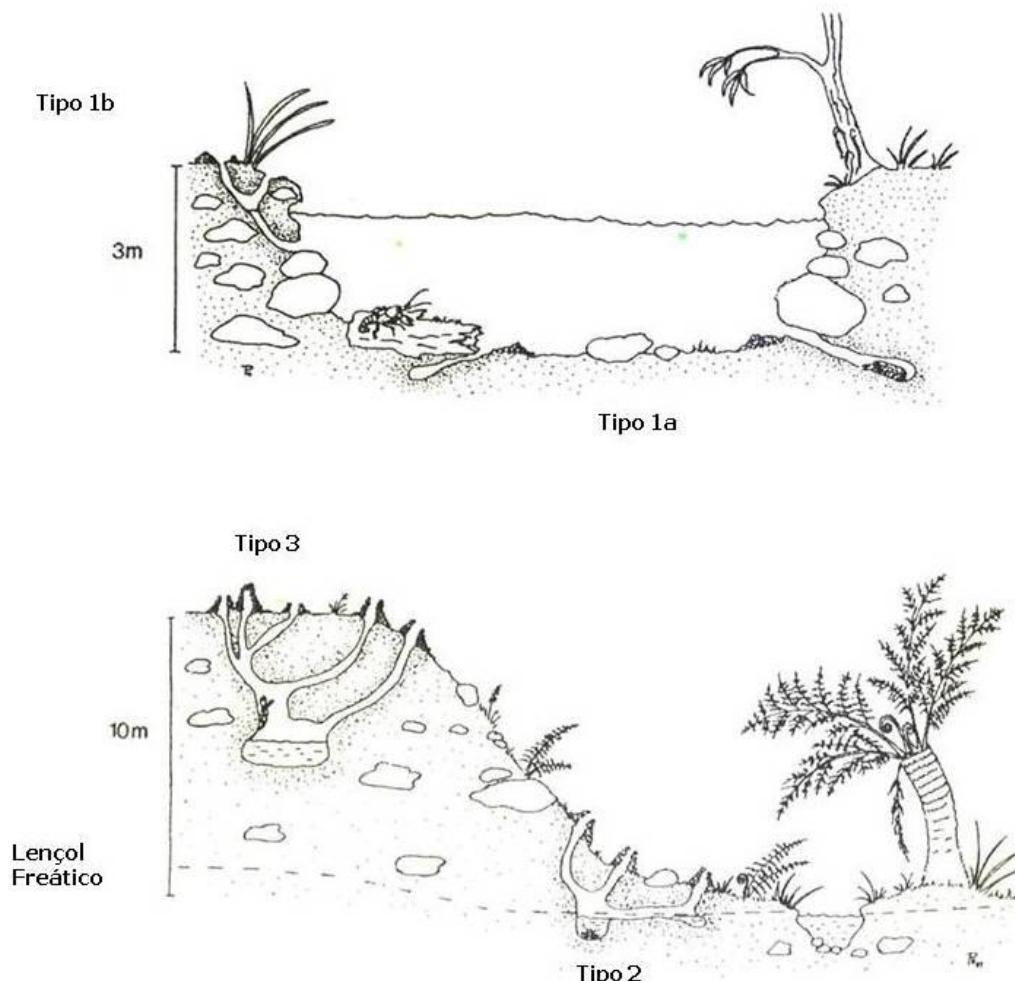


Figura 3. Classificação dos lagostins escavadores de acordo com HORWITZ & RICHARDSON (1988). Modificado de RICHARDSON (2007).

Biologia reprodutiva

As características reprodutivas do gênero *Parastacus* ainda são pobemente conhecidas e constituem um dos pontos mais controversos na biologia das espécies (RUDOLPH & ALMEIDA, 2000). Todas as espécies deste gênero apresentam a intersexualidade, ou seja, a presença de características sexuais primárias e/ou secundárias no mesmo indivíduo (SAGI *et al.*, 1996). Esse fenômeno também pode ser encontrado em outros parastacídeos, como os gêneros australianos *Cherax* Erichson, 1846, *Engaeus* Erichson, *Engaewa* (HORWITZ, 1988; VASQUÉZ & LÓPEZ-GRECO, 2007) e os sulamericanos *Samastacus* e *Virilastacus* Hobbs, 1991 (RUDOLPH, 1999; RUDOLPH & ALMEIDA, 2000, RETAMAL AND RUDOLPH, 2005). No gênero *Parastacus*, a intersexualidade é caracterizada pela presença de gonóporos supernumerários e dutos genitais no mesmo indivíduo (RUDOLPH & ALMEIDA,

2000). Tal fato é conhecido desde a metade do século XIX (VON MARTENS, 1869; FAXON, 1898) e pode estar relacionado com um hermafroditismo rudimentar (LÖNNBERG, 1898).

O sistema sexual dos lagostins sulamericanos pode ser classificado como de três tipos: (1) gonocorismo, encontrado nas espécies dos gêneros *Samastacus* e *Virilastacus*; (2) intersexualidade permanente, encontrada em *P. pugnax*, *P. varicosus*, *P. saffordi*, *P. pilimanus*; (3) hermafroditismo protândrico parcial, encontrado em *P. nicoleti* e *P. brasiliensis* (RUDOLPH & ALMEIDA, 2000). Esse tipo de hermafroditismo é caracterizado pela presença mútua das gônadas masculina e feminina em um mesmo indivíduo, mas em diferentes estágios da vida, sendo o masculino o primeiro sexo (RUDOLPH, 1997; RUDOLPH & ALMEIDA, 2000; RUDOLPH *et al.*, 2001; RUDOLPH & VERDI, 2010).

Conservação

Os lagostins de água doce constituem um grupo de crustáceos sujeito a ameaças de extinção. A categorização das espécies segundo seu risco de extinção é definida de acordo com os critérios da União Internacional para a Conservação da Natureza - IUCN (IUCN 2012). Essa classificação leva em consideração vários aspectos de uma espécie, como o tamanho populacional, a distribuição, fragmentação do habitat, entre outros. Segundo RICHMAN *et al.*, (2015), cerca de 32% de todas as espécies de lagostim estão sob algum nível de risco de extinção. As principais ameaças à conservação dos lagostins de água doce incluem a urbanização, poluição, mudanças climáticas, canalização de rios, agricultura e a presença de espécies invasoras (RICHMAN *et al.*, 2015). Na América do Sul, as espécies de lagostins estão ameaçadas por causas similares, sendo sujeitas principalmente aos impactos diretos da urbanização e de atividades de pesca, como no caso da espécie *P. pugnax*, na qual as populações vêm sofrendo uma redução acentuada devido ao regime de sobrepesca (RUDOLPH, 2010; ALMEIRÃO *et al.*, 2015). Além disso, a presença da espécie exótica invasora *Procambarus clarkii* Girard, 1852 foi detectada no estado de São Paulo (LOUREIRO *et al.*, 2015a,b). Tal fato se torna bastante preocupante, uma vez que foi detectada a presença do fungo de carapaça *Aphanomyces astaci* Schikora, 1906 nas populações brasileiras de *Procambarus* (PEIRÓ *et al.*, 2016). Esse fungo causa uma doença conhecida como “praga do lagostim” que pode dizimar populações inteiras de espécies nativas de lagostins

(GUTIÉRREZ-YURRITA *et al.*, 1999; SOUTY-GROSSET *et al.*, 2006). Felizmente, indivíduos de *P. clarkii* ainda não foram detectados em ambientes naturais no sul do Brasil, onde as espécies nativas de lagostins ocorrem.

REFERÊNCIAS

- Austin, C.M. 1995a. Evolution in the genus *Cherax* (Decapoda: Parastacidae) in Australia: a numerical cladistic analysis of allozyme and morphological data.- *Freshwater Crayfish*, 8: 1–12.
- Austin, C.M. 1995b. The phylogenetic position of the genus *Cherax*. *Freshwater Crayfish*, 8: 12–31.
- Albrecht, H. 1982. Das System der europäischen FluBkrebse (Decapoda, Astacidae): Vorschlag und Begriindung. *Mitteilungen des hamburgischen zoologischen Museums und Instituts*, 79: 187–210.
- Albrecht, H.; von Hagen, H.O. 1981. Differential weighting of electrophoretic data in crayfish and fiddler crabs (Decapoda: Astacidae and Ocypodidae). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 70B: 393–399.
- Almerão, M.P.; Rudolph, E.; Souty-Grosset, C.; Crandall, K.; Buckup, L.; Amouret, J.; Verdi, A.; Santos, S.; Araujo, P.B. The native South American crayfishes (Crustacea, Parastacidae): state of knowledge and conservation status. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*. 25(2): 288–301.
- Bickford, D.; Lohman, D.J.; Sodhi, N.S.; Ng, P.K.L.; Meier, R.; Winker, K.; Ingram, K.K.; Das, I. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology & Evolution*. 22(3): 148–155
- Burnham, Q.; Dawkins, K.L. 2013. The role of molecular taxonomy in uncovering variation within crayfish and the implications for conservation. *Freshwater crayfish*. 19(1): 29–37.
- Buckup, L. 1999. PARASTACIDAE. In: Ludwig Buckup; Georgina Bond-Buckup. (Org.). Os Crustáceos do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, v. único, 319-327.

Buckup, L.; Rossi, A. 1980. O Gênero *Parastacus* no Brasil (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 40: 663-681.

Buckup, L.; Rossi, A. 1993. Os Parastacidae do espaço meridional andino (Crustacea, Astacidea). *Revista Brasileira de Biologia*, 53 (2): 167–176.

Collins, P.A.; Giri, F.; Williner, V. 2011. Biogeography of the freshwater decapods in the La Plata Basin, South America. *Journal of Crustacean Biology*, 31(1): 179–191.

Crandall, K.A. & Buhay, J.E. (2008) Global diversity of crayfish (Astacidae, Cambaridae, and Parastacidae-Decapoda) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595: 295–301.

Crandall, K.A.; Cronin, T.W. 1997. The molecular evolution of wavelength regulation in freshwater crayfishes (Decapoda: Cambaridae). *Journal of Molecular Evolution*, 45: 524–534.

Crandall, K.A.; Fetzner Jr, J.W.; Lawler, S.H.; Kinnersley, M.; Austin, C.M. 1999. Phylogenetic relationships among the Australian and New Zealand genera of freshwater crayfishes (Decapoda: Parastacidae). *Australian Journal of Zoology* 47: 199–214.

Crandall, K.A.; Harris, D.J.; Fetzner, J.W., Jr. 2000a. The monophyletic origin of freshwater crayfish estimated from nuclear and mitochondrial DNA sequences. *Proceedings of the Royal Society of London: Biological Sciences*, 267(1453): 1679–1686.

Crandall, K.A.; Fetzner Jr, J.W. Jara, C.G.; Buckup, L. 2000b. On the phylogenetic positioning of the south American freshwater crayfish genera (Decapoda: Parastacidae). *Journal of Crustacean Biology*. 20(3): 530–540.

Crandall, K.A.; Fitzpatrick, J.A., Jr. 1996. Crayfish molecular systematics: using a combination of procedure to estimate phylogeny. *Systematic Biology*, 45: 1–26.

Dalosto, M, 2012. Comportamento agonístico, deslocamento e padrões de atividade de lagostins neotropicais (Decapoda: Parastacidae). Dissertação de Mestrado, Programa de Pós Graduação em Biodiversidade Animal, Universidade Federal de Santa Maria.

- Faxon, W. 1898. Observations on the Astacidae in the United States National Museum and in the Museum of Comparative Zoology, with descriptions of new species. *Proc. U.S. Nat. Mus.*, 20: 642–694.
- Fetzner, J.W., Jr.; Crandall. 2002. Genetic variation. Pp. 291-326 in D. M. Holdich, ed. Biology of Freshwater Crayfish. Blackwell Science, Oxford.
- Fontoura, N. F.; Buckup, L. 1989. Dinâmica Populacional e Reprodução em *Parastacus brasiliensis* (Von Martens, 1869) (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 49: 911–921.
- Fries, B.G. 1984. Observações sobre o "lagostim de água doce" *Parastacus brasiliensis* (von Martens, 1869) em condições de cultivo experimental em laboratório (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). *Rev. Brasil. Biol.* 44 (4): 409–416.
- Gutiérrez-Yurrita, P.J.; Martínez, J.M.; Bravo-Utrera, M.Á.; Montes, C.; Ilhéu, M.; Bernardo, J.M. 1999. The status of crayfish populations in Spain and Portugal. p. 161–192. In: Gherardi, F. & Holdich, D.M. (eds), *Crayfish in Europe as Alien Species: How to Make the Best of a Bad Situation?* Rotterdam, A.A. Balkema.
- Helms, B.; Vaught, R.C.; Suciù, S.; Santos, S.R. 2015. Cryptic diversity within two endemic crayfish species of the Southeastern US revealed by molecular genetics and geometric morphometrics. *Hidrobiologia*. 755(1): 283–298.
- Hobbs, H. H., Jr. 1942. The crayfishes of Florida. *University of Florida Publications, Biological Sciences Series*. 179 pp.
- Hobbs, H.H., Jr, 1974. Synopsis of the families and genera of crayfishes (Crustacea: Decapoda). *Smithsonian Contributions to Zoology* 164: 1–32.
- Hobbs, H.H., Jr. 1988. Crayfish distribution, adaptive radiation, and evolution. Pp. 52–82 in D. M. Holdich and R. S. Lowery, eds. Freshwater Crayfish: Biology, Management and Exploitation. Croom Helm, London.
- Holdich, D.M. 2002. Biology of freshwater crayfish. Blackwell Science Ltd. Osney Mead, Oxford. 702 pp.
- Horwitz, P. 1988. Secondary sexual characteristics of females of the freshwater crayfish genus *Engaeus* (Decapoda, Parastacidae). *Crustaceana*. 54 (I): 25–32.
- IUCN - International Union for Conservation of Nature. 2012. IUCN Red List Categories and Criteria: Version 3.1, Second edition. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, 32 pp.

- Jamieson, B.G.M. 1991. Ultrastructure and phylogeny of crustacean spermatozoa. *Memoirs of the Queensland Museum*, 31: 109–142.
- Kim, W.; Abele, L.G. 1990. Molecular phylogeny of selected decapod crustaceans based on 18s rRNA nucleotide sequences. *Journal of Crustacean Biology*, 10: 1-13.
- Larson, E.R.; Castelin, M.; Williams, B.W.; Olden, J.D.; Abbott, C.L. 2016. Phylogenetic species delimitation of the genus *Pacifastacus*. *PeerJ*. 4:E1915.
- Lawler, S.H.; Crandall, K.A. 1998. The relationship of the Australian freshwater crayfish genera *Euastacus* and *Astacopsis*. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*, 119: 1–8.
- Lönnberg, F. 1898. Some biological and anatomical facts concerning *Parastacus*. *Zool. Anz.*, 21: 334-352.
- Loureiro, T.G.; Anastácio, P.M.; Bueno, S.L.S.; Araujo, P.B.; Souty-Grosset, C.; Almerão, M.P. 2015a. Distribution, introduction pathway, and invasion risk analysis of the north american crayfish *Procambarus clarkii* (Decapoda: Cambaridae) in southeast Brazil. *Journal of Crustacean Biology*, 35 (1): 88–96.
- Loureiro, T.G.; Anastácio, P.M.; Bueno, S.L.S.; Araujo, P.B.; Souty-Grosset, C.; Almerão, M.P. 2015b. Red swamp crayfish: biology, ecology and invasion – an overview. *Nauplius*, 23 (1): 1–19.
- Mathews L.M.; Adams, L.; Anderson, E.; Basile, M.; Gottardi, E.; Bucholt, M.A. 2008. Genetic and morphological evidence for substantial hidden biodiversity in a freshwater crayfish species complex. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 48(1):126–135.
- Miranda, I.; Gomes, K.M.; Ribeiro, F.B.; Araujo, P.B.; Souty-Grosset, C.; Schubart, C.D. 2016. Taxonomy lags behind: Genetic diversity and significant evolutionary lineages in the endemic crayfish species *Parastacus brasiliensis* (von Martens, 1869) (Crustacea, Decapoda, Parastacidae) and implications for conservation. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* (submetido).
- Noro, C.K.; Buckup, L. 2010. The burrows of *Parastacus defossus* (Decapoda: Parastacidae). *Revista Brasileira de Zoologia (Online)*. 27: 341–346.
- Patak, A.; Baldwin, J.; Lake, P.S. 1989. Immunochemical comparisons of haemocyanins of freshwater Australian crayfish: phylogenetic implications.- *Biological Systematics and Ecology*, 17: 249–252.

- Peiró, D.F.; Almerão, M.P.; Delaunay, C.; Jussila, J.; Makkonen, J.; Bouchon, D.; Araujo, P.B.; Souty-Grosset, C. 2016. First detection of the crayfish plague pathogen *Aphanomyces astaci* in South America: a high potential risk to native crayfish. *Hydrobiologia*, 781: 181–190.
- Ponniah, M., and J. M. Hughes. 1998. Evolution of the Queensland spiny mountain crayfish of the genus *Euastacus* Clark (Decapoda: Parastacidae): preliminar 16s mtDNA phylogeny. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales* 119: 9–19.
- Retamal, F.A.; Rudolph E.H. 2005. Ocurrencia de hermafroditismo protándrico en una población del género *Virilastacus* Hobbs, 1991 (Crustacea: Decapoda: Parastacidae). Proceedings of XI Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar, Viña del Mar, Chile.
- Ribeiro, F.B.; Buckup, L.; Gomes, K.M. & Araujo, P.B. 2016. Two new species of South American freshwater crayfish genus *Parastacus* Huxley, 1879 (Crustacea: Decapoda: Parastacidae). *Zootaxa*, 4158(3): 301–324.
- Ribeiro, F.B.; Huber, A.F.; Schubart, C.D. & Araujo, P.B. 2017. A new species of *Parastacus* Huxley, 1879 (Crustacea, Decapoda, Parastacidae) from a swamp forest in southern Brazil. *Nauplius*, 25: e2017008.
- Richardson, A.M.M. 2007. Behavioral Ecology of Semiterrestrial Crayfish. In: Evolutionary ecology of social and sexual systems: crustaceans as model organisms. Oxford University Press, New York, pp. 320–338.
- Richman, N.I.; Böhm, M.; Adams, S.B.; Alvarez, F.; Bergey, E.A.; Bunn, J.J.S.; Burnham, Q.; Cordeiro, J.; Coughran, J.; Crandall, K.A.; Dawkins, K.L.; DiStefano, R.J.; Doran, N.E.; Edsman, L.; Eversole, A.G.; Füreder, L.; Furse, J.M.; Gherardi, F.; Hamr, P.; Holdich, D.M.; Horwitz, P.; Johnston, K.; Jones, C.M.; Jones, J.P.G.; Jones, R.L.; Jones, T.G.; Kawai, T.; Lawler, S.; López-Mejía, M.; Miller, R.M.; Pedraza-Lara, C.; Reynolds, J.D.; Richardson, A.M.M.; Schultz, M.B.; Schuster, G.A.; Sibley, P.J.; Souty-Grosset C, Taylor, C.A.; Thoma, R.F.; Walls, J.; Walsh, T.S.; Collen, B. 2015. Multiple drivers of decline in the global status of freshwater crayfish (Decapoda: Astacidea). *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 370(1662): 20140060.

- Riek, E.F. 1969. The Australian freshwater crayfish (Crustacea: Decapoda: Parastacidae), with descriptions of new species. *Australian Journal of Zoology*, 17: 855–918.
- Riek, E.F. 1971. The freshwater Crayfishes of South America. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 84 (16): 129–136.
- Riek, E.F. 1972. The phylogeny of the Parastacidae (Crustacea: Astacoidea) and description of a new genus of Australian freshwater crayfishes. *Aust. J. Zool.*, 20: 369–389.
- Rode, A.L.; Babcock, L.E. 2003. Phylogeny of fossil and extant freshwater crayfish and some closely related nephropid lobsters. *Journal of Crustacean Biology*. 23(2): 418–435.
- Rudolph, E.H. 1997. Intersexualidad en el camarón excavador *Parastacus pugnax* (Poeppig, 1835) (Decapoda, Parastacidae). *Investigaciones Marinas*, Valparaíso, 25: 7–18.
- Rudolph, E.H. 1999. Intersexuality in the freshwater crayfish *Samastacus spinifrons* (Philippi, 1882) (Decapoda, Parastacidae). *Crustaceana*, 72: 325–337.
- Rudolph, E.H. 2010. Sobre la distribución geográfica de las especies chilenas de Parastacidae (Crustacea: Decapoda: Astacidea). *Boletín de Biodiversidad de Chile* 3: 32–46.
- Rudolph, E.; Almeida, A. 2000. On the sexuality of South American Parastacidae (Crustacea: Decapoda). *Invertebrate Reproduction and Development*, 37(3): 249–257.
- Rudolph, E.H.; Crandall, K. 2005. A new species of burrowing crayfish *Virilastacus rucapihuensis* (Crustacea: Decapoda: Parastacidae) from southern Chile. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 118: 765–776.
- Rudolph, E.H.; Crandall, K. 2007. A new species of burrowing crayfish *Virilastacus retamali* (Decapoda: Parastacidae) from the southern Chile peatland. *Journal of Crustacean Biology*, 27 (3): 502–512.

- Rudolph, E.H.; Crandall, K. 2012. A new species of burrowing crayfish, *Virilastacus jarai* (Crustacea, Decapoda, Parastacidae) from central-southern Chile. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 125 (3): 258–275.
- Rudolph, E.H.; Verdi, A.C. 2010. Intersexuality in the burrowing crayfish, *Parastacus pilimanus* (von Martens, 1869) (Decapoda, Parastacidae). *Crustaceana*, 83(1): 73–87.
- Rudolph, E.; Verdi, A.; Tapia, J. 2001. Intersexuality in the burrowing crayfish *Parastacus varicosus* Faxon, 1898 (Decapoda, Parastacidae). *Crustaceana*, 74(1): 27–37.
- Sagi, A.; Khalaila, I.; Barki, A.; Hulata, G.; Karplus, I. 1996. Intersex red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* (von Martens): functional males with previtellogenic ovaries. *Biol. Bull.* 190: 16–23.
- Scholtz, G. 1993. Teloblasts in decapod embryos: an embryonic character reveals the monophyletic origin of the freshwater crayfishes (Crustacea, Decapoda). *Zoologische Anzeiger*, 230: 45-54.
- Scholtz, G. 1995. Ursprung und Evolution der FluBkrebse (Crustacea: Astacida). *Sitzungsberichte der Gesellschaft Naturforschender Freunde zu Berlin, neue Folge*, 34: 93-115.
- Scholtz, G. 1998. Von Zellen und Kontinenten die Evolution der FluBkrebse (Decapoda, Astacida). *Stapfia*, 58: 205-212.
- Scholtz, G. 1999. Freshwater crayfish evolution. *Freshwater Crayfish*, 12: 37-48.
- Scholtz, G. 2002. Phylogeny and Evolution. Pp. 30-52 in D. M. Holdich, ed. *Biology of Freshwater Crayfish*. Blackwell Science, Oxford.
- Scholtz, G.; Richter, S. 1995. Phylogenetic systematics of the reptantian Decapoda (Crustacea, Malacostraca). *Zoological Journal of the Linnean Society*. 113: 289–328.
- Sinclair, E.A.; Fetzner, J.W. Jr; Buhay, J.; Crandall, K.A., 2004. Proposal to complete a phylogenetic taxonomy and systematic revision for freshwater crayfish (Astacidea). *Freshwater Crayfish*, 14: 21–29.

- Sinclair, E.A.; Madsen, A.; Walsh, T.; Nelson, J.; Crandall, K.A. 2011. Cryptic genetic divergence in the giant Tasmanian freshwater crayfish *Astacopsis gouldi* (Decapoda: Parastacidae): implications for conservation. *Animal Conservation* 14(1):87–97.
- Souty-Grosset, C.; Holdich, D.M.; Noel, P.Y.; Reynolds, J.D.; Haffner, P. 2006. *Atlas of crayfish in Europe*. Paris, Publications Scientifiques du Muséum national d'Histoire naturelle, Patrimoines Naturels 64, 188p.
- Toon, A.; Pérez-Losada, M.; Schweitzer, C.E.; Feldmann, R. M.; Carlson, M.; Crandall, K.A.; 2010. Gondwanan radiation of the Southern Hemisphere crayfishes (Decapoda: Parastacidae): evidence from fossils and molecules. *Journal of Biogeography*, 37: 2275–2290.
- Vasquéz, F.J.; López-Greco, L.S. 2007. Intersex females in the red claw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). *Rev. Biol. Trop.*: 55 (Supp 1): 25–32
- Von Martens, E. 1969. Sud brasilische Süss und Brackwasser-Crustacean nach den Sammlungen des Dr. Reinh. Hensel. *Arch. Naturg.* 35(1): 1–37.

Objetivos

Objetivo geral

- Revisar a taxonomia de *Parastacus* e investigar a hipótese de monofilia e relações filogenéticas do gênero.

Objetivos específicos

- Estabelecer os limites do gênero *Parastacus*;
- Revisar as espécies existentes e descrever novas espécies;
- Elaborar uma nova chave de identificação para o grupo;
- Através de uma análise filogenética molecular, investigar a monofilia do gênero *Parastacus* e do clado sulamericano (*Parastacus* + *Samastacus* + *Virilastacus*);

CAPÍTULO I

Two new species of South American freshwater crayfish genus *Parastacus* Huxley, 1879 (Crustacea: Decapoda: Parastacidae)

Manuscript published in Zootaxa (2016)

REFERENCE: Ribeiro, F.B.; Buckup, L.; Gomes, K.M. & Araujo, P.B. 2016. Two new species of South American freshwater crayfish genus *Parastacus* Huxley, 1879 (Crustacea: Decapoda: Parastacidae). *Zootaxa*, 4158(3): 301–324.

doi: <http://doi.org/10.11646/zootaxa.4158.3.1>



<http://doi.org/10.11646/zootaxa.4158.3.1>
<http://zoobank.org/urn:lsid:zoobank.org:pub:9B375922-0D2B-4D92-99A1-14CAA259FBAB>

Two new species of South American freshwater crayfish genus *Parastacus* Huxley, 1879 (Crustacea: Decapoda: Parastacidae)

FELIPE BEZERRA RIBEIRO¹, LUDWIG BUCKUP, KELLY MARTINEZ GOMES & PAULA BEATRIZ ARAUJO

Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia (Laboratório de Carcinologia), Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

¹Corresponding author. E-mail: fribreiro.ufc@gmail.com

Abstract

Two new species of *Parastacus* Huxley, 1879 are described from material collected in the state of Rio Grande do Sul, southern Brazil: *Parastacus fluviatilis* sp. nov. from highland streams and *Parastacus caeruleodactylus* sp. nov. from wetlands. *Parastacus fluviatilis* sp. nov. is distinguished mainly by large chelipeds with dense setae cover on the cutting edge of fingers, telson subtriangular with two lateral blunt spines and strongly concave ventral surface of lateral process of thoracic sternites 6 and 7. *Parastacus caeruleodactylus* sp. nov. is distinguished mainly by blue cheliped fingers and a large gap between them, reduced abdomen, dorsal and ventral margins of dactylus, propodus and carpus of second pair of pereiopods with tufts of long setae and mid-dorsal carina of exopod of uropods unarmed. According to IUCN Red List criteria both species are considered endangered. Habitat characterization and a method for defining the shape of second abdominal pleura are also provided.

Key words: burrowing crayfish, freshwater decapods, neotropical crustaceans, parastacid, taxonomy

Introduction

The freshwater crayfishes of the family Parastacidae Huxley, 1879 currently comprise about 178 species in 15 genera (Crandall & Buhay 2008; Toon et al. 2010). In South America, the family is represented by only 13 species, grouped in three genera: *Parastacus* Huxley, 1879, *Samastacus* Riek, 1971 and *Virilastacus* Hobbs, 1991 (Buckup & Rossi 1980; 1993; Riek 1971; Rudolph & Crandall 2012). The genus *Parastacus* has a disjunct distribution, with two species occurring on the plains of the southern Andean region (Philippi 1882; Poepigg 1835; Rudolph 2010), *Parastacus nicoleti* (Philippi, 1882) and *P. pugnax* (Poepigg, 1835); and six species in northeastern Argentina, Uruguay and southern Brazil: *P. brasiliensis* (von Martens, 1869), *P. defossus* Faxon, 1898, *P. laevigatus* Buckup & Rossi, 1980, *P. pilimanus* (von Martens, 1869), *P. saffordi* Faxon, 1898 and *P. varicosus* Faxon, 1898 (Buckup & Rossi 1980). All non-Andean species of *Parastacus*, except for *P. laevigatus*, are recorded in Brazil in the state of Rio Grande do Sul (RS); *P. brasiliensis* is endemic to RS, occurring in the Guaiba hydrographic region (Buckup 2003).

These crayfishes are found in wetlands, lotic and lentic environments, where they burrow to a greater or lesser extent (Buckup & Rossi 1980; 1993). This behavior is associated with the water-table level and with ecological, morphological and reproductive traits, as in other crayfish species (Horwitz & Richardson 1986). According to Riek (1972), species of *Parastacus* are of moderate size and are strong burrowers.

The limited distributions and specific habitat requirements of these crustaceans make them highly vulnerable to human impacts. Moreover, the lack of accurate data concerning the distribution range, population size and reproductive features impedes evaluation of the status of and threats to their populations, specifically the IUCN risk categories (Almerão et al. 2015; Richman et al. 2015). Neotropical crayfishes have been little studied, especially with regard to taxonomy. Compared to the species richness of other crayfish genera, the number of species described from South America is very low, although important taxonomic contributions have been made for the

CAPÍTULO II

A new species of *Parastacus* Huxley, 1879 (Crustacea, Decapoda, Parastacidae) from a swamp forest in southern Brazil

Manuscript published in Nauplius (2017)

REFERENCE: Ribeiro, F.B.; Huber, A.F.; Schubart, C.D. & Araujo, P.B. 2017. A new species of *Parastacus* Huxley, 1879 (Crustacea, Decapoda, Parastacidae) from a swamp forest in southern Brazil. *Nauplius*, 25: e2017008.

This article is part of the tribute offered
by the Brazilian Crustacean Society
in memoriam of Michael Türkay for his
outstanding contribution to Carcinology



ORIGINAL ARTICLE

A new species of *Parastacus* Huxley, 1879 (Crustacea, Decapoda, Parastacidae) from a swamp forest in southern Brazil

Felipe Bezerra Ribeiro¹, Augusto Frederico Huber¹,
Christoph D. Schubart² and Paula Beatriz Araujo¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia
(Laboratório de Carcinologia), Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio
Grande do Sul. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

² Zoology and Evolutionary Biology, Universität Regensburg. Regensburg, Germany

ZOOBANK <http://zoobank.org/urn:lsid:zoobank.org:pub:E302E7F9-0594-40EE-B179-D7F8A68A19A9>

ABSTRACT

In this contribution we describe a new species of burrowing crayfish of the genus *Parastacus* Huxley, 1879 from a swamp forest in southern Brazil and determine its conservation status. The distinction of the new species is based on morphology and the mitochondrial DNA marker 16S rRNA. The extinction risk was assessed according to the sub-criterion B1 of IUCN that estimates the Extent of Occurrence (EOO). *Parastacus tuerkayi* sp. nov. is morphologically distinguishable from all species of *Parastacus* by having three lines of verrucous tubercles on the dorsomesial margin of the cheliped propodus and a suborbital angle exceeding 90°. The EOO comprises 647,674 km², and the species is classified as “endangered”. Phylogenetic relationships indicate the distinct position of this new species in relation to the already described species.

KEY WORDS

16S, mtDNA sequence, burrowing crayfish, Neotropical region, taxonomy.

CORRESPONDING AUTHOR
Felipe Bezerra Ribeiro
fbriveiro.ufc@gmail.com

SUBMITTED 17 October 2016
ACCEPTED 28 November 2016
PUBLISHED 27 Abril 2017

Guest Editor
Célio Magalhães

DOI 10.1590/2358-2936e2017008

INTRODUCTION

The freshwater crayfish of the genus *Parastacus* Huxley, 1879 are currently represented by ten species, distributed in the southern regions of South America, specifically in Chile, Argentina, Uruguay and Brazil (for the latter in the states of Rio Grande do Sul and Santa Catarina) (Buckup and Rossi, 1980; 1993; Ribeiro *et al.*, 2016). According to previous phylogenetic studies, *Parastacus* forms a well supported monophyletic clade and is closely related to *Samastacus* Riek, 1971 and *Viralastacus* Hobbs, 1991 (Crandall *et al.*, 2000; Toon *et al.*, 2010).

Burrowing crayfish differ in both behaviour and type of burrows. Hobbs (1942) classified crayfish burrowing behaviour into three categories, taking into account the complexity of burrows, the connection or not to open waters, seasonality and reproductive period, and time individuals spend inside the burrows. Horwitz and Richardson (1986) classified crayfish burrows based on the relationship to the water availability: (1) located in permanent water bodies, (2) connected to the water-table, water from underground or surface run-off and (3) no connection to water-table, the water supply being the surface run-off. Specifically for *Parastacus*, Riek (1972) classified all species as strong burrowers, but Buckup and Rossi (1980) noted differences in burrowing abilities, depending on habitat.

Molecular tools to complement species descriptions in parastacids were increasingly adopted in the last years (Rudolph and Crandall, 2005; 2007; 2012), especially in the recognition of new species, when cryptic species are involved. The use of DNA sequencing can be very useful in uncovering genetic variation and increasing the speed of species description, thus acting as a stimulus to further conservation efforts (Burnham and Dawkins, 2013).

In this contribution, we describe a new burrowing species of the crayfish genus *Parastacus*, discovered in a small fragment of a swamp forest located inside a theme park in southern Brazil. In addition, the distinctive position of this new species is discussed in a phylogenetic context. Habitat characterization and conservation status of the species based on the IUCN Red List criteria are also discussed.

MATERIAL AND METHODS

Sampling

Specimens were collected in one small section

of a swamp forest, located inside the Beto Carreiro World Park, in the municipality of Penha, state of Santa Catarina, Brazil ($26^{\circ}48'10''S$ $48^{\circ}37'2''W$). The type material was deposited in the Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP), São Paulo, Brazil, and in the Carcinological Collection of the Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio do Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil. For sampling, burrows were excavated manually in order to obtain crayfish specimens and to provide some information about the burrow system. In addition, a vacuum pump (7cm x 72 cm) was used to capture the individuals.

Morphological analysis

Drawings were prepared under a stereomicroscope fitted with a *camara lucida* and measurements were performed with vernier calipers with 0.1 mm accuracy and a millimetric ocular on a stereomicroscope. Morphological parameters used were defined by Buckup and Rossi (1980), Hopkins (1970), Morgan (1997) and Ribeiro *et al.* (2016). Measurements of all type specimens can be found in Tab. 1. Size and shape of the S2 pleura were defined according to Ribeiro *et al.* (2016). Sex was determined based on the morphology of the genital apertures, according to Rudolph (1997). Morphological descriptions follow Riek (1971), Buckup and Rossi (1980), Hobbs (1987), Morgan (1997), Holdich (2002) and Ribeiro *et al.* (2016). The taxonomic classification follows De Grave *et al.* (2009). Branchial count follows Huxley (1879).

Molecular analysis

Total genomic DNA was extracted from muscle tissue from walking legs from two fresh specimens collected in the type locality, using the Puregene kit (Qiagen). A fragment of approximately 550 base pairs (bp) of mitochondrial DNA encoding the 16S rRNA was amplified using published primers sets: 16L2 (5'-TGC CTG TTT ATC AAA AAC AT-3') (Schubart *et al.*, 2002) and 1472 (5'-AGA TAG AAA CCA ACC TGG-3') (Crandall and Fitzpatrick 1996; Schubart *et al.*, 2000 as 16H2).

Conditions for the polymerase chain reactions (PCR) were: initial denaturation at $94^{\circ}C$ for 4 min, followed by 40 cycles of $95^{\circ}C$ for 45 s, annealing at 48 or $50^{\circ}C$ for 1 min, elongation at $72^{\circ}C$ for 1 min,

and a final extension step at 72°C for 5 min. PCR products were outsourced for sequencing to Macrogen Europe (Amsterdam, The Netherlands). The obtained chromatograms were proofread using Chromas Lite version 2.23 (Technelysium Pty Ltd., 2005). Resulting sequences were blasted in GenBank and compared with the available *Parastacus* assemble. The new sequences were deposited at GenBank under accession numbers KY192525 and KY192526.

In addition, the following sequences with their respective accession numbers from NCBI database were included in the analysis: *Parastacus defossus* Faxon, 1898 (AF175243.1 and AF175242.1), *Parastacus varicosus* Faxon, 1898 (EU920933.1), *Parastacus nicoleti* (Philippi, 1835) (AF175231.1, AF175232.1, AF175233.1 and AF175234.1), *Parastacus pugnax* (Poepigg, 1882) (AF175238.1, AF175328.1 and AF175239.1) and *Samastacus spinifrons* (Philippi, 1882) (EF199542.1). All sequences were aligned with BioEdit version 7.2.5 (Hall, 1999) using the ClustalW algorithm (Thompson *et al.*, 1994) and adjusted manually, if required.

The best nucleotide substitution model was selected using jMODELTEST 2.1.10 with the Akaike Information Criterion (AIC) (95% confidence) (Darriba *et al.*, 2012), suggesting HKI + G as evolutionary model. Phylogenetic relationships were estimated using Bayesian Inference implemented in BEAST 1.8.3 (Drummond *et al.*, 2012). The gene tree search was run on computational resources provided by CIPRES portal (Miller *et al.*, 2015) using the tool BEAST on XSEDE (Drummond and Rambaut, 2007; Suchard and Rambaut, 2009). We used 10 million generations with Markov Chain Monte Carlo (MCMC) sampling, saving trees every 1,000 steps. The efficiency of the chain was assessed in Tracer 1.6 (Rambaut *et al.*, 2007), and the software TreeAnnotator (BEAST package) was used to summarize the trees, with 10% of initial trees discarded as burn-in. Genetic distances were also calculated by pairwise comparisons using uncorrected p-distances with the software Mega 7.0 (Kumar *et al.*, 2013).

Conservation analysis.

The extinction risk of the new species was defined according to the B1 sub-criterion of the International Union for Conservation of Nature - IUCN (IUCN, 2012). This sub-criterion takes into consideration

the estimated Extent of Occurrence (EOO) that was calculated in the Arcview 9.3 program (ESRI, 2009). The definition of the hydrographic basins follows the Otto Bacias shape method (level 4) (ANA, 2006).

Abbreviations

SLP	= Thoracic Sternite Lateral Processes
S1	= Abdominal Somite 1
S2	= Abdominal Somite 2
TL	= Total Length
CL	= Carapace Length
CW	= Carapace Width
CD	= Carapace Depth
CeL	= Cephalon Length
RL	= Rostral Length
RW	= Rostral Width
RCL	= Rostral Carina Length
CMW	= Cornea Maximum Width
OW	= Orbital Width
POCL	= Post Orbital Carina Length
FW	= Frontal Width
ASL	= Antennal Scale Length
ASW	= Antennal Scale Width
AreL	= Areola Length
AreW	= Areola Width
RPrT/LPrT	= Right/Left Propodus Thickness
RPrL/LPrL	= Right/Left Propodus Length
RPrW/LPrW	= Right/Left Propodus Width
RDL/LDL	= Right/Left Dactylus Length
RML/LML	= Right/Left Merus Length
AL	= Abdomen Length
AW	= Abdomen Width
TeL	= Telson Length
TeW	= Telson Width

The definition of each measurement can be found in Ribeiro *et al.* (2016).

SYSTEMATICS

Infraorder Astacidea Latreille, 1802

Superfamily Parastacoidea Huxley, 1879

Genus *Parastacus* Huxley, 1879

Parastacus tuerkayi sp. nov. Ribeiro,
Huber and Araujo
(Figs. 1–5)

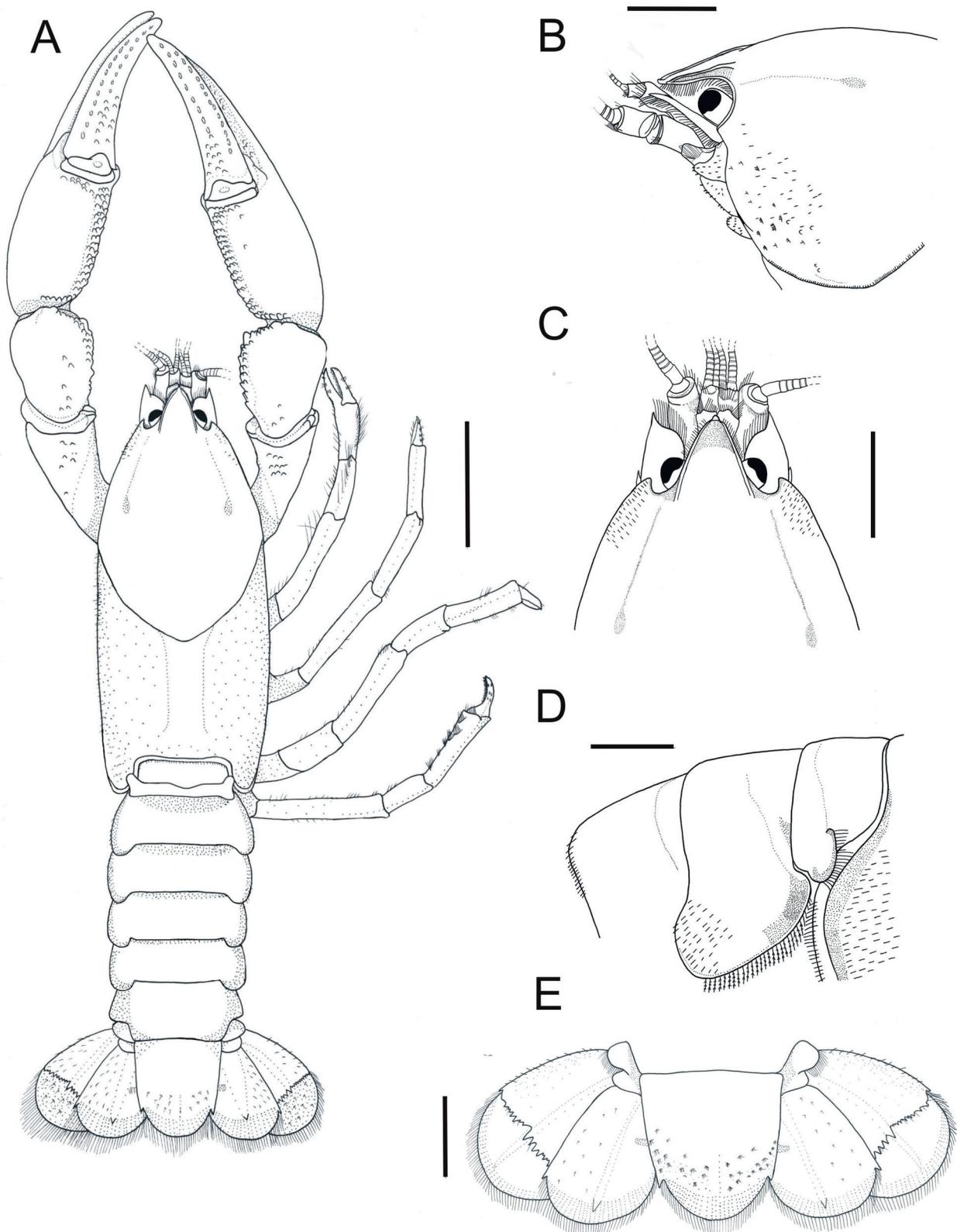


Figure 1. *Parastacus tuerkayi* sp. nov., holotype (MZUSP 34940). A, habitus, dorsal view; B, cephalon, lateral view; C, cephalon, dorsal view; D, first and second abdominal pleura; E, telson and uropods, dorsal view. Scale bars: A = 1 cm; B – E = 5 mm.

Type material. Holotype: male, Brazil, Santa Catarina, Penha, Beto Carreiro World ($26^{\circ}48'10"S$ $48^{\circ}37'02"W$), 04/IX/2013, leg. K.M. Gomes and F.B. Ribeiro (MZUSP 34940). Paratypes: 1 ovigerous female, Brazil, Santa Catarina, Penha, Beto Carreiro World ($26^{\circ}48'11"S$ $48^{\circ}37'01"W$), I/2001, leg. H. Boos Jr. (UFRGS 6376); 1 male, Brazil, Santa Catarina, Penha, Beto Carreiro World, 2001, leg. K. Schaat (UFRGS 3167); 1 male, same data as holotype (UFRGS 6438).

Comparative material analyzed. Chile: *P. pugnax* – 1 male and 2 females, La Florida, Concepción, 19/I/1977 (UFRGS 2407); 5 females, Rengo (cordillera), II/1984, leg. A.F. Neto (UFRGS 726); 2 males and 3 females, Laguna San Pedro, Concepción, 18/VII/1970. *Parastacus nicoleti* – 1 male, Mehuim (next to Valdivia), VIII/1997, leg. niños del Pueblo

(UFRGS 2405). Brazil, Rio Grande do Sul: *P. defossus* – 1 male, Costa do Cerro, Lami, Porto Alegre, 19/VII/2005, leg. L.C.E. Daut and J.F. Amato; 1 female, Sítio do Mato, Zona Sul, Porto Alegre ($30^{\circ}4'10.27"S$ $51^{\circ}5'10.46"W$), 22/III/2014, leg. K.M. Gomes and F.B. Ribeiro. *Parastacus caeruleodactylus* Ribeiro and Araujo in Ribeiro et al., 2016 – 1 female, Morrinhos do Sul ($29^{\circ}17'13.7"S$; $49^{\circ}54'53.42"W$), 12/XII/2013, leg. F.B. Ribeiro and K.M. Gomes (UFRGS 5931).

Etymology. Named to honor Dr. Michael Türkay from Seckenberg Museum, Frankfurt am Main, Germany, who passed away in 2015. He dedicated several years of his life to the research of freshwater crustaceans, especially freshwater crabs from the Neotropical region, describing several new species and providing invaluable contributions to the taxonomy of freshwater decapods.

Table 1. Measurements (mm) of the type series of *Parastacus tuerkayi* sp. nov. For abbreviations, see Material and Methods.

	Holotype (MZUSP 34940)	Paratype (UFRGS 6376)	Paratype (UFRGS 3167)	Paratype (UFRGS 6438)
Sex	M	F	M	M
TL	66.81	54.93	59.37	57.04
CL	33.52	26.45	18.72	28.64
CW	15.23	12.34	14.34	12.55
CD	16.92	13.98	13.58	14.52
CeL	22.58	18.09	18.51	18.78
RL	4.09	3.56	4.01	3.54
RW	3.41	3.13	3.49	3.27
CMW	1.30	1.10	1.40	1.62
OW	2.52	2.15	2.33	2.23
FW	6.27	4.90	5.45	5.47
RCL	4.19	3.80	4.52	4.03
POCL	8.21	5.77	6.39	6.13
ASL	4.51	3.40	3.65	3.85
ASW	2.02	1.30	1.52	1.75
AreL	8.68	7.15	8.59	8.18
AreW	3.08	2.95	3.11	3.32
AW	12.74	11.41	11.10	11.36
AL	26.23	22.58	24.42	22.28
RPrT	7.20	3.57	6.75	5.42
RPrL	28.14	15.87	23.49	29.30
RPrW	12.94	7.00	12.00	10.10
RML	15.05	11.01	12.96	12.09
RDL	17.65	10.45	13.59	12.56
LPrT	7.36	4.82	3.92	5.46
LPrL	29.31	18.35	15.94	20.63
LPrW	12.85	9.44	7.04	10.00
LML	14.91	11.48	11.31	12.19
LDL	17.65	11.49	10.47	12.54
TeL	9.98	8.37	8.75	7.78
TeW	7.65	6.84	6.55	6.74

Diagnosis. Narrow front with short triangular rostrum. Rostral apex shaped as inverted “U”, with an upward blunt spine. Suborbital angle $>90^\circ$. Postorbital carinae weakly prominent. Cervical groove V-shaped. Areola narrow and barely discernible. Telson subrectangular with sharp spines on lateral margins. Mandible with caudal molar process bicuspidate with one cephalodistal cusp and one small distoproximal cusp. S2 pleurae high and long with deep groove parallel to margin. Internal ventral border of basal article of antennule without sharp spine in males.

Description of the holotype. Rostrum: triangular, longer than wide (RW 83.4% of RL), short (10.2% of CL), reaching proximal portion of the second article of the antennular peduncle (Fig. 1A–C). Dorsum straight, apex inverted “U”-shaped, ending in upward blunt spine (Fig. 1B, C). Few plumose setae on lateral margins. Rostral sides slightly convergent and rostral basis parallel. Carinae almost straight, prominent and narrow, extending back to carapace, slightly surpassing rostral basis (Fig. 1B, C).

Cephalon: carapace lacking spines or tubercles. CeL 67.4% of CL. Eyes small (CMW 51.6% of OW); suborbital angle $>90^\circ$, unarmed (Fig. 3C). Front narrow (FW 41.2% of CW). Postorbital carinae longer than rostral carinae (RCL 51% of POCL) and weakly prominent. Lateral cephalic edge with moderate setation (Fig. 1A–C).

Thorax: carapace laterally compressed, deep and narrow (CD 50.5% of CL; CW 45.4% of CL). Cervical groove V-shaped. Branchiocardiac grooves inconspicuous (Fig. 1A). Areola narrow, 2.8x as long as wide (25.9% of CL) (Fig. 1A).

Abdomen: lacking spines or tubercles, long and narrow (AL 78.2% of CL; AW 83.6% of CW), smooth, covered with small setae on pleural margins (Fig. 1A). Pleural somites with rounded posterior margins. S1 pleurae with a large distal lobe not overlapped by S2 pleurae. S2 pleurae high and short with deep groove parallel to margin (Fig. 1D).

Tailfan: telson uniformly calcified, subrectangular, longer than wide (TeW 76.6% of TeL), with sharp spines on lateral margins; rounded distal margin with abundant long plumose setae and short simple setae. Dorsal surface with tufts of short setae and inconspicuous dorsomedian longitudinal groove (Fig. 1E).

Uropod protopod bilobed, with rounded and unarmed margins; proximal lobe largest. Exopod lateral margin bears a small and sharp spine, mid-dorsal carina weakly prominent, ending in a very sharp spine. Transverse suture (diaeresis) straight, with ten dorsolateral spines (outer) and nine dorsolateral spines (inner) on right exopod and ten dorsolateral spines (outer) and eight dorsolateral spines (inner) on the left exopod. Endopod with mid-dorsal carina weakly prominent, ending in a very sharp spine; lateral margin with one sharp spine at level of exopod transverse suture (Fig. 1E).

Epistome: anterolateral section with conical projection. Posterolateral section smooth and with deep lateral grooves converging to the basis of the anteromedian lobe and reduced median circular concavity. Anteromedian lobe pentagonal, 1.2x longer than wide, apex acute and straight with some serrated setae, reaching median part of antepenultimate article of antennal peduncle; dorsal surface straight, and basis with a shallow groove (Fig. 2A).

Thoracic sternites: SLP4 smallest and close to each other, median keel present and not inflated; SLP5 small and very close to each other, median keel present and not inflated; SLP6 larger than SLP4, SLP5 and SLP8 and with a slightly concave surface, median keel inflated; SLP7 largest and with surface slightly concave, median keel inflated, bullar lobes absent; SLP8 small and slightly concave, median keel absent, vertical arms of paired sternopleural bridges close to each other, bullar lobes separated and clearly visible (Fig. 2B, C).

Antennule: internal ventral border of basal article without sharp spine (Fig. 2A).

Antenna: when extended back reaching S1. Antennal scale widest at midlength, reaching midlength of third antennal article, ASW 44.8% of ASL (Fig. 2A, D), lateral margin straight, spine strong and distal margin straight. Coxa with prominent carina above nephropore and blunt spine laterally displaced. Basis unarmed (Fig. 2A).

Mandible: cephalic molar process molariform, caudal molar process bicuspidate with one cephalodistal cusp and one distoproximal cusp. Incisive lobe with nine teeth. Third tooth from the anterior margin largest (Fig. 2E).

Third maxilliped: ischium bearing few setiferous punctuations, but with some long smooth simple setae on outer margin (Fig. 2F); dorsal surface without setae

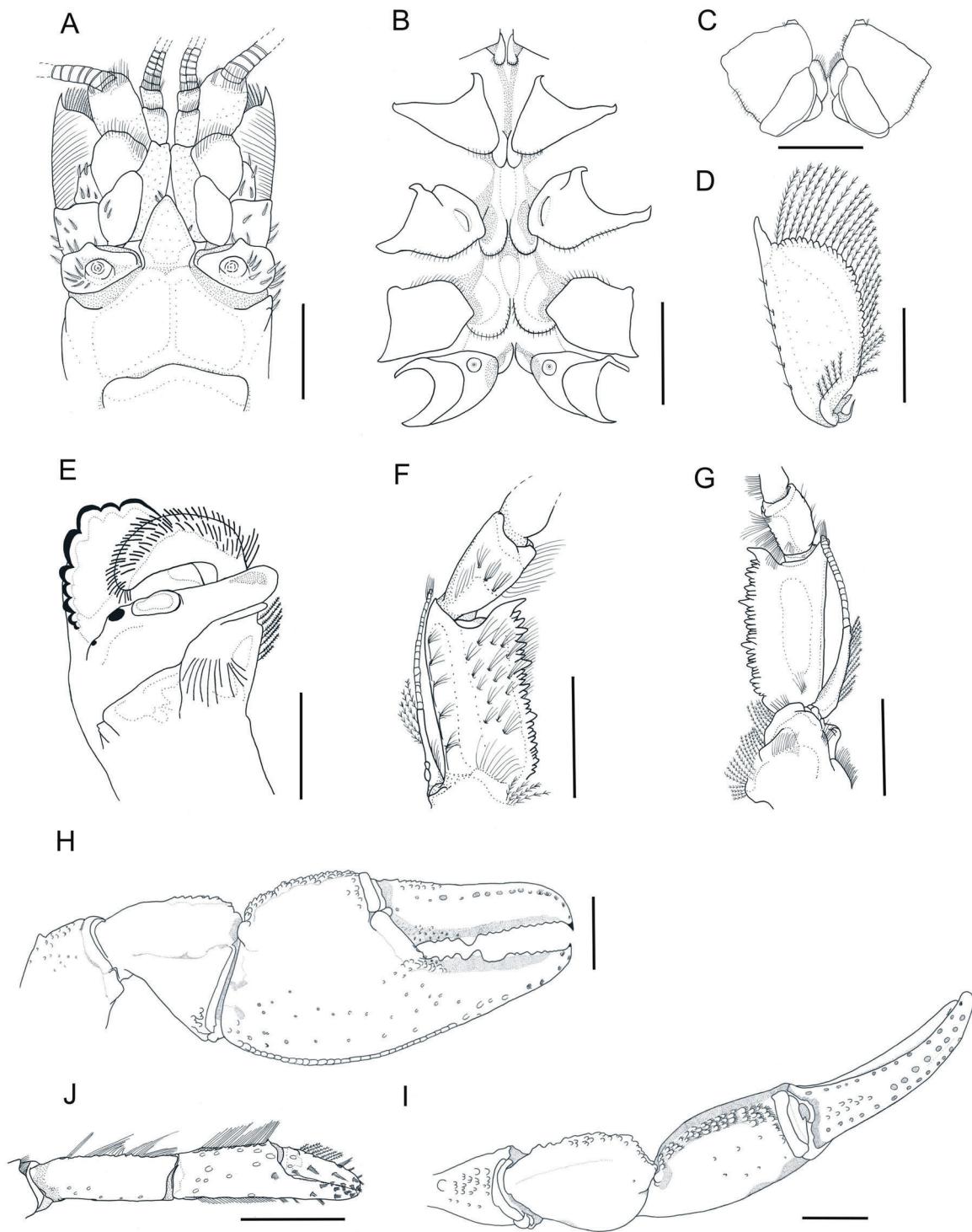


Figure 2. *Parastacus tuerkayi* sp. nov., holotype (MZUSP 34940) and paratypes (UFRGS 3167, UFRGS 6438). A, epistome (holotype); B, thoracic sternites and gonopores (holotype); C, thoracomere 8, caudal view (holotype); D, antennal scale, lateral view (UFRGS 3167); E, mandible (UFRGS 6438); F, third maxilliped, ventral view (UFRGS 6438); G, third maxilliped, dorsal view (UFRGS 6438); H, first pereiopod, lateral view (holotype); I, first pereiopod, dorsal view (holotype); J, second pereiopod, lateral view (holotype). Scale bars: A = 3.3 mm; B, C, H, I, J = 5 mm; D, E = 1.6 mm; F, G = 3.33 mm.

(Fig. 2G). Merus ventral surface sparsely covered by long smooth simple setae in the median-proximal region (Fig. 2F). *Crista dentata* bearing 29 and 26 teeth on right and left ischium respectively. Merus, dorsal surface sparsely covered with simple setae. Exopod longer than ischium, with flagellum reaching proximal margin of merus (Fig. 2F, G).

First pair of pereiopods (chelipeds): large and subequal, laterally flattened (RPrT 25.6% of RPrL; LPrT 25.1% of LPrL) (Fig. 1A). Ischium ventral surface with 14 tubercles. Merus: right merus (RML) 53.5% of propodus length (RPrL); left merus (LML) 50.9% of propodus length (LPrL); ventral surface with two longitudinal series of tubercles: inner series with 17 tubercles, outer 16 and mesial 26, arranged irregularly on right merus; inner series bearing 17 tubercles, outer 16 and mesial 30, arranged irregularly on left merus. Dorsal and midventral spines present. Carpus with dorsomedial surface divided longitudinally by shallow groove (Fig. 1A; Fig. 2I). Internal dorsolateral margin with row of tubercles, increasing in size distally; inner surface with 20 small mesial tubercles. Carpal spine absent (Fig. 2I). Propodus width (RPrW and LPrW) 46% of length in right cheliped and 43.8% in left cheliped. Dorsal surface of palm with three rows of verrucous tubercles (Fig. 2H, I). Inner margin without tubercles. Ventral surface bearing two rows of squamose tubercles, trespassing the beginning of the fixed finger (Fig. 2H). Dactylus: moving subvertically, right dactylus (RDL) 62.8% of propodus length (RPrL), left dactylus (LDL) 60.2% of left propodus (LPrL); dorsal surface with squamose tubercles in the proximal portion (Fig. 4I). Cutting edge of fingers visible. Fixed finger with eleven teeth, third and fourth teeth largest. Dactylus with 14 teeth, third tooth largest (Fig. 2H, I).

Second pair of pereiopods: ventral and dorsal surface of carpus, propodus and dactylus with sparse cover of simple long setae (Fig. 2J).

Gonopores: presence of both genital apertures on coxae of third and fifth pairs of pereiopods. Female gonopores semi-ellipsoidal (maximum diameter 1.56 mm) with well-calcified membrane. Male gonopores rounded, opening onto apical end of a small, fixed, calcified and truncated phallic papilla, close to inner border of ventral surface of coxae of fifth pair of pereiopods. Male cuticle partition present (Fig. 4B).

Branchial count: 20 + epr + r. Branchial arrangement

as described by Huxley (1879) and Hobbs (1991), with the epipod of the first maxilliped with rudimentary podobranchial filaments.

Description of the female paratype: Differs from the holotype in the following morphological characters: rostrum less sharp at apex, RW 81.9% of RL (Fig. 3A). Post orbital carinae shorter (RCL 65.8% of POCL) (Fig. 3A). Areola 2.4x as long as wide, constituting 27% of CL (Fig. 3A). S2 pleurae high and long (Fig. 3C). Transverse suture (diaresis) with seven dorsolateral spines (outer) and five dorsolateral spines (inner) on right exopod and five dorsolateral spines (outer) and six dorsolateral spines (inner) on left exopod. Anteromedian lobe of epistome 1.1x longer than wide. Internal ventral border of basal article of antenulle with a sharp spine (Fig. 3B). Antennal flagellum reaching S2. *Crista dentata* bearing 24 and 28 teeth on the right and left ischium, respectively. Chelipeds shorter than in male. Merus of chelipeds with up to two spines in the midventral region. Carpal spine present in both chelipeds, right cheliped bears two spines (Fig. 3A). Female gonopores ellipsoidal (maximum diameter 1.21 mm) covered by a thin and non-calcified membrane.

Measurements. Holotype male, CL 33.52 mm and TL 66.81 mm. Paratype female, CL 26.45 mm and TL 54.93 mm. In type series, CL ranging from 18.72 to 33.52 mm (26.83 ± 6.16 mm). FW/CW: 0.4 ± 0.02 (min: 0.38; max: 0.43). RL/RW: 1.14 ± 0.05 (min: 1.08; max: 1.19). MCW/OW: 0.6 ± 0.1 (min: 0.51; max: 0.72). Postorbital carina longer than rostral carina in all specimens analyzed. CW/AW: 1.16 ± 0.09 (min: 1.08; max: 1.29). AreW/RW: 0.93 ± 0.05 (min: 0.89; max: 1.01).

Color of living specimens. Rostrum reddish brown. Cephalothorax anterior and lateral regions greenish brown to reddish brown. First pair of pereiopods reddish brown with dark reddish brown fingers. Pereiopod pairs 2–5 light brown to reddish brown. Dorsal abdomen light brown to dark reddish brown. Tailfan light brown to reddish brown (Fig. 4E–G).

Remarks. All paratypes present both masculine and feminine gonopores in the same individual. Male paratypes also present female gonopores semi-

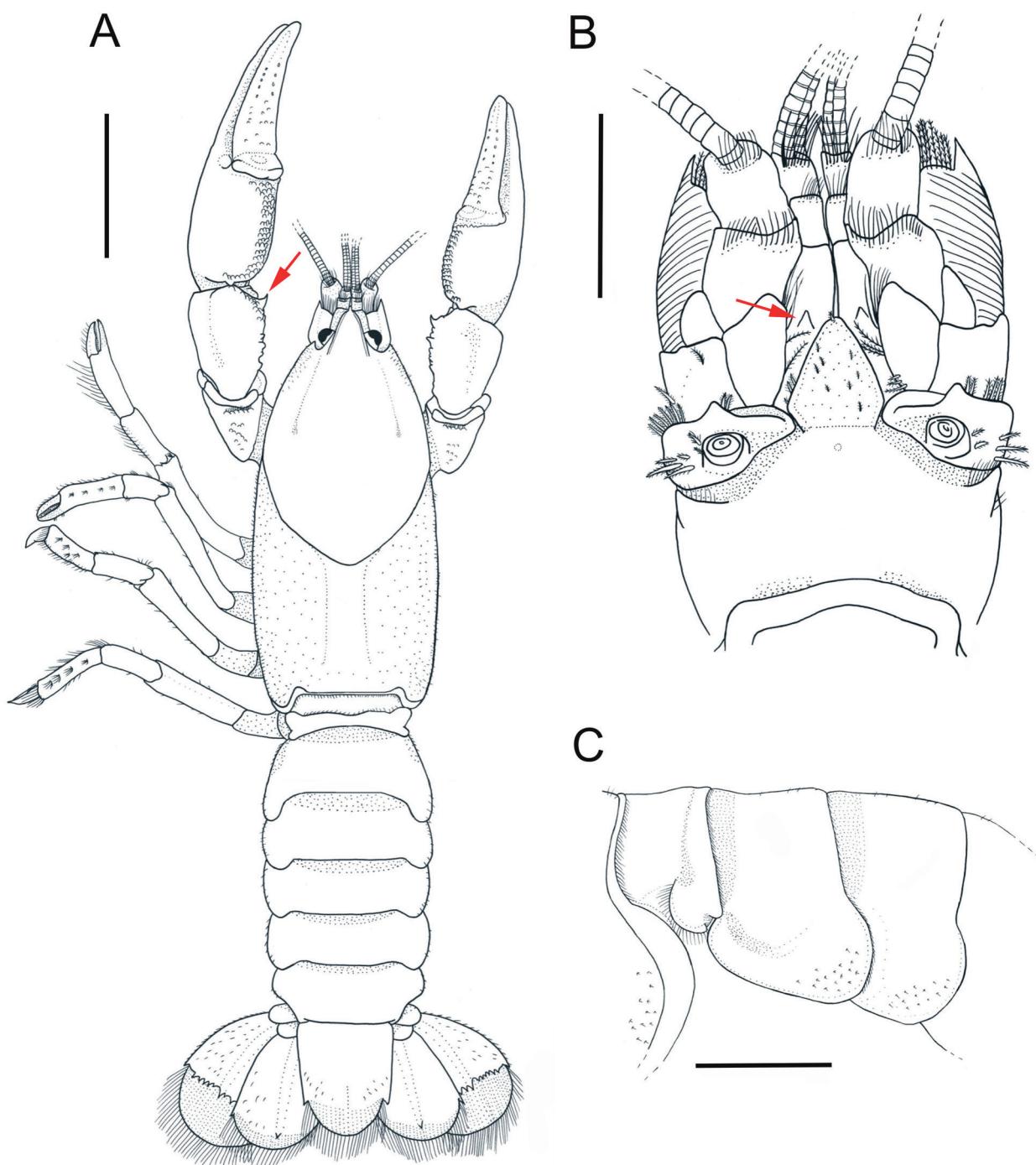


Figure 3. *Parastacus tuerkayi* sp. nov., female paratype (UFRGS 6376). A, habitus, dorsal view; B, epistome; C, first and second abdominal pleura. Scale bars: A = 1 cm; B, C = 5 mm. Red arrows indicate the spine on the carpus and on the internal ventral border of basal article of antenule respectively in A and B.

ellipsoidal (average maximum diameter 1.18 mm) covered by a calcified membrane. Male gonopores are very similar in male and female paratypes.

Parastacus tuerkayi sp. nov. is morphologically similar to *P. caeruleodactylus*, *P. defossus*, *P. nicoleti* and *P. pugnax* in having the post orbital carinae weakly prominent, the areola narrow and barely discernible

and the abdomen narrower than the cephalothorax. *Parastacus tuerkayi* sp. nov. is also similar to *P. nicoleti* in having the dorsal surface of dactylus with tubercles in the proximal portion. *Parastacus tuerkayi* sp. nov. differs from all other *Parastacus* species in having three well defined lines of verrucous tubercles in the dorsomesial margin of the palm of chelipeds and the

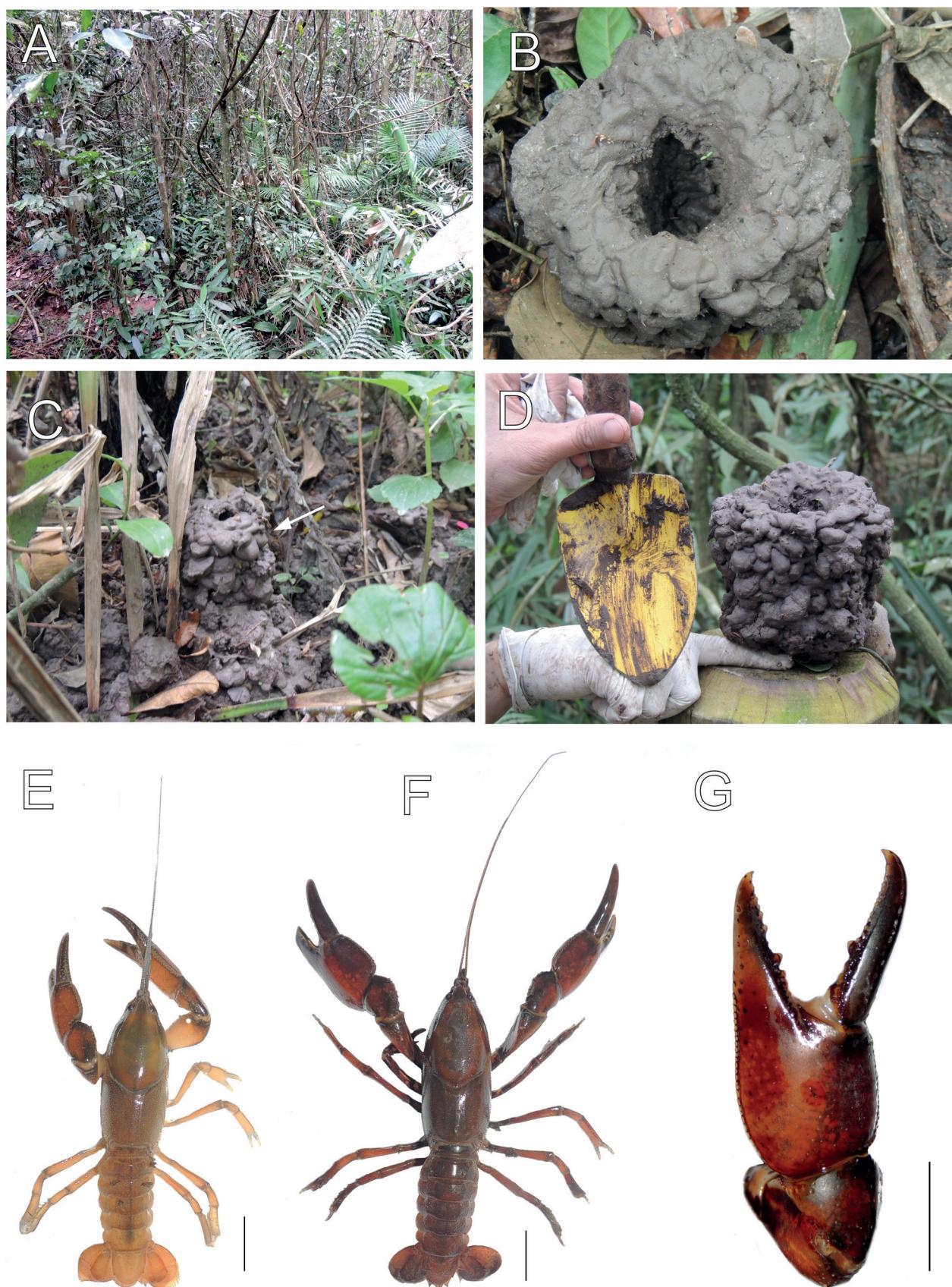


Figure 4. *Parastacus tuerkayi* sp. nov., habitat and living specimens. A, Typical habitat, a swamp forest; B, Opened chimney superior view; C and D, opened chimney lateral view, white arrow indicates the chimney; E and F, living specimens, habitus dorsal view (UFRGS 6438 and holotype, respectively); G, living specimen (holotype), cheliped lateral view. Scale bars: E, F, G = 10 mm.

internal ventral border of basal article of antennules without a sharp spine.

Phylogenetic position. The phylogenetic relationships based on 512bp of the 16S rRNA gene provide clear evidence for the separation of *P. tuerkayi* sp. nov. from other species of the genus *Parastacus* with high values of posterior probability (Fig. 6). Genetic distances estimated between *P. tuerkayi* sp. nov. and other *Parastacus* species range from 6.2% (*P. defossus*) to 13.1% (*P. nicoleti*) for the 16S gene (Tab. 2). Intraspecific genetic distance was not more than 0.03%.

Habitat and ecology. *Parastacus tuerkayi* sp. nov. was collected in a small fragment (approximately 500 m²) of a swamp forest located inside the theme park “Beto Carreiro World” in the coastal region of the state of Santa Catarina. This physiographic region belongs to the Atlantic Forest Biome and the vegetation is composed predominantly by Myrtaceae, Poaceae, Piperaceae (genus *Piper*) and some pterydophyta of the family Blechnaceae (genus *Blechnum*) (P. Brack pers. comm.). Soil is mainly composed by clay and temporarily flooded with a large amount of organic matter derived from leaf decomposition (F. B. Ribeiro pers. obs.). Found in a flooded area, burrows of *P. tuerkayi* sp. nov. can be identified as type 2 according to Horwitz and Richardson's (1986) classification.

Based on Hobbs' (1942) classification, *P. tuerkayi* sp. nov. can be considered a primary burrower, in which the individuals spend almost their entire life underground and build deep and relatively complex burrows.

Burrows can reach a depth of up to one meter, but with few branches and with long (up to 15 cm) and large (up to 12 cm) chimneys.

This burrow structure is very similar to the one of *P. caeruleodactylus* that is also found in swamp forests in the state of Rio Grande do Sul, near the foothills of the Serra Geral mountains and in the coastal region, and *P. pugnax*, found in small valleys or depressions between mountains or topographic depressions, usually associated with perennial forests in Chile (Rudolph, 2013; Ribeiro et al., 2016). *Parastacus tuerkayi* sp. nov. is ecologically similar to *P. pugnax*, *P. caeruleodactylus*, *P. defossus* and *P. nicoleti*. These species share some morphological adaptations to the burrowing life style, as the narrow areola, which is indicative of one extended branchial chamber; carapace, abdomen and appendages covered by setae in some regions, reduced eyes and the abdomen narrower than the cephalothorax (Horwitz and Richardson 1986; Richardson, 2007).

Regarding reproductive biology, the ovigerous female (paratype UFRGS 6376) bears approximately 20 eggs (average maximum diameter 2.4 mm) attached to its pleopods. The low fecundity is also a characteristic shared by strong burrowing species (Richardson, 2007).

Distribution. *Parastacus tuerkayi* sp. nov. appears to have an extremely limited distribution, being found only in the municipality of Penha, state of Santa Catarina, southern Brazil (Fig. 5).

Conservation status. The EOO was estimated as comprising approximately 647.674 km² based on the

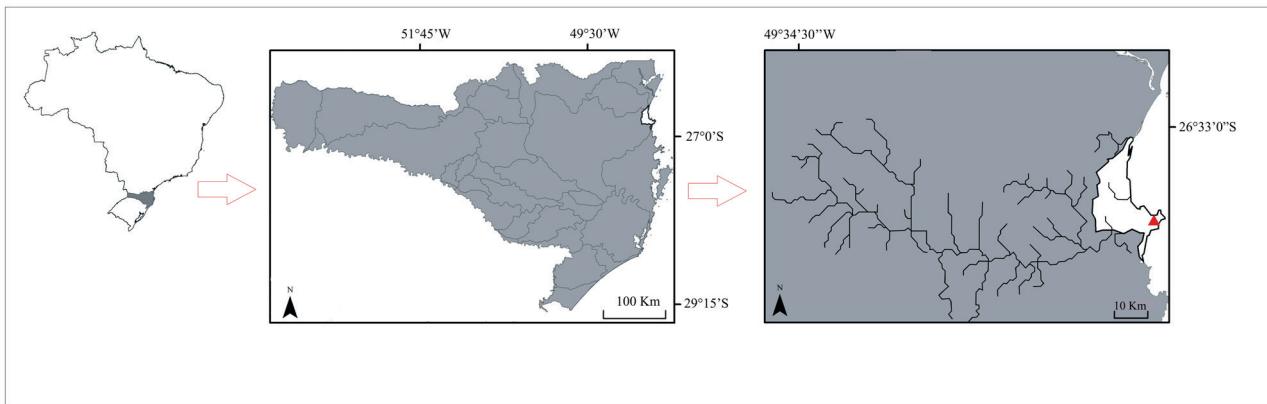


Figure 5. Distribution of *Parastacus tuerkayi* sp. nov. in the state of Santa Catarina, southern Brazil. The type locality is represented by a red triangle.

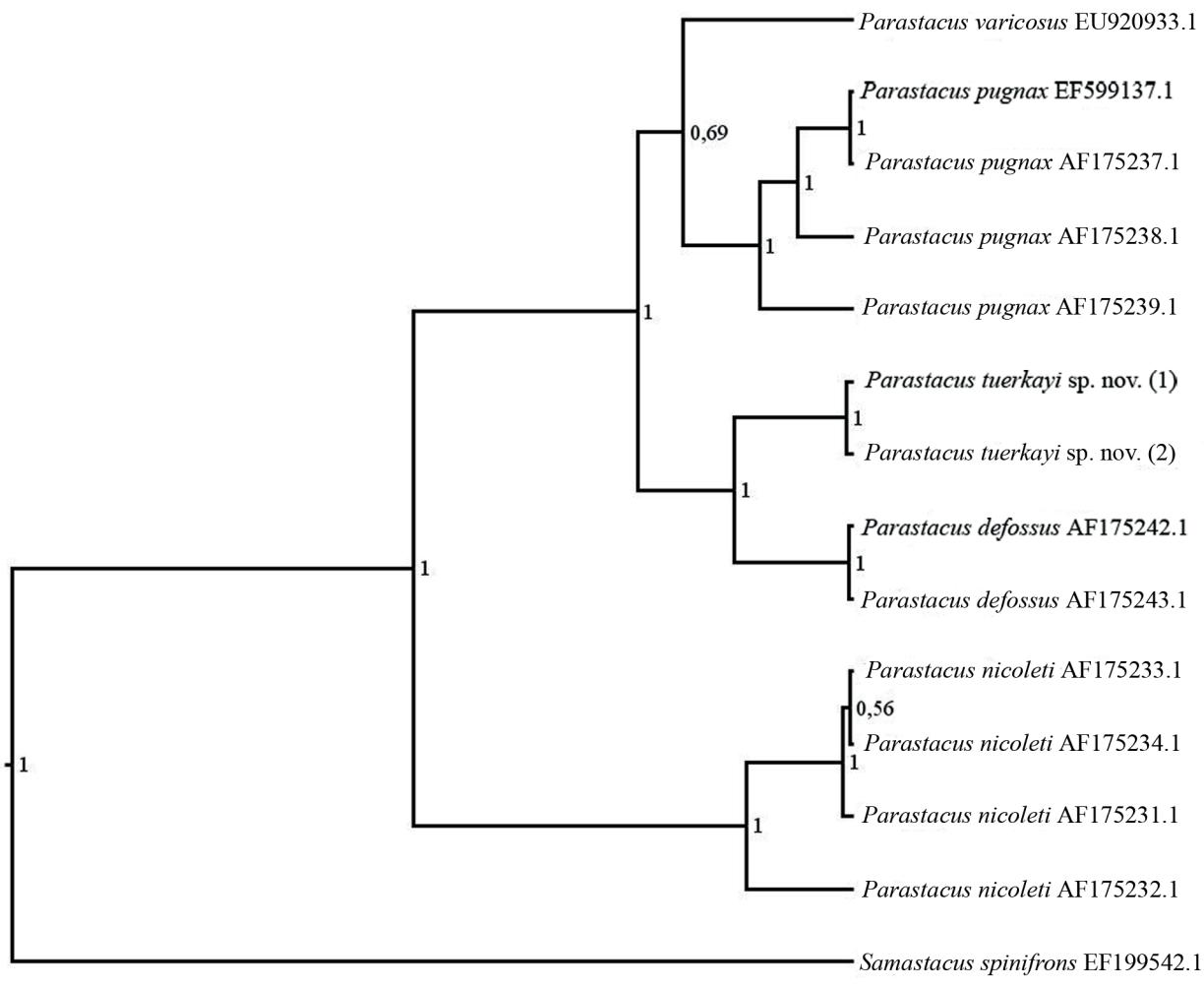


Figure 6. Bayesian inference estimate of phylogenetic relationships among selected species of South American freshwater crayfish based on 16S rRNA gene data from the mitochondrial genome. *Parastacus tuerkayi* sp. nov. (1) and (2) are respectively paratype (UFRGS 6438) and holotype.

Table 2. Genetic divergence matrix (p-distances) of the 16 S mitochondrial gene among *Parastacus tuerkayi* sp. nov. and other selected species of the genus *Parastacus* (*P. defossus*, *P. nicoleti*, *P. pugnax* and *P. varicosus*) and *Samastacus spinifrons*.

	1	2	3	4	5
1. <i>Parastacus tuerkayi</i> sp. nov.					
2. <i>Parastacus defossus</i>	0.062				
3. <i>Parastacus nicoleti</i>	0.131	0.119			
4. <i>Parastacus pugnax</i>	0.088	0.064	0.119		
5. <i>Parastacus varicosus</i>	0.087	0.080	0.104	0.063	
6. <i>Samastacus spinifrons</i>	0.243	0.231	0.221	0.236	0.231

Otto Bacia shape level 4 (ANA, 2006), indicating that this species can be included in the Endangered – EN category, in which the EOO is less than 5,000 km² (IUCN, 2012). The species is categorized as EN under subitem “a”: for an EOO, which is severely

fragmented; and subitem “b” (iii): continuing decline in quality of habitat. Both subitems are appropriate, due to the threats existing in the species occurrence area. Urbanization may be the main cause of habitat loss and fragmentation, since *P. tuerkayi* sp. nov. was

found inside a theme park in a small fragment of a swamp forest (approximately 500 m²). In addition, this region of the state of Santa Catarina is a target of intense urban real estate speculation and tourism. We therefore suggest that the conservation status of this species be classified as ENDANGERED B1ab(iii).

ACKNOWLEDGMENTS

This study is part of the Doctorate thesis of F.B. Ribeiro in the Post-Graduation Program in Animal Biology at the Universidade Federal do Rio Grande do Sul. The authors would like to thank Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) that provided a Doctorate Scholarship to F.B. Ribeiro; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) that supplied a Productivity Research Scholarship to P. B. Araujo (PQ 305900/2014-5); and Programa de Pós Graduação em Biologia Animal – Universidade Federal do Rio Grande do Sul that provided additional support to sampling. The authors also would like to thank Professor Dr. Paulo Brack (UFRGS) for plant identification, Kelly M. Gomes for the help in sampling and conservation analysis, Dr. Ivana Miranda for the help in laboratory genetic procedures and the anonymous reviewers for their suggestions. All sampled specimens were collected according to the Brazilian laws (SISBIO license number 45759-2).

REFERENCES

- ANA - Agência Nacional de Águas (Brasil).** 2006. Topologia hídrica: método de construção e modelagem da base hidrográfica para suporte à gestão de recursos hídricos: versão 1.11. Agência Nacional de Águas, Superintendência de Gestão da Informação, Brasília, 29p.
- Buckup, L. and Rossi, A.** 1980. O Gênero *Parastacus* no Brasil (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 40: 663–681.
- Buckup, L. and Rossi, A.** 1993. Os Parastacidae do espaço meridional andino (Crustacea, Astacidea). *Revista Brasileira de Biologia*, 53: 167–176.
- Burnham, Q. and Dawkins, K.L.** 2013. The role of molecular taxonomy in uncovering variation within crayfish and the implications for Conservation. *Freshwater Crayfish*, 19: 29–37.
- Crandall, K.A.; Fetzner Jr., J.W.; Jara, C.G. and Buckup, L.** 2000. On the phylogenetic positioning of the South American freshwater crayfish genera (Decapoda: Parastacidae). *Journal of the Crustacean Biology*, 20: 530–540.
- Crandall K.A. and Fitzpatrick J.F.** 1996. Crayfish Molecular Systematics: Using a Combination of Procedures to Estimate Phylogeny. *Systematic Biology*, 45: 1–26.
- Darriba, D.; Taboada, G.L.; Doallo, R. and Posada, D.** 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9: 772.
- De Grave, S.; Pentcheff, N.D.; Ahyong, S.T.; Chan, T.Y.; Crandall, K.A.; Dworschak, P.C.; Felder, D.L.; Feldmann, R.M.; Fransen, C.H.J.M.; Goulding, L.Y.D.; Lemaitre, R.; Low, M.E.Y.; Martin, J.W.; Ng, P.K.L.; Schweitzer, E.; Tan, S.H.; Tshudy, D. and Wetzer, R.** 2009. A classification of living and fossil genera of decapod crustaceans. *Raffles Bulletin of Zoology*, Suppl. 21: 1–109.
- Drummond, A.J. and Rambaut, A.** 2007. “BEAST”: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, 7: 214.
- Drummond, A.J.; Suchard, M.A.; Xie, D. and Rambaut, A.** 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUTi and the Beast 1.7. *Molecular Biology and Evolution*, 29: 1969–1973.
- ESRI.** 2009. ArcGIS Desktop: Release 9.3. Environmental Systems, Research Institute Redlands, CA.
- Hall, T.A.** 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95–98.
- Hobbs, H. H., Jr.** 1942. The crayfishes of Florida. University of Florida Publication, *Biological Science Series* 3(2): 1–179.
- Hobbs, H.H. Jr.** 1987. A review of the crayfish genus *Astacoides* (Decapoda: Parastacidae). *Smithsonian Contributions to Zoology*, 443: 1–50.
- Holdich, D.M.** 2002. Biology of Freshwater Crayfish. Oxford, Blackwell Science, 702p.
- Hopkins, C.L.** 1970. Systematics of the New Zealand freshwater crayfish *Paranephrops* (Crustacea: Decapoda: Parastacidae). *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 4: 278–291.
- Horwitz, P.H. and Richardson, A.M.M.** 1986. An ecological classification of the burrows of Australian freshwater crayfish. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 37: 237–242.
- IUCN - International Union for Conservation of Nature.** 2012. IUCN Red List Categories and Criteria: Version 3.1, Second edition. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, 32 pp.
- Kumar, S.; Stecher, G. and Tamura, K.** 2016. MEGA 7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33: 1–5.
- Miller, M.A.; Schwartz, T.; Pickett, B.E.; He, S.; Klem, E.B.; Scheuermann, R.H.; Passarotti, M. and Kaufman, S.** 2015. A RESTful API for access to phylogenetic tools via the CIPRES Science Gateway. *Evolutionary Bioinformatics*, 11: 43–48
- Morgan, G.J.** 1997. Freshwater crayfish of the genus *Euastacus* Clark (Decapoda: Parastacidae) from New South Wales, with a key to all species of the genus. *Records of the Australian Museum, Supplement*, 23: 1–110.
- Rambaut, A.; Drummond, A.J. and Suchard, M.** 2007. Tracer v1.6, Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>

- Ribeiro, F.B.; Buckup, L.; Gomes, K.M. and Araujo, P.B. 2016. Two new species of South American freshwater crayfish genus *Parastacus* Huxley, 1879 (Crustacea: Decapoda: Parastacidae). *Zootaxa*, 4158: 301–324.
- Richardson, A.M.M. 2007. Behavioral ecology of semiterrestrial crayfish. p. 319–338. In: J.E. Duffy and M. Thiel (ed.), Evolutionary ecology of social and sexual systems - crustaceans as model organisms. New York, Oxford University Press.
- Riek, E.F. 1971. The freshwater crayfishes of South America. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 84: 129–136.
- Riek, E.F. 1972. The phylogeny of the Parastacidae (Crustacea: Astacoidea) and description of a new genus of Australian freshwater crayfishes. *Australian Journal of Zoology*, 20: 369–389.
- Rudolph, E.H. 1997. Intersexualidad en el camarón excavador *Parastacus pugnax* (Poeppig, 1835) (Decapoda, Parastacidae). *Investigaciones Marinas*, Valparaíso, 25: 7–18.
- Rudolph, E.H. 2013. A checklist of the Chilean Parastacidae (Decapoda, Astacidea). *Crustaceana*, 86: 1468–1510.
- Rudolph, E.H. and Crandall, K. 2005. A new species of burrowing crayfish *Virilastacus rucapihueensis* (Crustacea: Decapoda: Parastacidae) from southern Chile. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 118: 765–776.
- Rudolph, E.H. and Crandall, K. 2007. A new species of burrowing crayfish *Virilastacus retamali* (Decapoda: Parastacidae) from the southern Chile peatland. *Journal of Crustacean Biology*, 27: 502–512.
- Rudolph, E.H. and Crandall, K. 2012. A new species of burrowing crayfish, *Virilastacus jarai* (Crustacea, Decapoda, Parastacidae) from central-southern Chile. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 125: 258–275.
- Schubart, C.D.; Cuesta, J.A. and Felder, D.L. 2002. Glyptograpsidae, a new brachyuran family from Central America: larval and adult morphology, and a molecular phylogeny of the Grapsoidea. *Journal of Crustacean Biology*, 22: 28–44.
- Schubart, C.D.; Neigel, J.E. and Felder, D.L. 2000. Use of the mitochondrial 16S rRNA gene for phylogenetic and population studies of Crustacea. p. 817–830. In: J.C. von Vaupel Klein and F.R. Schram (eds), The biodiversity crisis and Crustacea - Proceedings of the Fourth International Crustacean Congress, Amsterdam, Netherlands, 20–24 July 1998. Crustacean Issues, 12. Rotterdam, A.A. Balkema and Brookfield, VT.
- Suchard, M.A. and Rambaut, A. 2009. Many-core Algorithms for Statistical Phylogenetics. *Bioinformatics*, 25: 1370–1376.
- Thompson, J.D.; Higgins, D.G. and Gibson, T.J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22: 4673–4680.
- Toon, A.; Pérez-Losada M.; Schweitzer, C.E.; Feldmann, R.M.; Carlson, M. and Crandall, K. 2010. Gondwanan radiation of the Southern Hemisphere crayfishes (Decapoda: Parastacidae): evidence from fossils and molecules. *Journal of Biogeography*, 37: 2275–2290.

CAPÍTULO III

A molecular phylogenetic investigation of the South American freshwater crayfish (Crustacea, Decapoda, Parastacidae) with emphasis on *Parastacus*

Manuscript prepared to be submitted to the Journal: Invertebrate Systematics

**A molecular phylogenetic investigation of South American freshwater crayfish
(Crustacea: Decapoda: Parastacidae) with emphasis on *Parastacus***

Felipe Bezerra Ribeiro^{A,B,D}, Ivana Miranda^B, Augusto Ferrari^{A,C}, Christoph Schubart^B
and Paula Beatriz Araujo^A

^A Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia (Laboratório de Carcinologia), Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

^B Programa de Pós-graduação em Aquicultura, Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, Jaboticabal, São Paulo, Brazil

^CUniversidade Federal do Rio Grande – FURG, Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brazil

^D Corresponding author. Email: fribreiro.bio@gmail.com

Running head: Phylogeny of the South American Parastacidae.

Abstract.

South American freshwater crayfish from the genera *Parastacus*, *Samastacus* and *Virilastacus* constitutes the most basal clade with respect to all other parastacids. The evolutionary relationships among the species of these genera have been poorly studied until now. The inclusion of a multigenic approach with a large dataset may help to solve taxonomic questions and to identify potential cryptic species. Using phylogenetic analysis based on three genes (Cox1, 16S and 28S), the relationships among South American genera were evaluated. We corroborated the monophyly of *Parastacus*, and propose a new genus to encompass *Parastacus nicoleti* (Philippi, 1882). Additionally, we verified the presence of ten new species along the genus *Parastacus*.

Additional keywords: Systematics, freshwater crayfish, neotropical crustaceans, parastacids.

CAPÍTULO IV

Taxonomic review of the genus *Parastacus* Huxley, 1879 (Crustacea: Decapoda: Astacidea: Parastacidae)

Manuscript prepared to be submitted to the Journal: Zootaxa

Manuscript to be submitted to Zootaxa

Monograph

ZOOTAXA

**Taxonomic review of the genus *Parastacus* Huxley, 1879 (Crustacea: Decapoda:
Astacidea: Parastacidae)**

FELIPE BEZERRA RIBEIRO* AND PAULA BEATRIZ ARAUJO

*Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia
(Laboratório de Carcinologia), Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil*

*Corresponding author: Email: ftribeiro.ufc@gmail.com

Short running title: REVIEW OF *PARASTACUS*

Abstract

The freshwater crayfish genus *Parastacus* Huxley, 1879 (Parastacidae) is reviewed. Eight species are redescribed: *Parastacus brasiliensis* (von Martens, 1869), *P. defossus* Faxon, 1898, *P. laevigatus* Buckup & Rossi, 1980, *P. pilimanus* (Von Martens, 1869), *P. pugnax* (Poepigg, 1835), *P. promatensis* Fontoura & Conter, 2008, *P. saffordi* and *P. varicosus* Faxon, 1898. A new genus is proposed to encompass *P. nicoleti* (Philippi, 1882) from Chile, and this species is also redescribed. In addition, 10 new species are described. Identification keys, descriptions, diagnoses, synonymies and distribution maps of the genera and species are provided.

Key words: burrowing crayfish, freshwater decapods, neotropical crustaceans, parastacid, taxonomy

Introduction

The freshwater crayfishes are a conspicuous and diverse group of decapod crustaceans, worldwide distributed, except in continental Africa and Antarctica (Crandall and Buhay 2008). They are divided in two superfamilies: Astacoidea Latreille, 1882, which occurs in the northern hemisphere and is composed by the families Astacidae Latreille, 1802 and Cambaridae Hobbs, 1842; and Parastacoidea Huxley, 1879, which is composed only by the family Parastacidae Huxley, 1879 and is distributed in the southern hemisphere (Crandall and Buhay, 2008).

Parastacidae includes 15 genera and about 170 species distributed in Australia, New Zealand, New Guinea, Madagascar and South America (Crandall & Buhay, 2008; Toon *et al.* 2010). The South American parastacids are constituted by three genera, *Parastacus* Huxley, 1879 including 11 species, *Samastacus* Riek, 1971, including a single species, and *Virilastacus*, including four species (Ribeiro *et al.* 2016; 2017; Rudolph 2010; Rudolph and Crandall 2005; 2007; 2012).

A review of the taxonomic history of Parastacus

The first authors who described crayfish from South America used the generic name *Astacus* Fabricius, 1775 for all species (Poeppig 1835; H. Milne Edwards 1837; Nicolet 1849; von Martens 1869; and Philippi 1882; 1894). Poeppig (1835) mentioned a

Considerações Finais

Esta tese contribuiu para a geração de conhecimento acerca da diversidade e evolução dos lagostins de água doce da América do Sul, especialmente o gênero *Parastacus*. Especificamente, foi provida evidência para a remoção de uma espécie (*P. nicoleti*) do gênero *Parastacus*, com a subsequente criação de um novo gênero monotípico para alojar essa espécie, além da descrição de 13 espécies novas para o grupo. Essas novas entidades configuraram um aumento de mais de 150% da riqueza específica para um grupo até então bastante subestimado.

A extensiva experiência em campo e no laboratório de biologia molecular, além do estágio sanduíche no exterior, configuraram importantes passos para o amadurecimento de minha carreira como cientista. A utilização de novas ferramentas para a realização de estudos taxonômicos trazem reais ganhos para os trabalhos. Para os estudos taxonômicos com lagostins, a inclusão de uma análise de distribuição, aliada à análise do estado de conservação e análise molecular, foi essencial para o enriquecimento do trabalho.

Os dados taxonômicos e moleculares gerados nesta tese servirão como base para futuros estudos de cunho filogenéticos e biogeográficos, além de contribuir para o conhecimento da diversidade e futuras atividades de manejo e conservação das espécies.

