



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SISTEMÁTICA E EVOLUÇÃO

Filogeografia de *Rowlandius potiguar* Santos, Ferreira & Buzzato,
2013 (Arachnida: Schizomida: Hubbardiidae) nas cavernas da
Caatinga

Origilene Bezerra Dantas

Dissertação de Mestrado
Natal/RN, fevereiro de 2024

ORIGILENE BEZERRA DANTAS

**FILOGEOGRAFIA DE *ROWLANDIUS POTIGUAR* SANTOS, FERREIRA &
BUZZATO, 2013 (ARACHNIDA: SCHIZOMIDA: HUBBARDIIDAE) NAS
CAVERNAS DA CAATINGA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sistemática e Evolução da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, em cumprimento às exigências necessárias para obtenção do título de Mestre em Sistemática e Evolução.

Orientador: Dr. Sergio Maia Queiroz Lima

Coorientador: Dr. Diego de Medeiros Bento

Natal/RN

2024

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN
Sistema de Bibliotecas - SISBI

Catálogo de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Setorial Prof. Leopoldo Nelson - -Centro de Biociências - CB

Dantas, Origilene Bezerra.

Filogeografia de *Rowlandius potiguar* Santos, Ferreira & Buzzato, 2013 (Arachnida: Schizomida: Hubbardiidae) nas cavernas da Caatinga / Origilene Bezerra Dantas. - 2024.

85 f.: il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Biociências, Programa de Pós-graduação em Sistemática e Evolução. Natal, RN, 2024.

Orientação: Dr. Sergio Maia Queiroz Lima.

Coorientação: Dr. Diego de Medeiros Bento.

1. Biologia subterrânea - Dissertação. 2. Artrophoda - Dissertação. 3. Delimitação de linhagens - Dissertação. 4. Formação Jandaíra - Dissertação. 5. Taxonomia integrativa - Dissertação. I. Lima, Sergio Maia Queiroz. II. Bento, Diego de Medeiros. III. Título.

RN/UF/BSCB

CDU 573

AGRADECIMENTOS

Tenho muito a agradecer! Este momento representa um marco significativo em minha vida, e não posso deixar de expressar a profunda gratidão que sinto por todas as experiências que vivenciei e a cada pessoa que contribuiu para concretizar isso. Cada desafio superado, cada aprendizado absorvido, e cada conquista alcançada moldaram a pessoa que sou hoje. Estou imensamente grata por cada oportunidade que se apresentou, pois sei que cada experiência contribuiu para a profissional que almejo me tornar. Cada capítulo dessa trajetória foi um presente valioso, esculpindo não apenas meu conhecimento técnico, mas também meu caráter e visão de mundo.

Aos meus orientadores e amigos, Sergio e Diego, cujas contribuições foram fundamentais para o meu percurso acadêmico, profissional e pessoal. O Sergio me acompanha desde a graduação e tem sido uma fonte de inspiração, ao mostrar um olhar de esperança e beleza para a vida mesmo em meio ao caos, e um modelo de pesquisador a ser seguido, formando colaborações sólidas e importantes para a ciência. Quanto ao Diego, meu profundo agradecimento por abrir as portas para o fascinante mundo subterrâneo. Sua liderança, humanidade e paixão pelo trabalho tornaram-se um farol, iluminando meu caminho e mostrando-me a importância da excelência.

Aos meus amigos do laboratório de Ictiologia Sistemática e Evolutiva (LISE), esses anos ao lado de vocês foram uma jornada de descobertas e aprendizado, eu amo muito vocês e sentirei muita falta. Em especial, ao Luciano, por ser meu mentor quando dei os primeiros passos como cientista, que me proporcionou confiança para adentrar novos horizontes. Ao Yuri, por todos os momentos que passamos juntos, pelas trocas de experiências, conversas, desabafos e incentivos a continuar.

Ao CEBS por me acolher de forma tão calorosa, liderado por Rodrigo e Marconi, que se tornaram grandes amigos, com quem compartilhei experiências memoráveis em campo. Estou ansiosa para o próximo passo ao lado de vocês e poder contribuir para a bioespeleologia no Brasil.

Ao Leonardo, minha imensa gratidão por me receber no Laboratório de Bioecologia e Sistemática de Artrópodes, do Núcleo de História Natural (UFPI), e por compartilhar seu conhecimento, juntamente com a Iara. A parceria que estamos

construindo é de grande valor e agradeço pela colaboração. Se eu puder alcançar 1% da maestria profissional que o Leo demonstra, ficarei profundamente orgulhosa.

Aos doutores Adalberto Santos e Ivan Magalhães pela disposição em participar da banca avaliadora e contribuir de forma tão produtiva com este trabalho. Espero que nossa parceria gere bons frutos nos próximos estudos.

Ao mais novos IC's do projeto Schizomida, Rick e Gabriel, por me auxiliarem nessa reta final. Fico muito contente em transmitir o que aprendi e espero que tenham experiências enriquecedoras nesse projeto. Agradeço também ao Pedro e os meninos do Laboratório de Biologia de Fungos por me ajudarem na parte da metodologia deste trabalho.

Aos meus amigos, minha sincera gratidão por todo apoio e carinho que tornaram esta jornada ainda mais significativa. Em cada desafio, vocês foram fontes de encorajamento e inspiração. Especialmente, Nicolas, Jasse, Andrey e Anaceli por compartilharmos risos, conselhos e até mesmo o fardo das pressões cotidianas. Nossa amizade é um tesouro inestimável que levarei comigo para sempre. Obrigada por fazerem parte desta história.

Ao Hangar, por ter sido um pilar para o meu bem-estar, onde me encontrei em cada modalidade, aprendi a não desistir e a me superar em cada desafio. Mas mais que isso, o Hangar proporciona o encontro com pessoas incríveis que somam na sua vida, para a minha, não poderia deixar de citar o casal fitmore Hebert e Tainah, que se tornaram amigos queridos e referência de persistência, força e coragem. Sou muito grata por cada momento.

Ao Victor e sua família por todo suporte e motivação que me deram, vibrando cada conquista e iluminando meus dias. Amo muito vocês e quero que saibam o quanto são importantes para mim.

À minha família, por acompanhar toda a minha caminhada, sendo uma rede de apoio crucial. Cheguei até aqui por vocês!

Ao meu psicólogo Paulo por sua orientação e apoio ao longo do nosso tempo juntos. Sua dedicação e compreensão foram fundamentais para o meu processo de crescimento e autoconhecimento. Obrigada por sua paciência, *insights* e por me ajudar a

desenvolver ferramentas para lidar com as adversidades. Sua contribuição na minha vida é imensurável.

À Rede de Genética para a Conservação (REGENEC) por ter proporcionado uma experiência transformadora, onde compartilhamos conhecimento e colaboração. O tempo com vocês na cidade de Puerto Williams, no Chile, em dezembro de 2021, não apenas ampliou nossas perspectivas, mas também nos capacitou a desempenhar um papel significativo em nossas respectivas esferas de atuação.

Ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), ao Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Cavernas (CECAV), ao Parque Nacional da Furna Feia, assim como toda a equipe envolvida nas expedições que possibilitou a execução deste projeto, em especial, seu Iatangan e Geílson. A dedicação e comprometimento dessas pessoas e instituições para com a preservação da biodiversidade e a conservação de cavernas têm sido fonte de inspiração e motivação para mim. Também tenho muito a agradecer ao projeto "Filogeografia de invertebrados cavernícolas em formações ferríferas e carbonáticas", inserido no Termo de Compromisso de Compensação Espeleológica (TCCE) N° 1/2018, firmado entre o Instituto Chico Mendes e a Vale S.A e coordenado pelo Dr. Diego Bento, pois o meu trabalho é um fruto disso, ao Instituto Brasileiro de Desenvolvimento e Sustentabilidade (IABS) pelo gerenciamento de recursos e ao Instituto Tecnológico Vale (ITV) que realizou a maior parte das extrações e sequenciamento de DNA necessárias para este trabalho.

À UFRN e ao Centro de Biociências, especialmente por meio do Programa de Pós-Graduação em Sistemática e Evolução (PPGSE) por tornar tudo isso possível. E à CAPES pela bolsa. Muitíssimo obrigada!

RESUMO

A maioria das cavernas do Estado do Rio Grande do Norte (RN) está inserida nos calcários da Formação Jandaíra, na Caatinga. Essa região é considerada de alta relevância bioespeleológica, uma vez que apresenta elevada riqueza e concentração de espécies que são adaptadas aos ambientes subterrâneos. Dentre elas, estão os aracnídeos da ordem Schizomida, também conhecidos como escorpião-chicote-de-cauda-curta, cuja espécie *Rowlandius potiguar* foi registrada em 30 cavernas no oeste do RN. Essa ampla distribuição pode sugerir que se trata de uma espécie troglófila que eventualmente colonizou cavernas ao longo da Formação Jandaíra, ou um complexo de espécies troglóbias, como detectado em outros invertebrados da região. Para responder a essa questão através de uma abordagem filogeográfica, coletamos esses esquizômidos em 12 cavernas de sua distribuição conhecida, incluindo na caverna Casa de Pedra, que é o registro mais ao sul de *Rowlandius* no RN, na formação Jucurutu. Também registramos 14 novas ocorrências para o grupo na região. Análises filogeográficas e filogenéticas, usando os marcadores moleculares mitocondrial citocromo C oxidase I e nuclear rDNA 28S, indicaram que *R. potiguar* se trata de um complexo de espécies, com duas possíveis espécies novas, uma restrita à caverna Casa de Pedra (*Rowlandius* sp.n.2), e outra sustentada por dados morfológicos da genitália interna feminina e do formato do flagelo terminal no final do abdome dos machos, e que ocorre em treze cavernas (*Rowlandius* sp.n.1). Além disso, as análises filogeográficas detectaram uma estruturação de cinco populações para *R. potiguar* e de três para *Rowlandius* sp.n.1. Essas linhagens ocorrem em alopatria e não apresentaram um padrão definido de distribuição. Também destacamos que as espécies identificadas no complexo estão protegidas em áreas de conservação, como o Parque Nacional da Furna Feia, em Baraúna, e o Monumento Natural Cavernas de Martins, em Martins. No entanto, é preciso ressaltar que existem populações vulneráveis nos municípios de Governador Dix-Sept Rosado e Felipe Guerra. Com isso, propomos a atualização da distribuição geográfica de *R. potiguar*, ao passo que descobrimos que a riqueza do gênero *Rowlandius* na Caatinga é maior que se imaginava originalmente.

PALAVRAS-CHAVE: Biologia subterrânea; Artropoda; delimitação de linhagens; Formação Jandaíra; taxonomia integrativa, conservação.

ABSTRACT

Most of the caves in the State of Rio Grande do Norte (RN) are located in the limestones of the Jandaíra Formation, in the Caatinga. This region is considered to be of high biospeleological relevance, as it holds a high species richness and species adapted to underground environments. Among them are the arachnids of the order Schizomida, also known as the short-tailed whip scorpion, represented by *Rowlandius potiguar*, a species recorded in 30 caves in western RN. This wide distribution may suggest it is a troglophilic species that eventually colonized caves throughout the Jandaíra Formation, or a complex of troglobite species, as detected in other invertebrates in the region. To answer this question through a phylogeographic approach, we collected these schizomids in 12 caves of their known distribution, including the Casa de Pedra cave, which is the southernmost record of *Rowlandius* in RN, in the Jucurutu formation. We also report 14 new distribution records for the group in the region. Phylogeographic and phylogenetic analyses, using the molecular markers mitochondrial cytochrome C oxidase I and nuclear rDNA 28s, indicated that *R. potiguar* is a species complex, with two possible new species, one restricted to the Casa de Pedra cave (*Rowlandius* sp. n.2), and one from thirteen caves (*Rowlandius* sp.n.1). The latter is also supported by morphological characters of the female internal genitalia and the shape of the terminal flagellum at the end of the male abdomen. Furthermore, phylogeographic analyses detected a structure of five populations for *R. potiguar* and three for *Rowlandius* sp.n.1. These lineages occur in allopatry and did not present a defined distribution pattern. We also highlight that the species identified in the complex are protected in conservation areas, such as the Furna Feia National Park, in Baraúna, and the Cavernas de Martins Natural Monument, in Martins. However, it is important to highlight that there are vulnerable populations in the municipalities of Governador Dix-Sept Rosado and Felipe Guerra. With this, we propose updating the taxonomy and geographic distribution of *R. potiguar*, and also discovered that the schizomid species richness in the Caatinga is higher than supposed originally.

KEY-WORDS: Subterranean biology; Arthropoda; lineage delimitation; Jandaíra Formation; integrative taxonomy; conservation.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados das cavernas do estado do Rio Grande do Norte com amostragem de <i>Rowlandius</i> . *localidades no Parque Nacional da Furna Feia. +novos registros.	24
Tabela 2. Distâncias K2P das linhagens avaliadas de <i>Rowlandius</i> neste estudo a partir do gene <i>cox1</i>	35
Tabela 3. Índices de diversidade populacional e testes de neutralidade para o <i>cox1</i> de <i>Rowlandius</i> da Caatinga. (N) número de sequências, (H) número de haplótipos, (S) número de sítios polimórficos, (h) diversidade haplotípica, (π) diversidade nucleotídica. Populações de acordo com os resultados das delimitações de linhagens (Figura 2). * $p < 0.05$. Em negrito estão os maiores e menores valores de diversidade nucleotídica para cada espécie.	40
Tabela 4. Valores de Φ_{ST} para as sequências <i>cox1</i> entre as diferentes cavernas e populações de <i>Rowlandius potiguar</i> e <i>Rowlandius</i> sp.n.1, * $p < 0.05$. Entre parênteses consta o número de indivíduos.	41
Tabela 5. Teste de Análise de Variância Molecular (AMOVA) para avaliar quanto da variação genética observada nas sequências de <i>cox1</i> de <i>Rowlandius</i> da Formação Jandaíra pode ser explicada a partir da localização das cavernas em relação a barreira geográfica (Rio Apodi-Mossoró), diferentes afloramentos calcários (lajedos) e distância entre grupos de cavernas próximas (ilhas). As linhas destacadas indicam as hipóteses que melhor explicam a variação genética, * $p < 0.05$	42
Tabela 6. Comparação entre caracteres diagnósticos entre as espécies brasileiras do grupo <i>Rowlandius</i> gr. <i>dumistrocae</i>	62
Tabela 7. Sumário de modelos lineares generalizados realizados, separadamente para <i>R. potiguar</i> e <i>Rowlandius</i> sp.n.1. para investigar a relação entre o comprimento da patela do pedipalpo e seus potenciais preditores: comprimento da carapaça, comprimento da perna I e morfótipo sexual (ou seja: machos heteromórficos, machos homeomórficos e fêmeas), bem como a interação entre estas variáveis. Somente interações significativas ($p < 0.05$) são mostradas.	64
Tabela S8. Espécimes de <i>Rowlandius</i> utilizados nas análises morfológicas deste estudo.	78
Tabela S9. Amostras de <i>Rowlandius</i> utilizadas nas análises moleculares deste estudo.	79
Tabela S10. Relação de haplótipos do gene <i>cox1</i> das linhagens de <i>Rowlandius</i> avaliadas neste estudo.	81
Tabela S11. Relação de haplótipos do gene 28S das linhagens de <i>Rowlandius</i> avaliadas neste estudo.	83
Tabela S12. Dados atualizados da distribuição de <i>Rowlandius potiguar</i> nas cavernas do estado do Rio Grande do Norte. *localidades no Parque Nacional da Furna Feia. +novos registros. #localidades registradas em Bento <i>et al.</i> 2021.	83
Tabela S13. Dados da distribuição de <i>Rowlandius</i> sp n.1 nas cavernas do estado do Rio Grande do Norte. *localidades no Parque Nacional da Furna Feia.	84

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Mapa das cavernas com ocorrências já conhecidas (círculos brancos) e novos registros (quadrados pretos) de *Rowlandius* nas cavernas da Formação Jandaíra no Rio Grande do Norte. **B** – Pontos amostrados no Parque Nacional da Furna Feia. **C** – Ampliação da área com concentração de cavernas amostradas nos municípios de Felipe Guerra e Governador Dix-Sept Rosado. **D** – Coleta na caverna da Furna Feia, localizada no Parque Nacional da Furna Feia, em Baraúna. **E** – Coleta na caverna Casa de Pedra, em Martins. **F** – Coleta na Caverna do Urubu, em Felipe Guerra..... 25
- Figura 2.** Árvore filogenética de consenso resultante de inferência bayesiana com relógio molecular e testes de delimitação de linhagens utilizando o gene *cox1*. Cada barra representa um método de delimitação de linhagem. As cores representam cada clado, sendo verde para *R. potiguar*, amarelo para *Rowlandius* sp.n.2, vermelho para *Rowlandius* sp.n.1 e azul para *R. ubajara* (grupo externo). Em cada ramo da árvore é apresentada a probabilidade posterior (acima) e a idade média estimada (abaixo). As barras roxas representam os intervalos com 95% HPD para a idade estimada. 32
- Figura 3.** Árvore filogenética de consenso resultante de inferência bayesiana e testes de delimitação de linhagens utilizando o gene *28S*. Cada barra representa um método de delimitação de linhagem. As cores representam cada clado, sendo verde para *R. potiguar*, amarelo para *Rowlandius* sp.n.2, vermelho para *Rowlandius* sp.n.1 e azul para *R. ubajara*. Cada ramo da árvore apresenta valor de probabilidade posterior..... 33
- Figura 4.** **A** – Distribuição das localidades avaliadas neste estudo das linhagens de *R. potiguar* (em verde), *Rowlandius* sp. n.1 (em vermelho) e *Rowlandius* sp.n.2 (em amarelo) de acordo com os resultados das análises moleculares. **B** - Recorte da área do Parque Nacional da Furna Feia. **C** – Ampliação da área com concentração de cavernas amostradas nos municípios de Felipe Guerra e Gov. Dix-Sept Rosado..... 34
- Figura 5.** Mapa de probabilidade posterior para as linhagens de *R. potiguar*, gerados a partir dos genes *cox1* e *28s*. Cinco *clusters* distintos foram sugeridos. Cores mais escuras indicam maior probabilidade de estruturação genética. 36
- Figura 6.** Mapa de probabilidade posterior para as possíveis novas linhagens de *Rowlandius* sp.n.1 gerados a partir do gene *cox1* e *28S*. Três *clusters* distintos foram sugeridos. Cores mais escuras indicam maior probabilidade de estruturação genética. 37
- Figura 7.** **A** – Rede de haplótipos de *Rowlandius* da Caatinga feita a partir do gene *cox1*. **B** – Rede de haplótipos feita a partir do gene *28S*. 39
- Figura 8.** Genitália interna feminina de *R. potiguar* (A-D) e *Rowlandius* sp.n.1 (E-H). Localidades: **A-B** – Caverna dos Dois (CDS); **C-D** – Caverna do Trinta (CTA); **E-F** – Caverna Boa (BOA); **G-H** – Caverna do Pinga (PNG). LL: Lobos laterais; ML: Lobos medianos. Setas indicam espermatecas. Escala: 0.05mm. 43
- Figura 9.** Fotos de microscopia eletrônica de varredura (MEV) do flagelo, em vista dorsal, de machos das linhagens de *Rowlandius potiguar* (A) e *Rowlandius* sp. n. 1 (B). Localidades: **A** – Caverna da Capoeira de João Carlos (CJC); **B** – Caverna da Furna Nova (FNV). Setas indicam posição da dm1. Círculo indica projeção no processo póstero-dorsal abdominal..... 44
- Figura 10.** *Rowlandius potiguar*, holótipo macho (Gruta da Carrapateira; UFMG 3897), hábito (A-B) e flagelo (C-D), em vistas dorsal (A, D), ventral (B) e lateral (C). Escalas: 1 mm (A-B), 0.2 mm (C-D). 45
- Figura 11.** *Rowlandius potiguar*, topótipo macho (Gruta da Carrapateira; UFMG 29794), flagelo, em vistas lateral (A, B), dorsal (C) e ventral (D). Escalas: 0.2 mm. 46
- Figura 12.** *Rowlandius potiguar*, macho (A-B; Caverna Capoeira do João Carlos; ISLA 118283) e fêmea (C-D; Parque Nacional da Furna Feia; ISLA 118288), fotografia de

microscopia eletrônica de varredura do flagelo, em vistas dorsal (A, C), e ventral (B, D). Escala: 0.1 mm	46
Figura 13. Mapa atualizado da distribuição geográfica de <i>Rowlandius potiguar</i> nas cavernas do estado do Rio Grande do Norte. Números de cada localidade podem ser consultados na Tabela S12.	49
Figura 14. <i>Rowlandius</i> sp.n.1, holótipo macho heteromórfico (A-D; Caverna da Pedra Lisa; CHNUFPI 5601) e parátipo macho homeomórfico (E-H; Caverna do Urubu; CHNUFPI 5604); hábito (A-C; E-G) e pedipalpo direito, em vistas dorsal (A, E), lateral (B-F), ventral (C-G) e prolateral (D, H). Escalas: 1 mm (A-C, E-G); 0.5 mm (D, H).	50
Figura 15. <i>Rowlandius</i> sp.n.1, machos (A-D) e fêmea (E-F), fotografia de microscopia eletrônica de varredura do flagelo, em vistas dorsal (A, C-E), e ventral (B, F). A-B: Caverna Buraco Redondo (ISLA 118278); C: Caverna da Furna Nova (a depositar no ISLA); D: Caverna do Pinga (ISLA 118275); E-F: Caverna da Lapa (ISLA 118298). Nota: na imagem A o abdômen está posicionado inclinado, dificultando a observação do processo dorsoposterior em vista dorsal, que pode ser melhor visualizado na imagem D. Escalas: 0.1 mm.	51
Figura 16. <i>Rowlandius</i> sp.n.1, holótipo macho heteromórfico (Caverna da Pedra Lisa; CHNUFPI 5601), flagelo, em vistas lateral (A, B), dorsal (C) e ventral (D). Escalas: 0.2 mm.	52
Figura 17. <i>Rowlandius</i> sp.n.1, holótipo macho heteromórfico (A-B; Caverna da Pedra Lisa; CHNUFPI 5601) e parátipo macho homeomórfico (E-H; Caverna do Urubu; CHNUFPI 5604), pedipalpos (A, C-D) e quelícera esquerda (B), em vistas prolateral (A-B, D), e retrolateral (C). Escalas: 0.5 mm (A), 0.1 mm (B) e 0.25 mm (C, D).	55
Figura 18. <i>Rowlandius</i> sp.n.1, desenhos esquemáticos do flagelo do macho, em vistas dorsal (A), ventral (B) e lateral (C). Escalas: 0.1 mm.	56
Figura 19. <i>Rowlandius</i> sp.n.1, macho (A, C-D; Gruta do Pinga; parátipo, ISLA 118275) e fêmea (B; Caverna Boa; ISLA 118272), fotografia de microscopia eletrônica de varredura da quelícera esquerda e do pedipalpo, em vista prolateral. D: detalhe do poro glandular em área demarcada na figura C. Escalas: 0.1 mm (A-B), 0.05 mm (C), 0.03 mm (D).	59
Figura 20. <i>Rowlandius</i> sp.n.1, parátipo fêmea (CHNUFPI 5602; Caverna da Pedra Lisa), desenhos esquemáticos do pedipalpo esquerdo (A-B), flagelo (C-E) e da genitália (F), em vistas prolateral (A), retrolateral (B-C), ventral (D) e dorsal (E-F). ML = lobo mediano; LL = lobo laterla; G = gonópode. Escalas: 0.1 mm.	60
Figura 21. Mapa da distribuição geográfica de <i>Rowlandius</i> sp.n.1 nas cavernas do estado do Rio Grande do Norte. Números de cada localidade podem ser consultados na Tabela S13.	61
Figura 22. Relação entre o comprimento da patela do pedipalpo e o comprimento da perna I (A-C) e da carapaça (B-D), entre machos heteromórficos (linhas e círculos pretos), machos homomórficos (linhas quadrados cinza) e fêmeas (linhas e triângulos vermelhos), para <i>R. potiguar</i> (A-B) e <i>Rowlandius</i> sp.n.1 (C-D).	64
Figura 23. Distribuição de tamanhos de machos de <i>Rowlandius potiguar</i> (A-D) e <i>Rowlandius</i> sp.n.1 (E-H) incluindo indivíduos heteromórficos (barras pretas) e homomórficos (barras cinzas). Os indivíduos estão alinhados em ordem decrescente do comprimento da patela do pedipalpo, seguindo a mesma ordem em todas as figuras. A, E: comprimento da patela do pedipalpo; B, F: comprimento do fêmur do pedipalpo; C-G: comprimento da carapaça; D-H: comprimento da perna I. Todas as medidas estão em milímetros.	65
Figura S24. Mapa da distribuição geográfica conhecida de <i>Rowlandius potiguar</i> nas cavernas do estado do Rio Grande do Norte, anteriormente a este estudo. A – Cavernas em diferentes municípios. B – Localidades no Parque Nacional da Furna. C – Ampliação da área com concentração de cavernas nos municípios de Felipe Guerra e Gov. Dix-Sept Rosado.	75
Figura S25. Árvore filogenética de consenso resultante de inferência bayesiana utilizando dados multilocus (cox1 e 28S). As cores representam cada clado, sendo verde para <i>R. potiguar</i> ,	

amarelo para *Rowlandius* sp.n.2, vermelho para *Rowlandius* sp.n.1 e azul para *R. ubajara*. Cada ramo da árvore apresenta valor de probabilidade posterior..... 76

Figura S26. *R. potiguar* (A-D) e *Rowlandius* sp.n.1 (E-H), variação da genitália feminina, vista dorsal. A: Gruta da Carrapateira, localidade-tipo de *R. potiguar*; B: Caverna dos Dois; C: Caverna Capoeira de João Carlos; D: Gruta do Crotes (ISLA 1827); E: Caverna Pedra Lisa, localidade-tipo de *Rowlandius* sp.n.1; F: Caverna Boa; G: Caverna Buraco Redondo; H: Gruta do Pinga. Imagens fora de escala. 77

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	13
2. OBJETIVOS	16
2.1. Objetivo geral	16
2.2. Objetivos específicos	16
3. HIPÓTESE E PREDIÇÕES	16
3.1. Hipótese Geral	16
3.2. Predições	16
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
5. CAPÍTULO 1 – Filogeografia do esquizômido cavernícola <i>Rowlandius potiguar</i> Santos, Ferreira & Buzzato, 2013 (Arachnida: Schizomida: Hubbardiidae) e descrição de uma nova espécie	20
5.1 ABSTRACT	20
5.2. RESUMO	20
5.3. INTRODUÇÃO	21
5.4. MATERIAL E MÉTODO	23
5.4.1. Área de estudo	23
5.4.2. Coleta de Schizomida	26
5.4.3. Extração, amplificação e sequenciamento do DNA	26
5.4.4. Análise de dados moleculares	27
5.4.5. Análise de dados morfológicos	28
5.4.6. Descrição taxonômica	29
5.4.7. Dimorfismo sexual em <i>Rowlandius</i>	30
5.5 RESULTADOS	31
5.5.1. Análises filogenéticas e delimitação de linhagens	31
5.5.2. Distâncias genéticas	34
5.5.3. Estrutura populacional	35
5.5.4. Análises morfológicas	42
5.5.5. Taxonomia	45
5.5.6. Dimorfismo sexual	63
5.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
5.8. MATERIAL SUPLEMENTAR	75
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	85

1. INTRODUÇÃO GERAL

De acordo com Juberthie (2000), considera-se como caverna a cavidade natural subterrânea, formada por rocha maciça, preenchida por água ou ar e que possui dimensão acessível ao ser humano. Além de estarem interconectadas a outros ambientes do subsolo, constituindo um sistema funcional único (Howarth, 1983), as cavernas têm como características gerais a ausência permanente de luz, alta umidade e temperatura relativamente constante nas regiões distantes das aberturas (Culver, 2013).

O ambiente cavernícola (hipógeo) já foi considerado como um ambiente oligotrófico por apresentar características que resultam em um regime seletivo diferenciado (Jiang *et al.* 2017). Um dos fatores é a baixa disponibilidade de alimento, uma vez que a ausência de luz impossibilita a presença de organismos fotossintetizantes, logo, os recursos alimentares são de origem alóctone (Ferreira *et al.* 2007). Esses recursos são levados para a caverna por agentes físicos (ex: ventos, rios, águas que percolam o teto ou paredes) e biológicos, principalmente por animais que entram na caverna acidentalmente ou que a utilizam como abrigo (ex: morcegos). Ainda mais, fezes e carcaças de animais visitantes são importantes fontes de nutrientes para microrganismos e artrópodes, especialmente em cavernas secas como é o caso da maior parte das cavernas do Rio Grande do Norte (RN) (Bento *et al.* 2016).

No Brasil foram identificadas mais de 23 mil cavernas, mas apenas 33% delas estão em unidades de conservação (CANIE/CECAV, 2022). Além disso, o Rio Grande do Norte (RN) se destaca como o quarto Estado brasileiro com mais cavidades subterrâneas conhecidas (1.372), a maioria nos calcários do Grupo Apodi/Formação Jandaíra. Estudos também apontam que o RN, principalmente a região oeste, é considerada de alta relevância bioespeleológica por apresentar elevada riqueza de espécies de invertebrados troglóbios (espécies restritas a ambientes subterrâneos), incluindo os únicos estiogóbios (troglóbios aquáticos) relictos oceânicos registrados no país (Bento *et al.* 2021).

Os organismos encontrados no ambiente subterrâneo podem utilizar a caverna como abrigo diurno ou noturno (troglógenos), outros podem completar seu ciclo de vida dentro ou fora das cavernas (troglófilos) ou, ainda, serem restritos ao ambiente hipógeo (troglóbios) (Culver, 2013). Os troglóbios apresentam especializações morfológicas (alongamento de apêndices, redução de estruturas oculares e de pigmentação),

fisiológicas e comportamentais, como resultado das pressões seletivas existentes nesses ambientes ou da ausência de pressões típicas de ambientes superficiais (Sket, 2008). Tais especializações em troglóbios podem reduzir sua capacidade dispersiva, ocasionando o isolamento de linhagens e eventos de especiação. Por isso, os troglóbios frequentemente apresentam uma distribuição geográfica restrita, elevados níveis de endemismo e são potencialmente vulneráveis à extinção (Gilbert *et al.*, 2002).

Entre as espécies que possuem o ambiente hipógeo como um de seus *habitats*, estão os aracnídeos da ordem Schizomida, conhecidos como escorpiões-chicote-de-cauda-curta, com 372 espécies descritas, a maioria da região Neotropical (World Schizomida Catalog, 2022). Eles possuem tamanho pequeno (entre 1 e 5 mm de comprimento), apresentam pedipalpos raptorais que utilizam para predação de pequenos invertebrados, e primeiro par de pernas mais alongado e com função sensorial. Além disso, o flagelo no final do abdome em machos é uma característica diagnóstica entre espécies. Também apresentam cutícula relativamente fina, o que os torna sensíveis à desidratação. Logo, o ambiente hipógeo é adequado para esses aracnídeos (Reddell & Cokendolpher, 1995; Oliveira & Ferreira, 2014).

O gênero *Rowlandius* Reddell & Cokendolpher, 1995 apresenta um pouco mais de 60 espécies descritas (Reddell e Cokendolpher 1995; Armas, 2002; Teruel *et al.* 2012; Santos *et al.* 2013; Giupponi *et al.*, 2016), a maioria encontrada nas ilhas do Caribe, em florestas tropicais e cavernas. Na América do Sul, o gênero é representado por *R. arduus* Armas, Villareal & Colmenares, 2009 da floresta tropical na Venezuela (Armas *et al.*, 2009), *R. sul* Cokendolpher & Reddell, 2000 da floresta na Amazônia Oriental no Brasil (Cokendolpher & Reddell, 2000), *R. linsduarteae* Santos, Dias, Brescovit & Santos, 2008 da Mata Atlântica no nordeste do Brasil, registrada no Jardim Botânico Benjamim Maranhão na Paraíba (Santos *et al.*, 2008), além de três espécies da Caatinga, *R. potiguar* Santos, Ferreira & Buzzato, 2013, das cavernas da região oeste do RN, *R. ubajara* Santos, Ferreira & Buzzato, 2013 conhecida de uma caverna no Parque Nacional de Ubajara, e *R. pedrosoi* Giupponi, Miranda & Villareal, 2016, de uma caverna no município de Santa Quitéria, ambas do Ceará (Santos *et al.*, 2013; Giupponi *et al.*, 2016).

Rowlandius potiguar Santos, Ferreira & Buzzato, 2013 foi inicialmente registrada em 20 cavernas da região da Formação Jandaíra, incluindo no Parque Nacional da Fumaça ao norte, e na caverna Casa de Pedra no município de Martins seu registro mais ao

sul (Santos *et al.*, 2013). Em seguida, a distribuição de *R. potiguar* foi atualizada, com ocorrência em mais dez cavernas, totalizando 30 localidades (Bento *et al.* 2021).

Atualmente, o estado de conservação destas espécies é variado, com *R. ubajara* classificada como criticamente em perigo (CR), *R. potiguar* como quase ameaçada (NT), *R. linsduarteae* como menos preocupante (LC), e *R. pedrosoi* não foi avaliada (SALVE, 2023). No caso de *R. potiguar*, embora algumas cavernas estejam protegidas no Parque Nacional da Furna Feia (Brasil, 2012), a área com maior concentração de cavernas, nos municípios de Felipe Guerra e Governador Dix-Sept Rosado a espécie está fora de unidades de conservação mesmo sendo esta uma área considerada de alta relevância bioespeológica (Bento *et al.* 2021).

A ampla distribuição de *R. potiguar*, em uma região atualmente semiárida marcada por mudanças paleoclimáticas (Santos *et al.* 2007) faz desta espécie um bom modelo para testar padrões evolutivos e de diversificação em ambientes subterrâneos terrestres na Caatinga. Estudos moleculares recentes com outros invertebrados que ocorrem na mesma região, indicaram que a cigarrinha troglóbia *Kinnapotiguara troglobia* (Hoch & Ferreira 2013; Bento, 2021) e o grilo *Endecous potiguar* Castro-Souza, 2017, são complexos de espécies. No caso de *K. troglobia*, identificou-se estruturação populacional extrema e o possível papel do rio Apodi-Mossoró como barreira geográfica, assim como o isolamento de linhagens em cavernas de diferentes afloramentos calcários (lajedos). Quanto a *E. potiguar*, foram identificados quatro agrupamentos populacionais que também reforçam o possível papel do rio Apodi-Mossoró como barreira geográfica (Bento, 2021; Costa, 2022).

Assim, com base nos resultados encontrados para invertebrados cavernícolas coexistentes, como *K. troglobia* e *E. potiguar*, é possível que *R. potiguar* apresente um padrão similar, com espécies não descritas e alta estruturação genética ao longo da sua distribuição. Então, por meio de estudo filogeográfico, objetivamos compreender a evolução e distribuição das linhagens ao longo do tempo, bem como analisar as relações genéticas entre populações e entender como fatores geográficos influenciaram seu desenvolvimento (Cunha & Solé, 2012). Por fim, pretendemos descrever eventuais espécies novas usando tanto os dados moleculares quanto morfológicos, atualizar a distribuição geográfica das espécies e fornecer comentários sobre a conservação das mesmas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar, por meio de uma abordagem filogenética e filogeográfica, a distribuição de *Rowlandius potiguar* nas cavernas da formação Jandaíra, explicando os padrões e processos evolutivos envolvidos, e descrever eventuais espécies novas.

2.2. Objetivos específicos

- Delimitar linhagens de *R. potiguar* utilizando sequências de DNA mitocondrial e nuclear;
- estimar o tempo de divergência entre as linhagens e o padrão de estruturação gênica de cada espécie, para compreender os processos evolutivos;
- fornecer informações ecológico-evolutivas de *R. potiguar*, ou seja, se é uma espécie troglóbia, composta por algumas espécies; ou troglófila com uma espécie com ampla distribuição geográfica;
- se identificadas possíveis novas espécies, fornecer informações taxonômicas para sua descrição;

3. HIPÓTESE E PREDIÇÕES

3.1. Hipótese Geral

A hipótese geral deste projeto é de que há linhagens distintas de *R. potiguar* ao longo da sua distribuição geográfica, com possível origem a partir de mudanças climáticas préteritas na atual região da Caatinga durante os períodos entre o Mioceno e Plioceno sendo, portanto, um complexo de espécies.

3.2. Predições

- As divergências mais profundas correspondem aos eventos estimados entre o Mioceno e o Plioceno;
- espera-se observar grupos monofiléticos em cada caverna e/ou afloramentos calcários (lajedos);
- há linhagens de *R. potiguar* com altos índices de fixação entre as diferentes cavernas e indicação de contração populacional com o progressivo aumento da temperatura e isolamento nas cavernas da Caatinga após o último máximo glacial.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Armas, L. D. 2002. Nuevas especies de *Rowlandius* Reddell & Cokendolpher, 1995 (Schizomida: Hubbardiidae) de Cuba. **Revista Ibérica de Aracnología**, 6, 149-167.

Armas, L. D. et al. 2009. Nuevo *Rowlandius* Reddell & Cokendolpher, 1995 (Schizomida: Hubbardiidae) de la Sierra San Luis, Venezuela noroccidental. **Papéis Avulsos de Zoologia**, 49, 361-368.

Bento, D.D.M. A. et al. 2016. Seasonal variations in cave invertebrate communities in the semiarid Caatinga, Brazil. **Journal of Cave and Karst Studies**, v. 78, n. 2, p. 61-71.

Bento, D.D.M. et al. 2021. Subterranean “oasis” in the Brazilian semiarid region: neglected sources of biodiversity. **Biodiversity and Conservation**, v. 30, n. 13, p. 3837-3857.

Bento, D. D. M. 2021. **Filogeografia de artrópodes troglóbios do Oeste da formação Jandaíra, Nordeste do Brasil: evolução e conectividade biológica em ambientes subterrâneos como base para ações de conservação**. Tese. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

Brasil. Decreto de 5 de junho de 2012. Dispõe sobre a criação do Parque Nacional da Furna Feia, nos municípios de Baraúna e Mossoró, Estado do Rio Grande do Norte. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 06 jun. 2012.

CANIE/CECAV. 2022. **Cadastro Nacional de Informações Espeleológicas**. Disponível em: <<https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/centros-de-pesquisa/cecav/cadastro-nacional-de-informacoes-espeleologicas/canie>>. Acesso em 4 maio de 2023.

Cokendolpher, J. C., & Reddell, J. R. 2000. New and rare Schizomida (Arachnida: Hubbardiidae) from South America. **Amazoniana: Limnologia et Oecologia Regionalis Systematis Fluminis Amazonas**, 16(1-2), 187-212.

Costa, N. K. R. D. 2022. **Filogeografia do grilo *Endecous potiguar* Castro-Souza, Zefa & Ferreira, 2017 (Orthoptera, Phalangopsidae): investigação de linhagens crípticas em cavernas na formação Jandaíra**. Dissertação. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

Culver, D.C. 2013. Cave life. **Harvard University Press**.

- Cunha, H. A. & Solé, C. A. M. 2012. Análise filogeográfica. In: MATIOLI, S. R.; Fernandes, F. M. C. **Biologia molecular e evolução**. 2. ed. São Paulo: Holos Editora, p. 250-250.
- Ferreira, R. L. et al. 2007. Structure of bat guano communities in a dry Brazilian cave. **Tropical Zoology**, v. 20, n. 1, p. 55-74.
- Gibert, J. et al. 2002. Subterranean Ecosystems: A Truncated Functional Biodiversity. **BioScience**, v. 52, n. 6, p. 473-481.
- Giupponi, A. P. et al. 2016. *Rowlandius dumitrescoae* species group: new diagnosis, key and description of new cave-dwelling species from Brazil (Schizomida, Hubbardiidae). **ZooKeys**, (632), 13.
- Hoch, H., & Ferreira, R. L. 2013. *Potiguara troglobia* gen. n., sp. n.—first record of a troglobitic Kinnaridae from Brazil (Hemiptera: Fulgoromorpha). **Deutsche Entomologische Zeitschrift**, 60(1), 33-40.
- Howarth, F. G. 1983. Ecology of cave arthropods. **Annual review of entomology**, 28(1), 365-389.
- Jiang, J. R. et al. 2017. Oligotrophic fungi from a carbonate cave, with three new species of *Cephalotrichum*. **Mycology**, v. 8, n. 3, p. 164-177.
- Juberthie, C. 2000. The diversity of the karstic and pseudokarstic hypogean habitats in the world. **Subterranean Ecosystems**.
- Oliveira, M. P. A. D., & Ferreira, R. L. 2014. Aspects of the behavior and activity rhythms of *Rowlandius potiguar* (Schizomida: Hubbardiidae). **PLoS One**, 9(3), e91913.
- Reddell, J.R. & Cokendolpher J.C. 1995. **Catalogue, bibliography, and generic revision of the order Schizomida (Arachnida)**. Texas Memorial Museum, College of Natural Sciences, University of Texas at Austin.
- Sistema de Avaliação do Risco de Extinção da Biodiversidade – SALVE. ICMBio, 2023. Disponível em: <https://salve.icmbio.gov.br/>. Acesso em: 30 de nov. de 2023.
- Santos, A. M. M., et al. 2007. Biogeographical relationships among tropical forests in north-eastern Brazil. **Journal of biogeography**, 34(3), 437-446.

Santos, A.J. et al. 2008. The arachnid order Schizomida in the Brazilian Atlantic Forest: a new species of *Rowlandius* and new records of *Stenochrus portoricensis* (Schizomida: Hubbardiidae). **Zootaxa**, v. 1850, n. 1, p. 53-60.

Santos, A.J. et al. 2013. Two new cave-dwelling species of the short-tailed whipscorpion genus *Rowlandius* (Arachnida: Schizomida: Hubbardiidae) from Northeastern Brazil, with comments on male dimorphism. **Plos One**, v. 8, n. 5, p. e63616.

Sket, B. 2008. Can we agree on an ecological classification of subterranean animals?. **Journal of Natural History**, v. 42, n. 21-22, p. 1549-1563.

Teruel, R. et al. 2012. De cuatro nuevos *Rowlandius* Reddell & Cokendolpher 1995 (schizomida: hubbardiidae). **Revista Ibérica de Aracnología** 21: 97–112.

World Schizomida Catalog. 2022. World Schizomida Catalog. **Natural History Museum Bern**. Disponível em: <http://wac.nmbe.ch>. Acesso em 27 de fev. de 2024.

5. CAPÍTULO 1 – Filogeografia do esquizômido cavernícola *Rowlandius potiguar* Santos, Ferreira & Buzzato, 2013 (Arachnida: Schizomida: Hubbardiidae) e descrição de uma nova espécie

5.1 ABSTRACT

This study investigated, using a phylogeographic approach, the distribution of the species *Rowlandius potiguar*, which occurs in the western region of Rio Grande do Norte (RN), an area of high biospeleological relevance, but with the majority of caves still unprotected. We collected these schizomids in 26 locations, of which 14 are new records for the taxon. Molecular analyses using the molecular markers cytochrome C oxidase I and rDNA 28s indicated that *R. potiguar* is a species complex, with two possible new species, none in sympatry. *R. potiguar* was recorded in 33 caves, *Rowlandius* sp. n. 1 was found in thirteen caves in the Jandaíra Formation, and *Rowlandius* sp. n. 2 restricted to the Casa de Pedra cave in the Jucurutu Formation, south of the Jandaíra Formation. *Rowlandius* sp. n. 1 is also supported by morphological analyses of the female internal genitalia and the shape of the male terminal flagellum. Furthermore, the species identified in the complex have localities within protected areas, such as the Furna Feia National Park, in Baraúna, for *R. potiguar* and *Rowlandius* sp.n.1, and the Cavernas de Martins Natural Monument, in Martins, for *Rowlandius* sp.n.2. However, it is important to highlight that there are populations outside protected areas in the municipalities of Governador Dix-Sept Rosado and Felipe Guerra. We propose updating the taxonomy and geographic distribution of *R. potiguar*, while suggesting a higher than supposed species richness of the genus *Rowlandius* in the Caatinga.

KEY-WORDS: Subterranean biology; arthropoda; lineage delimitation; Jandaíra Formation; integrative taxonomy.

5.2. RESUMO

Este estudo investigou por meio de uma abordagem filogeográfica a distribuição da espécie *Rowlandius potiguar*, que ocorre na região oeste do Rio Grande do Norte (RN), uma área de alta relevância bioespeleológica, mas com a maioria das cavernas ainda desprotegidas. Coletamos esses esquizômidos em 26 localidades, incluindo 14 registros inéditos para o táxon. As análises moleculares usando os marcadores moleculares citocromo C oxidase I e rDNA 28S, indicaram que *R. potiguar* se trata de um complexo de espécies, com duas possíveis espécies novas, nenhuma em simpatria. *R. potiguar* foi

registrada em 33 cavernas, *Rowlandius* sp.n.1 encontrada em treze cavernas na Formação Jandaíra, e *Rowlandius* sp.n.2 restrita à caverna Casa de Pedra na Formação Jucurutu, ao sul da Formação Jandaíra. *Rowlandius* sp.n.1 é sustentada também por análises morfológicas da genitália interna feminina e da estrutura diagnóstica ao final do abdome em machos. Além disso, as espécies identificadas no complexo possuem localidades dentro de áreas protegidas, como o Parque Nacional da Furna Feia, em Baraúna, para *R. potiguar* e *Rowlandius* sp.n.1, e o Monumento Natural Cavernas de Martins, em Martins, para *Rowlandius* sp.n.2. No entanto, é preciso ressaltar que existem populações fora de áreas protegidas nos municípios de Governador Dix-Sept Rosado e Felipe Guerra. A partir disso, propomos a atualização da taxonomia e distribuição geográfica de *R. potiguar*, ao passo que sugerimos o aumento da riqueza do gênero *Rowlandius* na Caatinga.

PALAVRAS-CHAVE: Biologia subterrânea; Artrophoda; delimitação de linhagens; Formação Jandaíra; taxonomia integrativa.

5.3. INTRODUÇÃO

O gênero Neotropical mais diversificado da ordem Schizomida, *Rowlandius* Reddell & Cokendolpher, 1995, apresenta mais de 60 espécies válidas descritas (Reddell e Cokendolpher 1995; Armas, 2002; Teruel *et al.* 2012; Santos *et al.* 2013; Giupponi *et al.*, 2016). Ocorre de Cuba até o Brasil, sendo que a maioria das espécies é encontrada nas ilhas do Caribe, em florestas tropicais e cavernas. Na América do Sul, o gênero é representado por seis espécies em diferentes biomas: *R. arduus* Armas, Villareal & Colmenares, 2009 da floresta tropical na Venezuela (Armas *et al.*, 2009), *R. sul* Cokendolpher & Reddell, 2000 da Amazônia Oriental (Cokendolpher & Reddell, 2000), *R. linsduarteae* Santos, Dias, Brescovit & Santos, 2008 da Mata Atlântica no Nordeste do Brasil (Santos *et al.*, 2008), e três espécies da Caatinga, *R. potiguar* Santos, Ferreira & Buzzato, 2013 das cavernas da região Oeste do Rio Grande do Norte, *R. ubajara* Santos, Ferreira & Buzzato, 2013 de uma caverna no Parque Nacional de Ubajara, e *R. pedrosoi* Giupponi, Miranda & Villareal, 2016 de uma caverna no município de Santa Quitéria, ambas do Ceará (Santos *et al.*, 2013; Giupponi *et al.*, 2016).

Esses esquizômidos são conhecidos por poucos espécimes em outras regiões, em parte devido à sua ocorrência em *habitats* mal amostrados como cavernas, serrapilheira, ninhos de cupins e de formigas (Santos *et al.* 2008; Reddell & Cokendolpher, 1995). Em

contrapartida, *R. potiguar* é conhecida de 30 cavernas da região oeste da Formação Jandaíra, com registros no Parque Nacional da Furna Feia, e localidade-tipo na Gruta da Carrapateira, no município de Felipe Guerra (Figura S24), fora de unidade de conservação, e atualmente classificada como “quase ameaçada” (SALVE, 2023).

Estudos morfológicos de *Rowlandius* abrem a discussão de que a ausência de olhos pode ser considerada como um traço troglomórfico nesse gênero (Santos *et al.* 2013). Com isso, associar características pré-adaptadas ao ambiente hipógeo (*e.g.* olhos ausentes, apêndices mais alongados com função sensorial e sensibilidade à umidade) à distribuição ampla para uma espécie cavernícola desperta o questionamento de que *R. potiguar* poderia se tratar de um complexo de espécies. Além disso, estudos moleculares filogenéticos e filogeográficos têm revelado a diversidade críptica em espécies de aracnídeos amplamente distribuída em cavernas da China (Zhang & Li, 2014) e do Texas (Hedin, 2015). No estudo de Zhang & Li (2014), a análise dos dados moleculares do complexo *Telema cucurbitina*, uma aranha troglóbia que ocorre em 16 cavernas isoladas no continente asiático, revelou por meio das análises filogenéticas e filogeográficas 15 novas espécies crípticas ou populações de cavernas com divergência genética elevada e ausência de haplótipos compartilhados. Um padrão similar pode ser esperado para *R. potiguar*, visto sua ampla distribuição em cavernas distantes e sensibilidade à umidade.

Essa diversidade críptica poderia ser explicada devido às mudanças climáticas pretéritas na atual região da Caatinga, como a alternância de climas úmidos e secos durante os períodos glaciais do Quaternário que resultou na expansão e retração das florestas (Conti & Furlan, 2003). Os estudos desses eventos paleoclimáticos sugerem que nos períodos úmidos formaram-se corredores entre a Amazônia e a Mata Atlântica (Wang *et al.* 2004). Logo, a distribuição de linhagens de *R. potiguar* pode estar relacionada a esses eventos climáticos, com dispersão dos ancestrais epígeos em períodos mais úmidos e posterior isolamento das populações ancestrais no ambiente subterrâneo, como forma de refúgio, ao passo que se estabeleceram climas mais secos. Assim, esperamos encontrar linhagens separadas há pelo menos centenas de milhares de anos, que devem ser espécies distintas, bem como espécies com ocorrência em cavernas próximas, mas estruturadas, sugerindo um isolamento populacional mais recente. Também esperamos encontrar indícios de contração populacional indicando o isolamento em cavernas com menos recursos e clima mais úmido do que na superfície.

Portanto, este estudo pretende explorar a história evolutiva do esquizômido cavernícola *R. potiguar* ao longo de toda a sua distribuição conhecida, investigando possíveis complexos de espécies alopátricas e identificando as possíveis barreiras geográficas envolvidas. De acordo com o padrão de estruturação genética, será possível inferir se a espécie está restrita ao ambiente subterrâneo ou se é capaz de se estabelecer também em ambientes superficiais. Por fim, a partir dos resultados, objetivamos gerar subsídios para a descrição das possíveis novas espécies e a avaliação dos seus riscos de extinção, bem como propor estratégias para conservação desses esquizômidos da Caatinga.

5.4. MATERIAL E MÉTODO

5.4.1. Área de estudo

Os espécimes usados neste estudo foram coletados em cavernas inseridas nos calcários da Formação Jandaíra, no RN, nos municípios de Mossoró, Baraúna, Felipe Guerra, Governador Dix-Sept Rosado e Apodi. Também foram realizadas coletas na caverna Casa de Pedra, que está inserida nos mármores da Formação Jucurutu, em Martins (Tabela 1, Figura 1).

A área de estudo pode ser subdividida em duas regiões hidrográficas e geologicamente distintas. As cavernas dos municípios de Mossoró, Felipe Guerra, Governador Dix-Sept Rosado, Apodi e Martins estão localizadas na bacia do rio Apodi-Mossoró. Esse rio e seus afluentes apresentam um nível de base, ou seja, o ponto mais baixo que o curso d'água pode erodir, que condiciona a espeleogênese (formação) dessas cavernas e delimita os processos de carstificação (características) na área. Já as cavernas do município de Baraúna estão localizadas na Faixa Litorânea Norte de Escoramento Difuso, encontradas próximas à bacia do rio Jaguaribe. Essas áreas correspondem a um soerguimento tectônico, onde a espeleogênese está ligada ao fluxo hidrodinâmico para a zona de descarga a oeste da Serra Mossoró, combinado ao intenso fraturamento e falhamento das rochas (Maia *et al.*, 2012).

A região se encontra na Caatinga, cuja vegetação consiste em um mosaico de arbustos espinhosos e florestas sazonalmente secas que cobrem a maior parte da região Nordeste, sendo o único bioma exclusivamente brasileiro (Silva *et al.* 2004). Parte da área de estudo, em Felipe Guerra e Gov. Dix-Sept Rosado, é considerada de importância biológica muito alta e prioritária para a conservação da Caatinga (MMA, 2018).

Tabela 1. Dados das cavernas do estado do Rio Grande do Norte com amostragem de *Rowlandius*. *localidades no Parque Nacional da Furna Feia. +novos registros.

Nº	Sigla	Caverna	Lajedo	Município	Coordenada SIRGAS (2000)	
					Latitude (S)	Longitude (O)
1	CTA	Trinta	Trinta de Setembro	Mossoró	05°12'44.2"	37°15'50.8"
2	JAV	Javan 1+	Javan	Mossoró	05°01'17.6"	37°25'39.0"
3	GIA	Gias+	Javan	Mossoró	05°01'20.2"	37°25'38.9"
4	PDL	Pedra Lisa*+	Pedra Lisa	Baraúna	05°02'43.8"	37°31'18.9"
5	PNG	Pinga*	Pinga	Baraúna	05°03'08.1"	37°32'23.0"
6	FFA	Furna Feia*	Furna Feia	Baraúna	05°02'12.8"	37°33'36.6"
7	MCC	Macacos*	Furna Feia	Baraúna	05°02'19.8"	37°33'41.3"
8	FNV	Furna Nova*+	Furna Nova	Baraúna	05°02'03.2"	37°34'16.2"
9	ODC	Olho D'água do Cedro+	Cedro	Mossoró	05°12'39.7"	37°43'35.9"
10	PCF	Furna do Poço Feio+	Bonito	Gov. Dix-Sept Rosado	05°29'15.5"	37°33'33.4"
11	CTB	Teto Baixo+	Dos Angicos	Gov. Dix-Sept Rosado	05°29'44.0"	37°33'01.4"
12	SN9	SN9+	Dos Angicos	Gov. Dix-Sept Rosado	05°29'41.3"	37°32'41.7"
13	CJC	Capoeira de João Carlos	Ramadinha	Gov, Dix-Sept Rosado	05°30'57.0"	37°31'41.4"
14	ARA	Arapuá	Do Arapuá	Felipe Guerra	05°31'48.3"	37°36'58.5"
15	QJF	Dos Que Já Foram+	Da Lapa	Felipe Guerra	05°32'47.7"	37°39'59.8"
16	CRO	Crotes	Do Rosário	Felipe Guerra	05°33'37.9"	37°39'30.9"
17	CAR	Carrapateira	Do Rosário	Felipe Guerra	05°33'38.4"	37°39'50.2"
18	CDS	Dos Dois+	Do Alfredo	Felipe Guerra	05°34'06.5"	37°40'50.4"
19	LPI	Lapa I	Da Lapa	Felipe Guerra	05°33'41.9"	37°41'42.3"
20	BOA	Boa+	Da Lapa	Felipe Guerra	05°33'59.5"	37°41'52.4"
21	URU	Urubu	Do Meio	Felipe Guerra	05°34'23.0"	37°39'08.7"
22	BRD	Buraco Redondo	Do Meio	Felipe Guerra	05°34'43.0"	37°39'05.0"
23	PAU	Pau+	Brejo	Felipe Guerra	05°35'34.3"	37°41'14.8"
24	TLG	Três Lagos+	Brejo	Felipe Guerra	05°35'34.4"	37°41'12.7"
25	RON	Roncador+	Soledade	Apodi	05°35'51.8"	37°49'40.7"
26	CPD	Casa de Pedra	Trincheiras	Martins	06°04'16.2"	37°53'03.1"

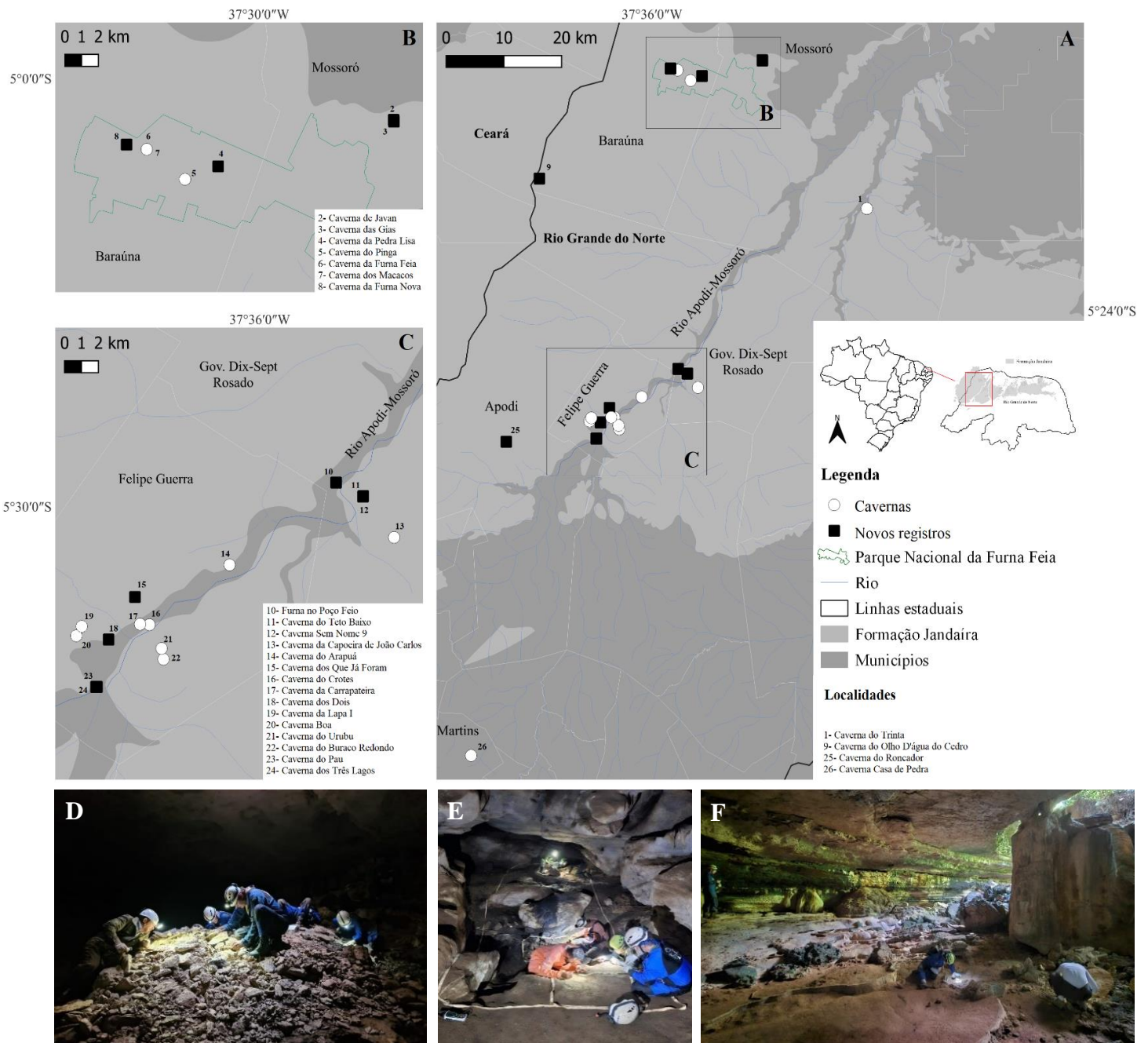


Figura 1. Mapa das cavernas com ocorrências já conhecidas (círculos brancos) e novos registros (quadrados pretos) de *Rowlandius* nas cavernas da Formação Jandaíra no Rio Grande do Norte. **B** – Pontos amostrados no Parque Nacional da Furna Feia. **C** – Ampliação da área com concentração de cavernas amostradas nos municípios de Felipe Guerra e Governador Dix-Sept Rosado. **D** – Coleta na caverna da Furna Feia, localizada no Parque Nacional da Furna Feia, em Baraúna. **E** – Coleta na caverna Casa de Pedra, em Martins. **F** – Coleta na Caverna do Urubu, em Felipe Guerra

5.4.2. Coleta de Schizomida

A maior parte dos esquizômidos utilizados nesse estudo foram coletados manualmente entre 2021 e 2023, com o uso de pincéis, mediante procura visual detalhada em todos os potenciais ambientes para estes organismos, como depósitos de guano, espaços sob rochas, folhiço e em locais úmidos (Santos *et al.* 2013). Após coletados, os exemplares foram fixados em etanol absoluto P.A., e acondicionados em recipientes térmicos durante o transporte desde o local de coleta até o laboratório, sendo condicionados em refrigerador durante esse intervalo. Também foram realizadas coletas no ambiente epígeo, em locais próximos das cavernas a fim de verificar sua ocorrência na superfície. Também coletamos *R. ubajara*, em cavernas do Ceará, para ser material comparativo e grupo externo. A licença utilizada foi do SISBIO/ICMBio (nº 54334-11) e os exemplares foram separados em lotes por caverna e expedição, sendo individualizados somente os exemplares separados para as análises moleculares. Todo o material coletado foi depositado nas coleções de História Natural da Universidade Federal do Piauí (CHNUFPI), em Floriano no Piauí, e de Invertebrados Subterrâneos de Lavras (ISLA), da Universidade Federal de Lavras, em Minas Gerais (Tabela S8 Tabela S9).

5.4.3. Extração, amplificação e sequenciamento do DNA

Para as análises moleculares foi extraído o DNA total dos espécimes inteiros utilizando o kit *DNeasy Blood & Tissue Kit* (Qiagen) conforme as instruções do fabricante. As sequências dos marcadores mitocondriais e nucleares foram amplificadas por reação em cadeia da polimerase (PCR), sendo obtidas sequências parciais do gene mitocondrial citocromo C oxidase I (*coxI*) com *primers* LCO-1490 e HCO-2198 (Folmer *et al.*, 1994). Já para as sequências do gene nuclear RNA ribossomal subunidade 28S, utilizamos os *primers* 28S_DIF e 28Sb (Framenau *et al.* 2018). Para o gene *coxI*, a PCR seguiu tais condições: desnaturação inicial a 94° C por 4 minutos, 35 ciclos de desnaturação a 94° C por 1 minuto, anelamento a 45° C por 1 minuto, extensão a 72° C por 2.5 minutos e uma etapa final de extensão de 7 minutos a 72° C. Para o 28S as etapas foram: desnaturação inicial a 95° C por 5 minutos, 35 ciclos de 95° C por 30 segundos, anelamento de 55° C por 30 segundos e 72° C por 60 segundos, com extensão final de 72° C por 10 minutos. Os produtos de PCR foram visualizados em gel de agarose 1.2%.

Após a amplificação, os produtos de PCR foram purificados por EDTA/Acetato de sódio/etanol. Por fim, tais produtos foram analisados em um sequenciador de DNA

automático, modelo ABI 3730-*Genetic Analyzer* (Applied Biosystems). Para o sequenciamento foi utilizado o kit “*Big Dye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction*” (Applied Biosystems). As etapas de extração e sequenciamento de DNA foram realizadas no Instituto Tecnológico Vale – Desenvolvimento Sustentável, em Belém no Pará.

5.4.4. Análise de dados moleculares

As sequências consenso foram montadas utilizando o *software Geneious Prime* (<https://www.geneious.com/>), alinhadas usando o *software ClustalW* (Thompson *et al.* 1994) implementado no MEGA 11.0 (Tamura *et al.* 2021), pelo qual foram estimadas as distâncias genéticas. Para as sequências do gene nuclear 28S identificamos a fase gamética de indivíduos heterozigotos com o programa PHASE v2.1.1, usando opções padrão de 100 iterações de *burn-in*, 100 iterações principais, um intervalo de desbaste por iteração e limites de probabilidade de confiança de 0,9 (Stephens *et al.* 2001). As sequências de *R. ubajara* foram utilizadas como grupo externo. As redes de haplótipos foram construídas no programa *PopART* (Leigh & Bryant, 2015) a partir de uma análise de distribuição de haplótipos feita no programa DNAsp v.5 (Librado & Rozas, 2009).

Para as análises filogenéticas foi feita uma inferência bayesiana no *BEAST* (Drummond *et al.* 2012), usando os modelos de substituição *General Time Reversible* para o gene *cox1* e *Tamura 3-parameter* para o gene 28s, que foram selecionados no programa MEGA 11.0. Para o relógio molecular na árvore do gene *cox1* foi utilizado uma taxa de mutação relaxada de 0,019% por milhão de anos estimado para aracnídeos (Bidegaray-Batista & Arnedo, 2011) e foram realizadas 10.000.000 gerações de MCMC (*Markov Chain Monte Carlo*). Árvores e parâmetros foram amostrados para cada 1.000 gerações, totalizando 10.000 árvores salvas para cada análise. Os primeiros 15% (*burn-in*) de cada corrida foram excluídos. Uma árvore de consenso de maioria de 50% foi feita acessando valores de probabilidade posteriores dos nós usando o *software TreeAnnotator* v.1.8.1 (Drummond *et al.* 2012). Para a edição gráfica das árvores filogenéticas geradas foi utilizado o programa *FigTree* (<http://tree.bio.ed.ac.uk/>).

Também foram implementadas diferentes abordagens de delimitação de linhagens a partir dos genes *cox1* e 28S, separados, a fim de verificar a distribuição dos grupos genéticos, como o *Assemble Species by Automatic Partitioning* (ASAP) que é baseado em similaridade (Puillandre *et al.*, 2021), utilizando todas as distâncias disponíveis (Jukes-Cantor, Kimura e distância simples) e considerando o delineamento com valor de

p igual a 0.01. As árvores ultramétricas geradas a partir dos genes *cox1* e 28S da árvore filogenética produzida por inferência bayesiana foram usadas como arquivo de entrada para os seguintes testes de delimitação de espécies: *single-threshold of Generalized Mixed Yule-Coalescent* (sGMYC) (Fujisawa & Barraclough, 2013), *multiple-threshold GMYC* (mGMYC) (Fujisawa & Barraclough, 2013), *Bayesian implementation of Poisson Tree Process* (bPTP) (Zhang *et al.*, 2013); e *multiple rate PTP* (mPTP) (Kapli *et al.*, 2017), que tem foco no ponto de transição entre processos populacionais e de especiação com base na acumulação de substituições entre sequências ou no tempo de divergência. Além destas, foi feita uma delimitação utilizando os genes *cox1* e 28S, apenas com as linhagens com ocorrência em mais de uma caverna através do *Geneland* (Guillot *et al.* 2005), que também incorpora a informação geográfica dos indivíduos. Os parâmetros usados foram o número populacional de 1 a 10, modelo espacial selecionado para inferir o número de *clusters* em nove rodadas independentes usando 1.000.000 de iterações MCMC, das quais cada 1.000 foram retidas. Posteriormente um *burn-in* de 200 foi aplicado e a corrida com o logaritmo médio de maior probabilidade posterior foi usada para calcular as probabilidades posteriores das populações. Essa análise multiloci indica o número mais provável de populações (k) em cada espécie e foi utilizado para estimar os índices de diversidade genética e os testes de neutralidade.

Para as análises filogeográficas os dados de dinâmica populacional (estruturação populacional e flutuações demográficas) das linhagens foram estimados através dos índices de diversidade nucleotídica (π) e haplotípica (h), bem como o índice de fixação (Φ_{ST}), e os testes de neutralidade D de Tajima (1989), F_s de Fu (1997), calculados com o *Arlequin 3.5* (Excoffier & Lischer, 2010).

Além disso, foram testadas hipóteses de estruturação por meio de análises de Variância Molecular (AMOVA) (Excoffier *et al.* 1992), através do *software Arlequin 3.5*. Nesta foi possível avaliar o quanto de variação genética das linhagens pôde ser explicada pela separação por barreira geográfica (rio Apodi-Mossoró), pela distribuição das cavernas em afloramentos calcários (lajedos) e por distância entre os grupos cavernas (ilhas).

5.4.5. Análise de dados morfológicos

Para as análises morfológicas foram separadas 22 fêmeas de 18 localidades coletadas a fim de avaliar a estrutura da genitália interna, seguindo um protocolo para digerir tecidos moles internos em aracnídeos de acordo com Álvarez-Padilla & Hormiga

(2007). A terminologia das espermatecas seguiu Cokendolpher & Reddell (1992). As fêmeas e os nove machos disponíveis foram analisados por taxonomistas de Schizomida (L.S. Carvalho & I.S.S. Silva, da Universidade Federal do Piauí) por meio de um teste cego, em que os mesmos não tinham acesso aos resultados preliminares das análises moleculares, a fim de avaliar diferenças entre os espécimes analisados.

Além disso, foram separados cinco machos de cinco localidades para exame da morfologia com o uso de um microscópio eletrônico de varredura (MEV), de baixo vácuo, Hitachi TM4000, onde foram realizadas fotomicrografias do flagelo de machos de distintas cavernas. A montagem foi sobre um suporte circular de alumínio (*stubs*), com fita adesiva de carbono dupla face para segurar o flagelo. A nomenclatura das estruturas seguiu Villarreal *et al.* (2016). Essa etapa foi feita no Centro de Estudos em Biologia Subterrânea (CEBS) da Universidade Federal de Lavras, em Minas Gerais.

5.4.6. Descrição taxonômica

Os espécimes examinados estão depositados nas coleções aracnológicas da Coleção de História Natural da Universidade Federal do Piauí, Floriano, Piauí (CHNUFPI; curador J.F. Vilela), do Centro de Coleções Taxonômicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG; curador AJ Santos) e do Centro de Estudos em Biologia Subterrânea da Universidade Federal de Lavras (ISLA; curador R.L. Ferreira). As medidas são expressas em milímetros (mm) e foram obtidas diretamente de uma ocular de microscópio de contraste de fase Zeiss Axio Lab A1, acoplada a uma câmera digital e régua, no Laboratório de Bioecologia e Sistemática de Artrópodes, do Núcleo de História Natural, Campus Amílcar Ferreira Sobral, Universidade Federal do Piauí, em Floriano, Piauí, Brasil; ou diretamente de uma ocular de microscópio estereoscópico Nikon SMZ1500, com régua e câmera digital Nikon DS-Ri1 acoplada. Fotografias multifoco foram realizadas utilizando subimagens obtidas manualmente em microscópio Zeiss PrimoStar com câmera AxioCam 105 acoplada, utilizando-se luz incidente, ou automaticamente utilizando-se um estereomicroscópio Leica M205C, com câmera Leica DFC 290 acoplada. Subimagens foram montadas utilizando-se o *software Helicon Focus* 8. As imagens foram otimizadas com os *softwares Adobe Lightroom* 2024 e *Adobe Photoshop* 2024. Desenhos foram construídos a partir de fotografias, utilizando-se o *software Autodesk SketchBook* v.8.7.1 (Cala-Riquelme 2021). Pranchas foram montadas utilizando-se o *software CorelDraw* 2019.

A nomenclatura das descrições seguiu Reddell & Cokendolpher (1995) para apêndices corporais; Villarreal *et al.* (2016) para cerdas do opistossoma; e Lawrence (1969), modificado por Villarreal *et al.* (2016), para cerdas da quelícera. As cerdas do pedipalpo foram nomeadas conforme Ruiz & Valente (2019). Abreviaturas: MS, esporão mesal; pTS, esporão tarsal prolaral; rTS, esporão tarsal retrolateral. A nomenclatura das cerdas do flagelo segue Ruiz & Valente (2017; 2019).

5.4.7. Dimorfismo sexual em *Rowlandius*

Foram tomadas medidas corporais de 76 indivíduos de *R. potiguar* e *Rowlandius* sp.n.1, incluindo 34 fêmeas e 42 machos. Para todos estes indivíduos, foram medidos: comprimento da carapaça; largura da carapaça; comprimento do abdômen; comprimento do flagelo; comprimento do fêmur do pedipalpo; comprimento da patela do pedipalpo; e comprimento da perna I. A priori, avaliou-se a redundância destas variáveis, buscando-se medidas fortemente correlacionadas, calculando-se correlações de Pearson par-a-par, utilizando-se a função '*pars.panels*' do pacote '*psych*' (Revelle, 2023). Esta análise preliminar evidenciou que o comprimento da patela dos pedipalpos apresentava correlações significativas com outras variáveis, sendo redundante o uso do comprimento do fêmur dos pedipalpos. Em seguida, considerando-se que os pedipalpos de machos de *R. potiguar* apresentam distribuição bimodal (*vide* Santos *et al.*, 2013), foi feita uma análise de agrupamento baseado em modelos parametrizados finitos mistos gaussianos, utilizando-se a função '*Mclust*' (utilizando-se $G = 2$, assumindo-se uma distribuição bimodal) do pacote '*mclust*' (Scrucca *et al.*, 2016). A partir desta análise, foram definidos machos que seriam considerados heteromórficos (ou seja, que apresentam pedipalpos muito alongados) ou homeomórficos (ou seja, que apresentam pedipalpos pouco alongados). Por fim, foram construídos modelos lineares generalizados com distribuição gaussiana de erros, para testar se o comprimento da patela dos pedipalpos era explicado pelo tamanho dos indivíduos (medido pelo comprimento da carapaça), pelo tamanho da perna I e pelo morfotipo sexual (machos heteromórficos, machos homeomórficos e fêmeas) validado pela análise de agrupamentos. O modelo mais adequado foi selecionado pelo método da simplificação de modelos, por meio da exclusão de variáveis e interações não significativas, conferindo-se os parâmetros de dispersão, com a função '*rldiagnostic*' do pacote '*RT4Bio*' (Reis-Júnior & Oliveira 2015). Todas as análises foram realizadas em linguagem de programação R, com o *software RStudio*.

5.5 RESULTADOS

Foram coletados espécimes em 26 localidades, sendo 12 das 30 localidades já conhecidas e em 14 novos registros (Figura 1). Desse material foram obtidas sequências parciais do gene mitocondrial *cox1* com 532 bp de 89 indivíduos de 24 localidades (Figura 2), com identificação de 40 haplótipos (Tabela S10). Também foram obtidas sequências do gene nuclear *28S* com 1.027 bp de 44 indivíduos de 24 localidades (Figura 3), com sete haplótipos (Tabela S11).

Os dados moleculares e morfológicos analisados apontaram resultados similares, indicando a presença de uma possível espécie nova, a qual será referida neste trabalho como *Rowlandius* sp.n.1. Embora não tenha sido analisada a morfologia da linhagem que ocorre na caverna Casa de Pedra (CPD) em Martins, pois foram coletados mais recentemente, os dados moleculares apontam uma separação a nível de espécie, e os indivíduos desta localidade serão referidos como *Rowlandius* sp.n.2.

5.5.1. Análises filogenéticas e delimitação de linhagens

A árvore filogenética com inferência bayesiana (IB) apresentou três grandes clados com alto valor de suporte entre os ramos. Há uma concordância entre as árvores do gene *cox1* (Figura 2) e *28S* (Figura 3), assim como a árvore utilizando dados multilocus (Figura S25). O clado da localidade tipo Gruta da Carrapateira (CAR) de *R. potiguar* (doravante chamado apenas de *R. potiguar*) é formado ainda por outras 14 localidades, incluindo sete das 12 novas localidades amostradas (Tabela 1). Este clado foi recuperado como grupo-irmão do clado formado pelos indivíduos de *Rowlandius* sp.n.2, da Caverna Casa de Pedra (CPD) em Martins (Figura 2 e Figura 3). O clado formado por *R. potiguar* e *Rowlandius* sp.n.2 foi recuperado como grupo-irmão de *Rowlandius* sp.n.1 formado por indivíduos coletados em nove cavernas (Figura 2 e Figura 3). De acordo com as estimativas da IB com relógio molecular, a divergência mais profunda entre as linhagens ocorreu há 2.5 Ma [1.5-3.0 HPD], no final do Plioceno e começo do Pleistoceno. As linhagens *R. potiguar* e *Rowlandius* sp.n.2 teriam divergido há aproximadamente 1.7 Ma [1.2-2.5 HPD] e *R. ubajara* e *Rowlandius* sp.n.1 teriam divergido há cerca de 1.8 Ma [1.2-2.8 HPD]. Não houve simpatria entre as diferentes linhagens (Figura 4).

Para o gene *cox1*, as análises de delimitações separaram o clado *Rowlandius* sp.n.2 que até o momento ocorre apenas na Casa de Pedra, em Martins (RN), como uma unidade taxonômica operacional (OTU), enquanto foram delimitadas entre oito e dez linhagens

distintas para o clado de *R. potiguar* e entre quatro a oito linhagens distintas para o clado de *Rowlandius* sp.n.1 (Figura 2), sugerindo estruturação populacional em cada espécie.

Já para o gene 28S, três das cinco análises de delimitações (ASAP e PTP) indicaram três linhagens distintas (*R. potiguar*, *Rowlandius* sp.n.1 e *R. ubajara*), agrupando *R. potiguar* e *Rowlandius* sp.n.2 e apenas as análises de GMYC separaram *Rowlandius* sp.n.2 de *R. potiguar* (Figura 3).

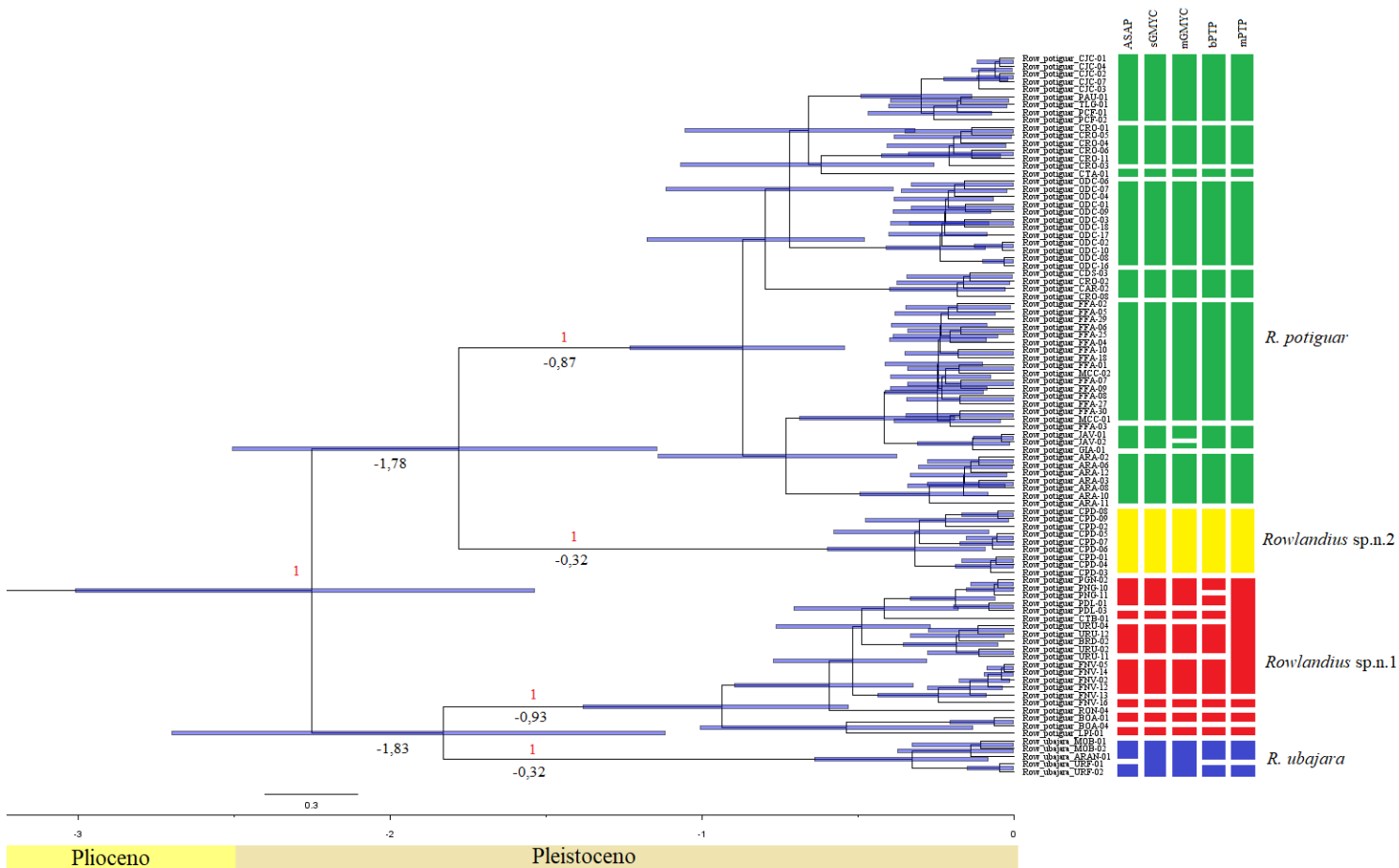


Figura 2. Árvore filogenética de consenso resultante de inferência bayesiana com relógio molecular e testes de delimitação de linhagens utilizando o gene *cox1*. Cada barra representa um método de delimitação de linhagem. As cores representam cada clado, sendo verde para *R. potiguar*, amarelo para *Rowlandius* sp.n.2, vermelho para *Rowlandius* sp.n.1 e azul para *R. ubajara* (grupo externo). Em cada ramo da árvore é apresentada a probabilidade posterior (acima) e a idade média estimada (abaixo). As barras roxas representam os intervalos com 95% HPD para a idade estimada.

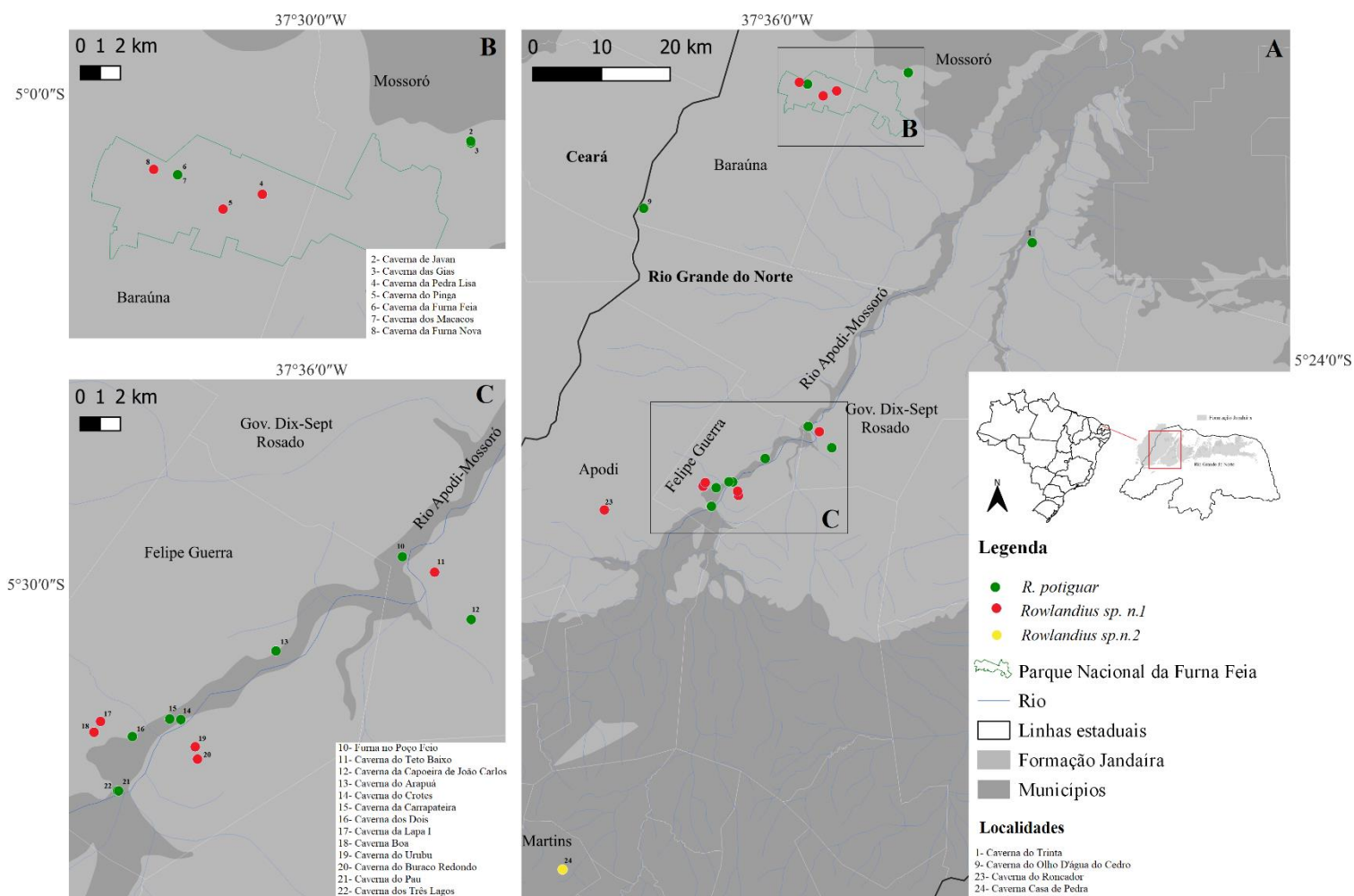


Figura 4. A – Distribuição das localidades avaliadas neste estudo das linhagens de *R. potiguar* (em verde), *Rowlandius sp. n.1* (em vermelho) e *Rowlandius sp.n.2* (em amarelo) de acordo com os resultados das análises moleculares. **B** - Recorte da área do Parque Nacional da Furna Feia. **C** – Ampliação da área com concentração de cavernas amostradas nos municípios de Felipe Guerra e Gov. Dix-Sept Rosado.

5.5.2. Distâncias genéticas

A distância genética entre as espécies nominais (*R. potiguar* e *R. ubajara*) corresponde a 15.6% (Tabela 2), sendo um valor menor que o observado entre *Rowlandius sp.n.1* e *R. potiguar* (16.7%). Já entre *R. potiguar* e *Rowlandius sp.n.2* a distância correspondeu a 13.8%. As distâncias interespecíficas foram maiores que 13%. Já as distâncias intraespecíficas não ultrapassaram 3% em *R. potiguar* e 1% em *Rowlandius sp.n.1*.

Tabela 2. Distâncias K2P das linhagens avaliadas de *Rowlandius* neste estudo a partir do gene *cox1*.

Táxons	<i>R. potiguar</i>	<i>R. sp.n.1</i>	<i>R. sp.n.2</i>	<i>R.ubajara</i>
<i>R. potiguar</i> (14 cavernas, 59 indivíduos)	3.0%			
<i>Rowlandius sp.n.1</i> (9 cavernas, 21 indivíduos)	16.7%	3.0%		
<i>Rowlandius sp.n.2</i> (1 caverna, 9 indivíduos)	13.8%	15.8%	0	
<i>R. ubajara</i> (3 cavernas, 5 indivíduos)	15.6%	13.9%	14.8%	1.0%

5.5.3. Estrutura populacional

A partir dos dados multilocus (*cox1* e *28S*), o *Geneland* recuperou estruturação de cinco linhagens para as 14 cavernas de *R. potiguar* ($k = 5$) (Figura 5), distribuídas em: 1- Caverna Olho D'água do Cedro (ODC); 2- Cavernas da Carrapateira (CAR), do Crotes (CRO) e do Dois (CDS); 3- Cavernas da Furna Feia (FFA), dos Macacos (MCC), das Gias (GIA) e de Javan (JAV); 4- Cavernas do Trinta (CTA), do Arapuá (ARA), do Poço Feio (PCF), do Pau (PAU) e Três Lagos (TLG) ; e 5- Caverna Capoeira de João Carlos (CJC).

Para *Rowlandius sp.n.1*, o *Geneland* recuperou três linhagens ($k = 3$) nas nove cavernas (Figura 6): 1- Cavernas da Furna Nova (FNV), da Lapa I (LPI), Boa (BOA) e do Roncador (RON); 2- Cavernas do Teto Baixo (CTB), da Pedra Lisa (PDL) e do Pinga (PNG); 3- Cavernas do Buraco Redondo (BRD) e do Urubu (URU).

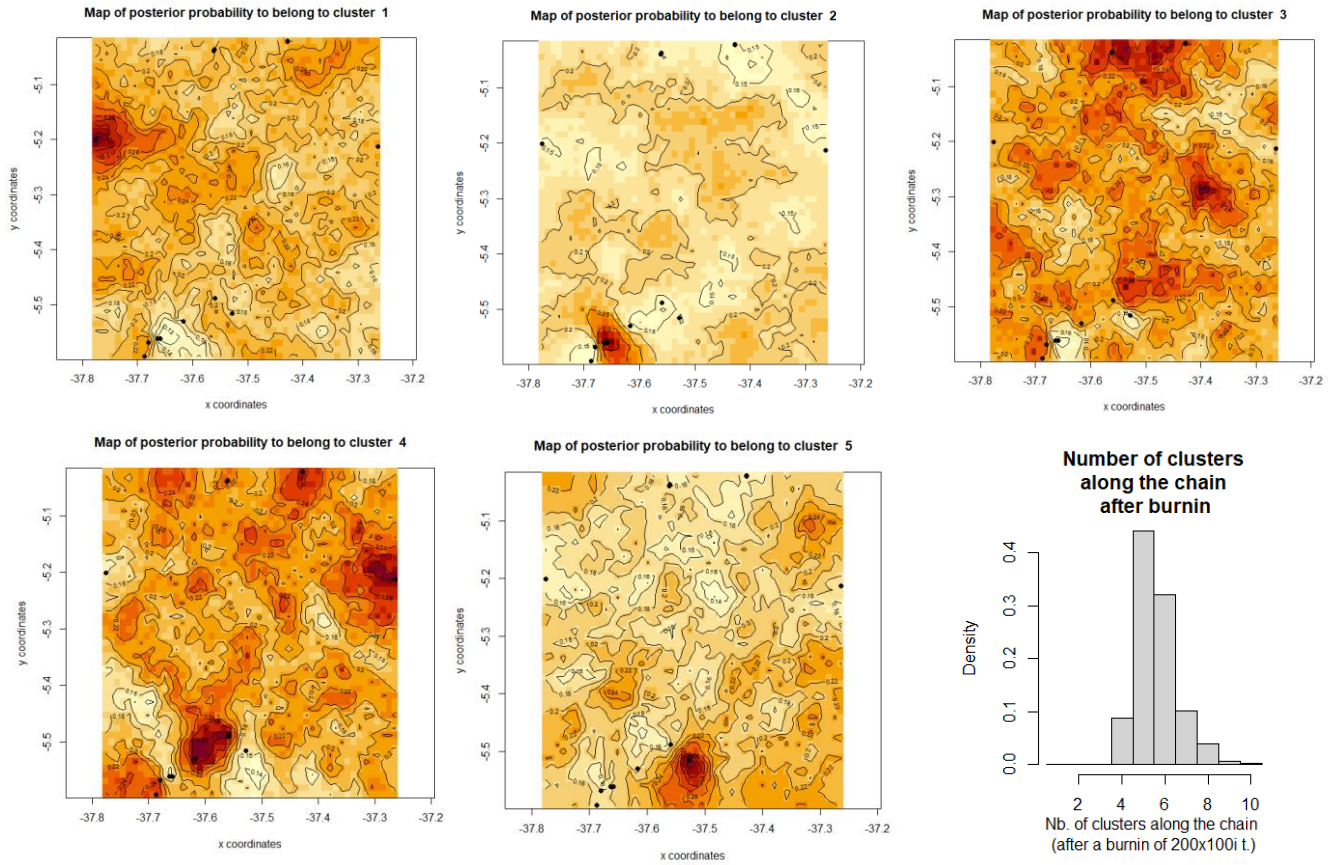


Figura 5. Mapa de probabilidade posterior para as linhagens de *R. potiguar*, gerados a partir dos genes *cox1* e *28s*. Cinco clusters distintos foram sugeridos. Cores mais escuras indicam maior probabilidade de estruturação genética.

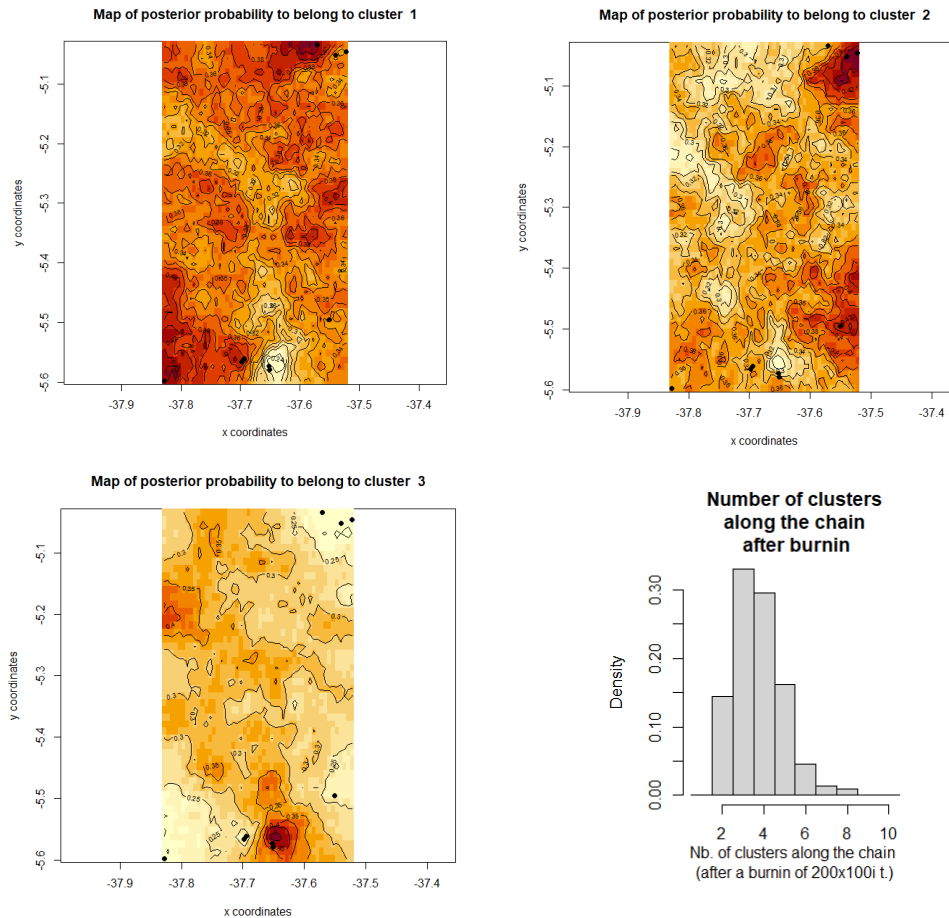
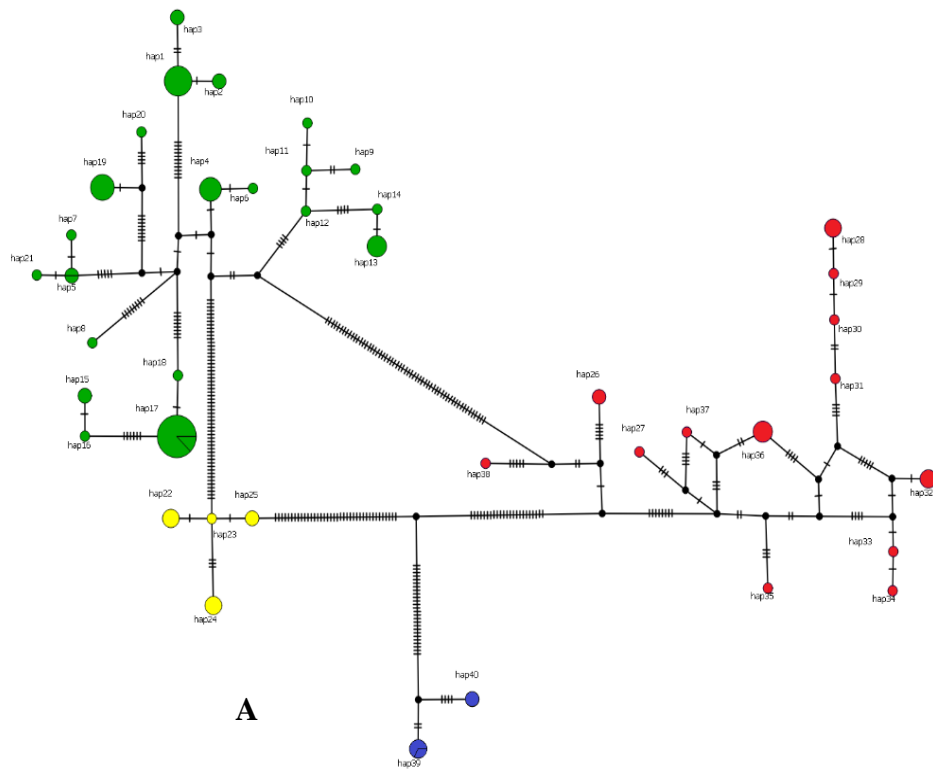


Figura 6. Mapa de probabilidade posterior para as possíveis novas linhagens de *Rowlandius* sp.n.1 gerados a partir do gene *cox1* e 28S. Três clusters distintos foram sugeridos. Cores mais escuras indicam maior probabilidade de estruturação genética.

Tanto a rede de haplótipos do gene *cox1* (Figura 7A) quanto a rede de haplótipos do gene 28S (Figura 7B) apresentaram mais de oito passos mutacionais entre as três linhagens (*R. potiguar*, *Rowlandius* sp.n.1 e *R. ubajara*), e na rede de haplótipos do *cox1* apresentou muitos passos mutacionais entre *Rowlandius* sp.n.2 e as demais linhagens. Esta rede de haplótipos apresentou maior quantidade de haplótipos, totalizando 40, distribuídos da seguinte forma: 21 de *R. potiguar* em 14 localidades, com um haplótipo compartilhado entre a localidade-tipo, a Gruta da Carrapateira (CAR) e a Caverna do Crotes (CRO) (Hap_5) e outro compartilhamento entre a Caverna da Furna Feia (FFA) e a Caverna dos Macacos (MCC) (Hap_17); 13 de *Rowlandius* sp.n.1 entre nove localidades; três haplótipos de *Rowlandius* sp.n.2; e dois de *R. ubajara* de três localidades (Tabela S10).

A rede de haplótipos do gene 28S (Figura 7B) apresentou apenas sete haplótipos, com três haplótipos de *R. potiguar* entre 14 localidades, um único haplótipo da Caverna Capoeira de João Carlos (CJC) (Hap_3), um compartilhado entre CRO e CAR (Hap_2) e um para as demais localidades desse grupo (Hap_1); dois de *Rowlandius* sp.n.1 em nove localidades, com um haplótipo da Caverna do Urubu (URU) (Hap_6), e um compartilhado nas demais localidades (Hap_5); um único haplótipo de *Rowlandius* sp.n.2 (Hap_4); e um de *R. ubajara* nas três localidades (Hap_7) (Tabela S11).



- *R. potiguar*
- *Rowlandius sp.n.2*
- *Rowlandius sp.n.1*
- *R. ubajara*

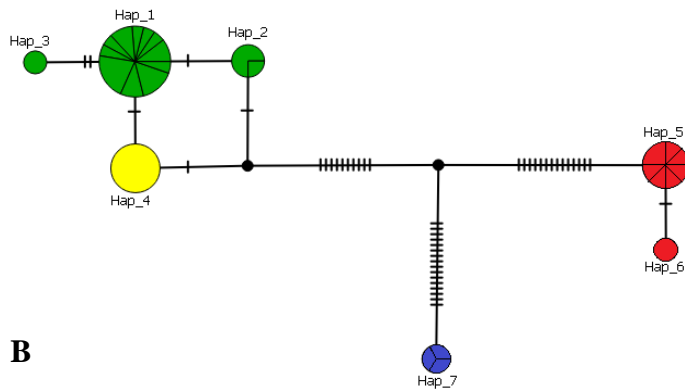


Figura 7. A – Rede de haplótipos de *Rowlandius* da Caatinga feita a partir do gene *cox1*.
B – Rede de haplótipos feita a partir do gene 28S.

A diversidade haplotípica (h) e nucleotídica ($\pi*100$) para *R. potiguar* apresentou os maiores valores para a população composta pelas cavernas do Arapuá, do Trinta, do Pau, Três Lagos e Poço Feio (ARA/CTA/PAU/TLG/PCF), enquanto que os menores valores foram encontrados na população da Caverna Capoeira de João Carlos (CJC) (Tabela 3). Já para *Rowlandius* sp.n.1, os maiores valores correspondem a população composta pelas cavernas da Furna Nova, Boa, da Lapa I e do Roncador (FNV/BOA/LPI/RON), enquanto que os menores valores correspondem a população composta pelas cavernas do Buraco Redondo e do Urubu (BRD/URU) (Tabela 3). Os resultados dos testes de neutralidade não tiveram resultados significativos que apontem expansão ou retração populacional (Tabela 3).

Tabela 3. Índices de diversidade populacional e testes de neutralidade para o *cox1* de *Rowlandius* da Caatinga. (N) número de sequências, (H) número de haplótipos, (S) número de sítios polimórficos, (h) diversidade haplotípica, (π) diversidade nucleotídica. Populações de acordo com os resultados das delimitações de linhagens (Figura 2). * $p < 0.05$. Em negrito estão os maiores e menores valores de diversidade nucleotídica para cada espécie.

		Índices de Diversidade Populacional					Testes de Neutralidade	
		N	H	S	h	$\pi * 100$	Fs de Fu	D de Tajima
<i>R. potiguar</i>	ODC	12	3	3	0.5455	0.1709 ± 0.1431	0.4947	-0.2784
	CRO/CAR/CDS	10	5	12	0.7556	1.0150 ± 0.6043	1.7725	1.2332
	FFA/MCC/JAV/GIA	20	4	8	0.3632	0.3571 ± 0.2372	1.6356	-0.5305
	ARA/CTA/PAU/TLG/PCF	12	7	30	0.7727	1.9281 ± 1.0667	1.9235	0.1464
	CJC	5	2	1	0.4000	0.0752 ± 0.0956	0.0902	-0.8165
<i>Rowlandius</i> sp.n.1	FNV/BOA/LPI/RON	10	7	34	0.9111	2.5856 ± 1.4364	1.6360	0.6975
	CTB/PNG/PDL	6	4	13	0.8	0.9524 ± 0.6212	1.2039	-0.6730
	BRD/URU	5	2	3	0.4	0.2256 ± 0.1996	1.6875	-1.0484

As comparações par-a-par de Φ_{ST} , em sua maioria próximas de 1 e com todos os valores significativos ($p < 0.05$), indicam estruturação populacional e fluxo gênico restrito ou inexistente entre as linhagens analisadas (Tabela 4).

Tabela 4. Valores de Φ_{ST} para as sequências *cox1* entre as diferentes cavernas e populações de *Rowlandius potiguar* e *Rowlandius* sp.n.1, *p < 0.05. Entre parênteses consta o número de indivíduos.

<i>R. potiguar</i>					
<i>Agrupamento pelo Geneland</i>	1	2	3	4	5
ODC (12)	0.0				
CRO/CAR/CDS (10)	0.8123*	0.0			
CTA/ARA/PAU/TLG/PCF (12)	0.6794*	0.3875*	0.0		
FFA/MCC/JAV/GIA (20)	0.9115*	0.7707*	0.6657*	0.0	
CJC (5)	0.9638*	0.7491*	0.5616*	0.9193*	0.0
<i>Por caverna</i>	1	2	3	4	5
ODC (12)	0.0				
CRO (8)	0.8468*	0.0			
CJC (5)	0.9638*	0.7977*	0.0		
ARA (7)	0.9352*	0.7852*	0.9522*	0.0	
FFA (15)	0.9721*	0.8752*	0.9902*	0.9655*	0.0
<i>Rowlandius</i> sp.n.1					
<i>Agrupamento pelo Geneland</i>	1	2	3		
FNV/BOA/LPI/RON (10)	0.0				
CTB/ PNG/PDL (6)	0.3726*	0.0			
URU/BRD (5)	0.4125*	0.7030*	0.0		
<i>Por caverna</i>	1	2	3		
FNV (6)	0.0				
PNG (3)	0.8947*	0.0			
URU (4)	0.9060*	1.0*	0.0		

Todas as hipótese foram significativas, exceto a do Rio Apodi-Mossoró para *Rowlandius* sp.n.1 (Tabela 5). Porém, o agrupamento das cavernas nos diferentes afloramentos calcários (lajedos) explicou a maior parte da variância, sendo 85.22% (p < 0.001) da variância genética observada para o grupo *R. potiguar*, assim como para *Rowlandius* sp.n.1, explicou 51.38% (p < 0.001).

Tabela 5. Teste de Análise de Variância Molecular (AMOVA) para avaliar quanto da variação genética observada nas sequências de *cox1* de *Rowlandius* da Formação Jandaíra pode ser explicada a partir da localização das cavernas em relação a barreira geográfica (Rio Apodi-Mossoró), diferentes afloramentos calcários (lajedos) e distância entre grupos de cavernas próximas (ilhas). As linhas destacadas indicam as hipóteses que melhor explicam a variação genética, * $p < 0.05$.

Hipóteses de estruturação (n° de grupos)		Entre grupos	Entre populações dentro do grupo	Dentro das populações	Φ_{CT}
<i>R. potiguar</i>	Rio Apodi-Mossoró (2) (JAV+GIA+FFA+MCC+ODC+ARA+CRO+CAR+CDS+PCF+PAU+TLG / CJC)	20.84	72.67	6.49	0.04*
	Lajedos (9) (JAV+GIA / FFA+MCC / ODC / ARA / CRO+CAR / CDS / PAU+TLG / PCF / CJC)	85.22	7.2	7.57	0.00*
	Ilhas (6) (JAV+GIA / FFA+MCC / ODC / ARA+CRO+CAR+CDS+PAU+TLG / PCF / CJC)	45.39	47.21	7.39	0.00*
<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Rio Apodi-Mossoró (2) (URU+BRD / PNG+PDL+FNV+BOA+LPI)	1.89	92.56	5.55	0.30
	Lajedos (5) (URU+BRD / PNG / PDL / FNV / BOA+LPI)	51.38	43.11	5.51	0.03*
	Ilhas (3) (URU+BRD / PNG+PDL+FNV / BOA+LPI)	40.08	54.82	5.08	0.00*

5.5.4. Análises morfológicas

As análises morfológicas também apontaram diferenças em caracteres considerados diagnósticos, como a genitália interna das fêmeas (Figura 8), na morfologia do flagelo e do processo póstero-dorsal abdominal dos machos (Figura 9).

As fêmeas de *R. potiguar* apresentam a genitália interna com lobos laterais (LL) com pedúnculos mais grossos (Figura 8 A, B, C e D) que *Rowlandius* sp.n.1 (Figura 8 E, F, G e H). Além disso, os lobos medianos (ML) de *R. potiguar* apresentam uma base mais larga e com comprimento maior que em *Rowlandius* sp.n.1. Também pode-se observar que as espermatecas de *Rowlandius* sp.n.1 são maiores que as de *R. potiguar*.

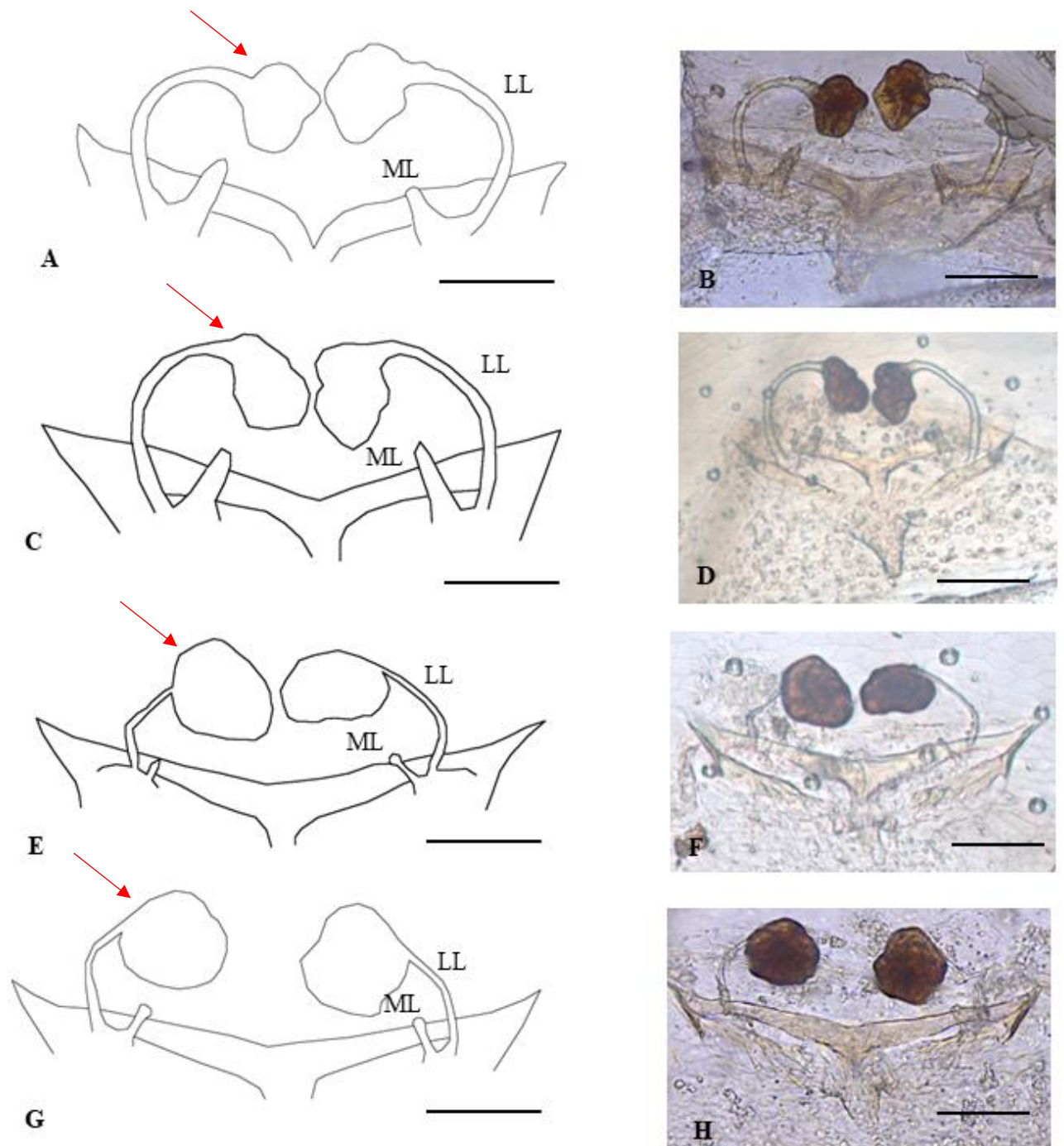


Figura 8. Genitália interna feminina de *R. potiguar* (A-D) e *Rowlandius* sp.n.1 (E-H). Localidades: **A-B** – Caverna dos Dois (CDS); **C-D** – Caverna do Trinta (CTA); **E-F** – Caverna Boa (BOA); **G-H** – Caverna do Pinga (PNG). LL: Lobos laterais; ML: Lobos medianos. Setas indicam espermatecas. Escala: 0.05mm.

Já nos machos, a posição da cerda dorso-mediana do flagelo 1 (dm1) é diferente em *R. potiguar*, pois é mais próximo do pendúculo (Figura 9 A), enquanto que em *Rowlandius* sp.n.1 é distante (Figura 9 B). Em *Rowlandius* sp.n.1, o formato do flagelo é mais afilado que o de *R. potiguar*, e apresenta o processo pósterodorsal abdominal maior que em *R. potiguar* (Figura 9 B).

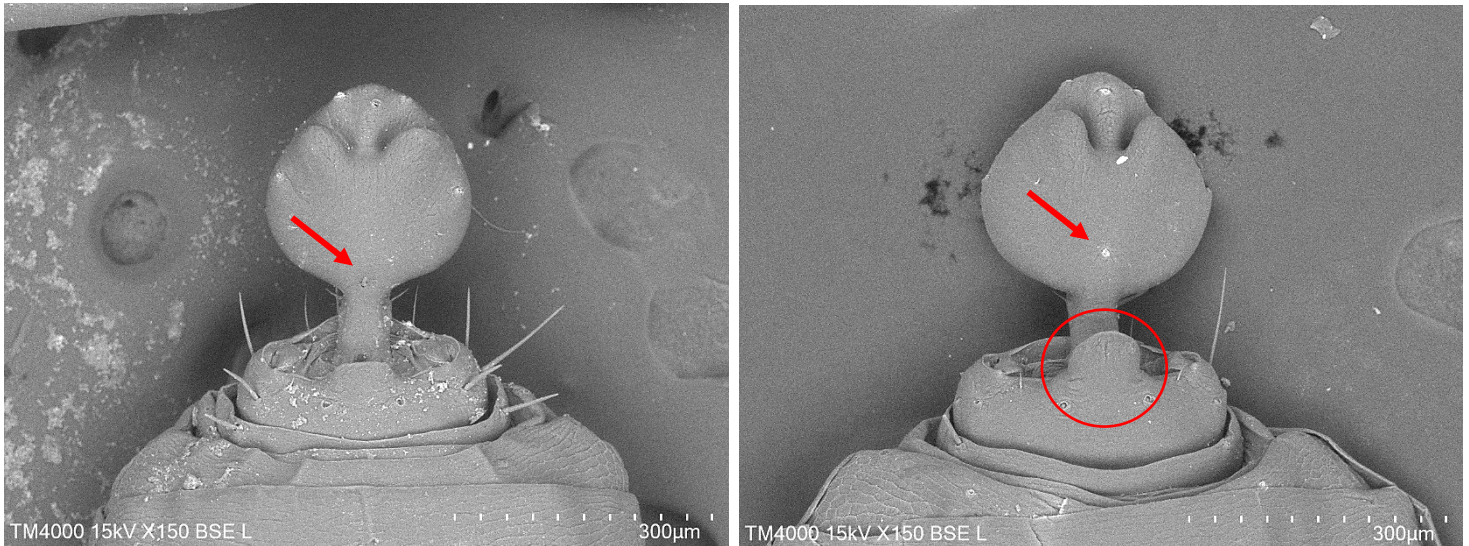


Figura 9. Fotos de microscopia eletrônica de varredura (MEV) do flagelo, em vista dorsal, de machos das linhagens de *Rowlandius potiguar* (A) e *Rowlandius* sp. n. 1 (B). Localidades: **A** – Caverna da Capoeira de João Carlos (CJC); **B** – Caverna da Furna Nova (FNV). Setas indicam posição da dm1. Círculo indica projeção no processo pósterodorsal abdominal.

Com isso, propomos a atualização da taxonomia e distribuição geográfica de *R. potiguar*, bem como sugerimos o aumento da riqueza do gênero *Rowlandius* nas cavernas da Caatinga, sustentado pelos resultados moleculares e morfológicos visto até aqui.

5.5.5. Taxonomia

Familia Hubbardiidae Cook, 1899

Gênero *Rowlandius* Reddell and Cokendolpher, 1995

Rowlandius potiguar Santos, Ferreira & Buzatto, 2013

Rowlandius potiguar Santos, Ferreira & Buzatto, 2013: 5-11, Figuras 1, 2B-D, 4A-G, 5A-D, 6A-F, 7A-B [in part]; Bento *et al.*, 2021 [Distribuição geográfica].

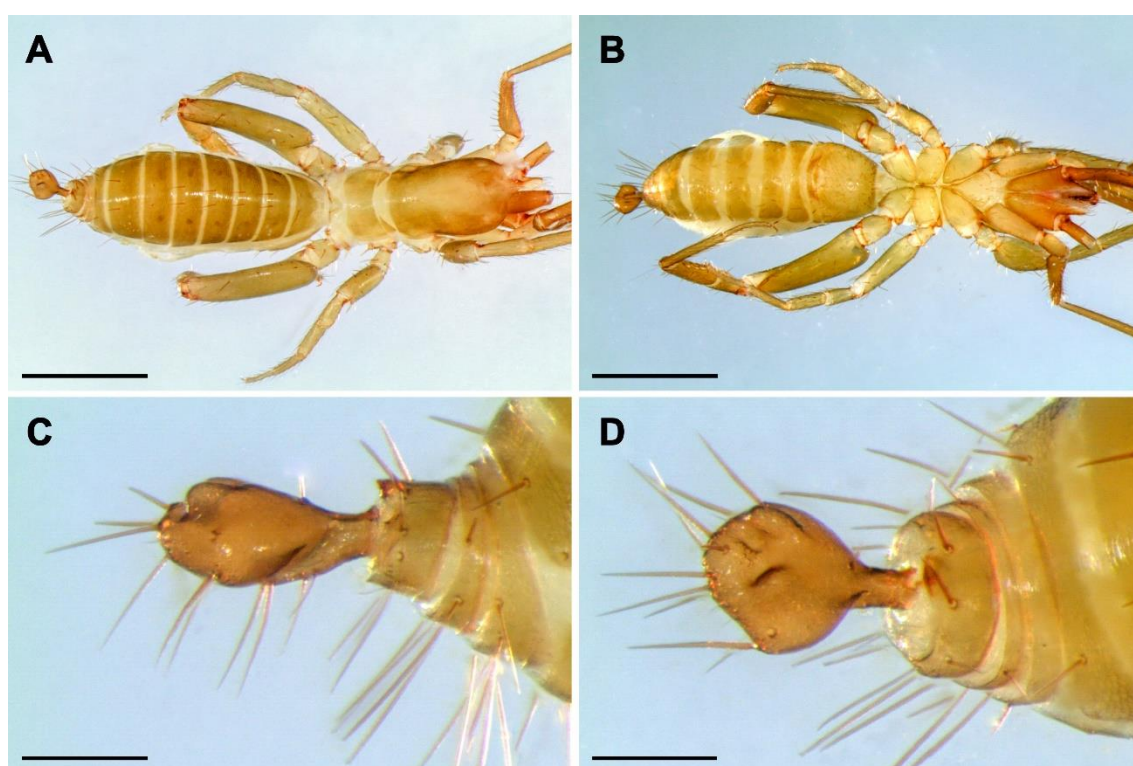


Figura 10. *Rowlandius potiguar*, holótipo macho (Gruta da Carrapateira; UFMG 3897), hábito (A-B) e flagelo (C-D), em vistas dorsal (A, D), ventral (B) e lateral (C). Escalas: 1 mm (A-B), 0.2 mm (C-D).

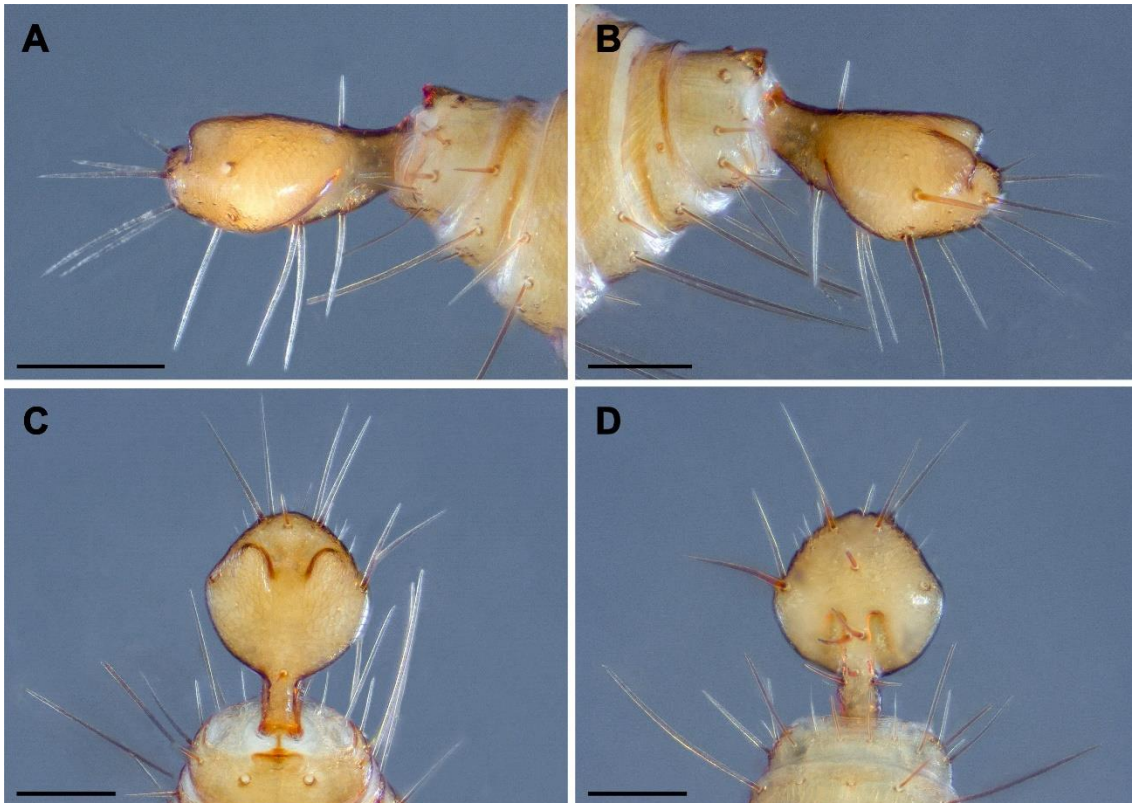


Figura 11. *Rowlandius potiguar*, topótipo macho (Gruta da Carrapateira; UFMG 29794), flagelo, em vistas lateral (A, B), dorsal (C) e ventral (D). Escalas: 0.2 mm.

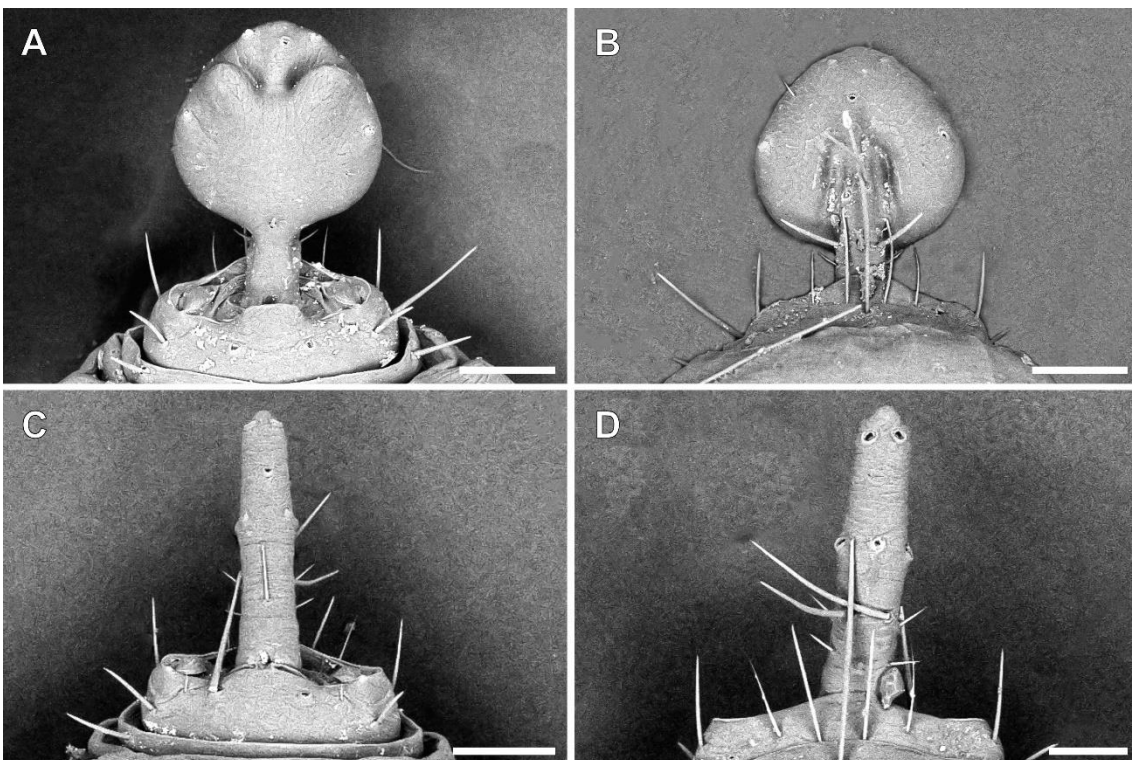


Figura 12. *Rowlandius potiguar*, macho (A-B; Caverna Capoeira do João Carlos; ISLA 118283) e fêmea (C-D; Parque Nacional da Furna Feia; ISLA 118288), fotografia de microscopia eletrônica de varredura do flagelo, em vistas dorsal (A, C), e ventral (B, D). Escalas: 0.1 mm

Material tipo examinado. Holótipo macho heteromórfico. BRASIL. Rio Grande do Norte: *Felipe Guerra*, Gruta da Carrapateira (05°33'38"S 37°39'50"W), M.P.A. Oliveira leg., 28/VII.2009 (UFMG 3897) (Figura 10).

Material adicional examinado. BRASIL. Rio Grande do Norte: *Baraúna*, Gruta do Olho d'Água do Cedro (05°12'01.1"S, 37°46'34.5"W), O. Dantas *et al.* leg., 10/V/2022, 1 #m, 1 #ff (ISLA 106222), Caverna dos Macacos (05°02'19.8"S, 37°33'41.3"W), D. Bento leg., 12/VI/2010, 1 #m, 2 #ff, 1 imm. (ISLA 1826), mesma localidade, coletor e data, 1 #m, 1 #ff, 2 imm. (ISLA 1838), Caverna Beira Rio (05°33'07.4"S, 37°37'42.9"W), 2 #m, 1 #ff, 3 imm. (ISLA 1822), Caverna do Britador (05°01'25.9"S, 37°29'49.5"W), D. Bento leg., 11/VI/2010, 2 #m, 2 #ff, 2 imm. (ISLA 1843), Caverna Cipós (05°02'40.1"S, 37°34'34.8"W), D. Bento leg., 11/VI/2010, 1 #ff, 1 imm. (ISLA 1837), mesma localidade, coletor e data, 1 #m, 1 #ff, 2 imm. (ISLA 1850), Gruta do Lago (05°02'06.7"S, 37°34'08.6"W), D. Bento leg., 30/VII/2010, 1 #m, 1 #ff, 2 imm. (ISLA 1840), Caverna da Furna Feia (05°2'11.3"S, 37°33'35.5"W), D. Bento leg., 29/I/2010, 2 #m, 2 #ff, 1 imm. (ISLA 1834), Parque Nacional de Furna Feia, arredores da Furna Feia (05°02'11.3"S, 37°33'35.5"W), L.S. Carvalho leg., 6/VI/2015, 1 #m (CHNUFPI 2515), Parque Nacional de Furna Feia, interior da Caverna Porco do Mato II (05°02'47.9"S, 37°32'23.0"W), L.S. Carvalho leg., 7/VI/2015, 1 #m (CHNUFPI 2792); *Felipe Guerra*, Caverna da Descoberta (05°33'47.68"S, 37°39'55.5"W), O. Dantas *et al.* leg., 24/V/2023, 1 #m, 1 #ff (ISLA 107266), mesma localidade, 21/VII/2009, 4 #ff, 1 imm. (UFMG 24724), 1 #m, 3 imm. (UFMG 24725), Caverna do Trapiá (05°33'45.4"S, 37°37'15.9"W), 2 #m, 1 imm. (ISLA 107265), Caverna da Rumana (05°33'54.1"S, 37°39'07.2"W), D. Bento leg., 10/I/2010, 2 #mm, 1 #ff (ISLA 1842), Caverna do Arapuá 1 (05°31'48.3"S, 37°36'58.5"W), D. Bento leg., 07/I/2010, 2 #m, 3 #ff (ISLA 1831), Lajedo do Arapuá, interior da Caverna do Sabonete (05°31'34.6"S, 37°37'25.2"W), L.S. Carvalho leg., 8/VI/2015, 1 #m (CHNUFPI 1641), Gruta do Crotas (05°33'37.9"S, 37°39'30.9"W), D. Bento leg., 04/VI/2010, 1 #ff (ISLA 1847), mesma localidade, coletor e data, 1 #ff, 2 imm. (ISLA 1832), 19/I/2010, 3 #m, 3 #ff, 1 imm. (ISLA 1827), Gruta da Carrapateira (05°33'38"S, 37°39'50"W), M.P.A. Oliveira leg., 28/VII/2009, 1 #m, 3 #ff (UFMG 3900), mesma localidade, coletor e data, 1 #m (UFMG 29794), 1 #m (UFMG 29795), Gruta do Geílson (06°35'53.27"S, 37°41'17.53"W), M.P.A. Oliveira leg., 16/VI/2008, 4 #m, 5 #ff, 4 imm. (UFMG 3901), mesma localidade, coletor e data, 1 #m (UFMG 29796), 1 #m (UFMG 29797), Caverna

Geraldo Gusso (05°33'S, 37°39'W), 27/VII/2009, 1 #m, 3 imm. (UFMG 17576); *Governador Dix-Sept Rosado*, Caverna Capoeira de João Carlos (05°30'57.0"S, 37°31'41.4"W), O. Dantas *et al.* leg., 10/V/2022, 1 #m (ISLA 106221), mesma localidade, coletor e data, 1 #m, 4 #ff (ISLA 1823), 2 #ff, 3 imm. (ISLA 1845), Caverna do Lajedo Grande 1 (05°27'44.2"S, 37°33'08.9"W), 1 #ff (ISLA 1820), Gruta da Boniteza (05°30'51.0"S, 37°33'21.5"W), D. Bento leg., 20/II/2009, 1 #m, 1 imm. (ISLA 1829); *Mossoró*, Caverna do Trinta (Caverna do Carmo) (05°12'44.2"S, 37°15'50.8"W), D. Bento leg., 10/VI/2010, 1 #ff (ISLA 1830).

Diagnose atualizada. Machos de *R. potiguar* assemelham-se aos de *R. linsduarteeae*, *R. pedrosoi* e *Rowlandius* sp.n.1 pelo formato subquadrado do flagelo do macho (Figura 10 D, Figura 11 C-D, Figura 12 A-B), sendo diferenciados destas espécies pela combinação dos seguintes caracteres: (1) presença de projeções dorsais no flagelo do macho que são estreitas e separadas por uma distância equivalente à sua largura (Figura 11 C, Figura 12 A); (2) processo póstero-dorsal abdominal mais largo que longo, pouco projetado dorsalmente (Figura 11 A-B); (3) cerda Dm1 localizada na porção globosa do flagelo, próxima ao pedúnculo (Figura 11 C, Figura 12 A); e (4) cerda Dm4 próxima à borda posterior do flagelo (Figura 11 C, Figura 12 A). Adicionalmente, machos de *R. potiguar* diferem daqueles de *Rowlandius* sp.n.1 pelo formato mais arredondado da metade posterior do flagelo (Figura 11 C, Figura 12 A). As fêmeas de *R. potiguar* assemelham-se às de *Rowlandius* sp.n.1 pela presença de um gonópode mediano no arco quitinoso, distinguindo-se pelos seguintes caracteres (Figura S26 A-D): (1) arco quitinoso cordiforme; (2) pedúnculo dos lóbulos laterais mais largos; e (3) lóbulos medianos cônicos, com base larga (Tabela 6).

Varição. Machos (n=24): comprimento da carapaça: 1.32-1.83; largura da carapaça: 0.51-0.84; comprimento do fêmur do pedipalpo: 0.41-2.78; comprimento da patela do pedipalpo: 0.46-2.47; comprimento da perna I: 3.89-5.23. Fêmeas (n=26): comprimento da carapaça: 1.33-1.98; largura da carapaça: 0.52-0.73; comprimento do fêmur do pedipalpo: 0.37-0.72; comprimento da patela do pedipalpo: 0.39-0.67; comprimento da perna I: 3.46-4.37.

Distribuição: Espécie registrada e com distribuição confirmada em 33 cavernas no oeste do RN, nos municípios de Baraúna, Felipe Guerra, Governador Dix-Sept Rosado e Mossoró, incluindo o Parque Nacional da Fuma Feia (Figura 13).

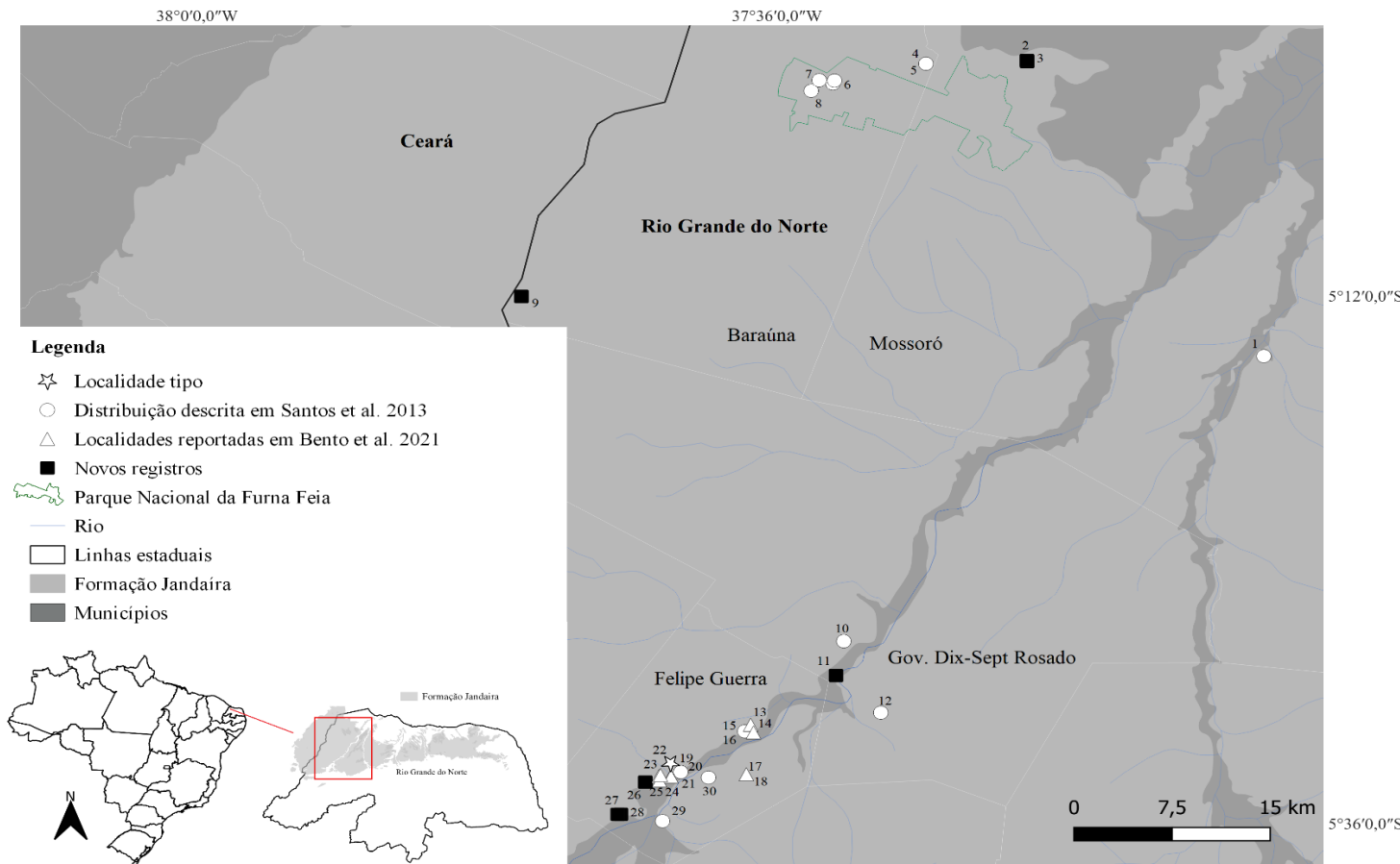


Figura 13. Mapa atualizado da distribuição geográfica de *Rowlandius potiguar* nas cavernas do estado do Rio Grande do Norte. Números de cada localidade podem ser consultados na Tabela S12.

***Rowlandius* sp.n.1**

Rowlandius potiguar Santos, Ferreira & Buzatto, 2013: 5-11 [in part]; Bento *et al.*, 2021 [in part].



Figura 14. *Rowlandius* sp.n.1, holótipo macho heteromórfico (A-D; Caverna da Pedra Lisa; CHNUFPI 5601) e parátipo macho homeomórfico (E-H; Caverna do Urubu; CHNUFPI 5604); hábito (A-C; E-G) e pedipalpo direito, em vistas dorsal (A, E), lateral (B-F), ventral (C-G) e prolateral (D, H). Escalas: 1 mm (A-C, E-G); 0.5 mm (D, H).

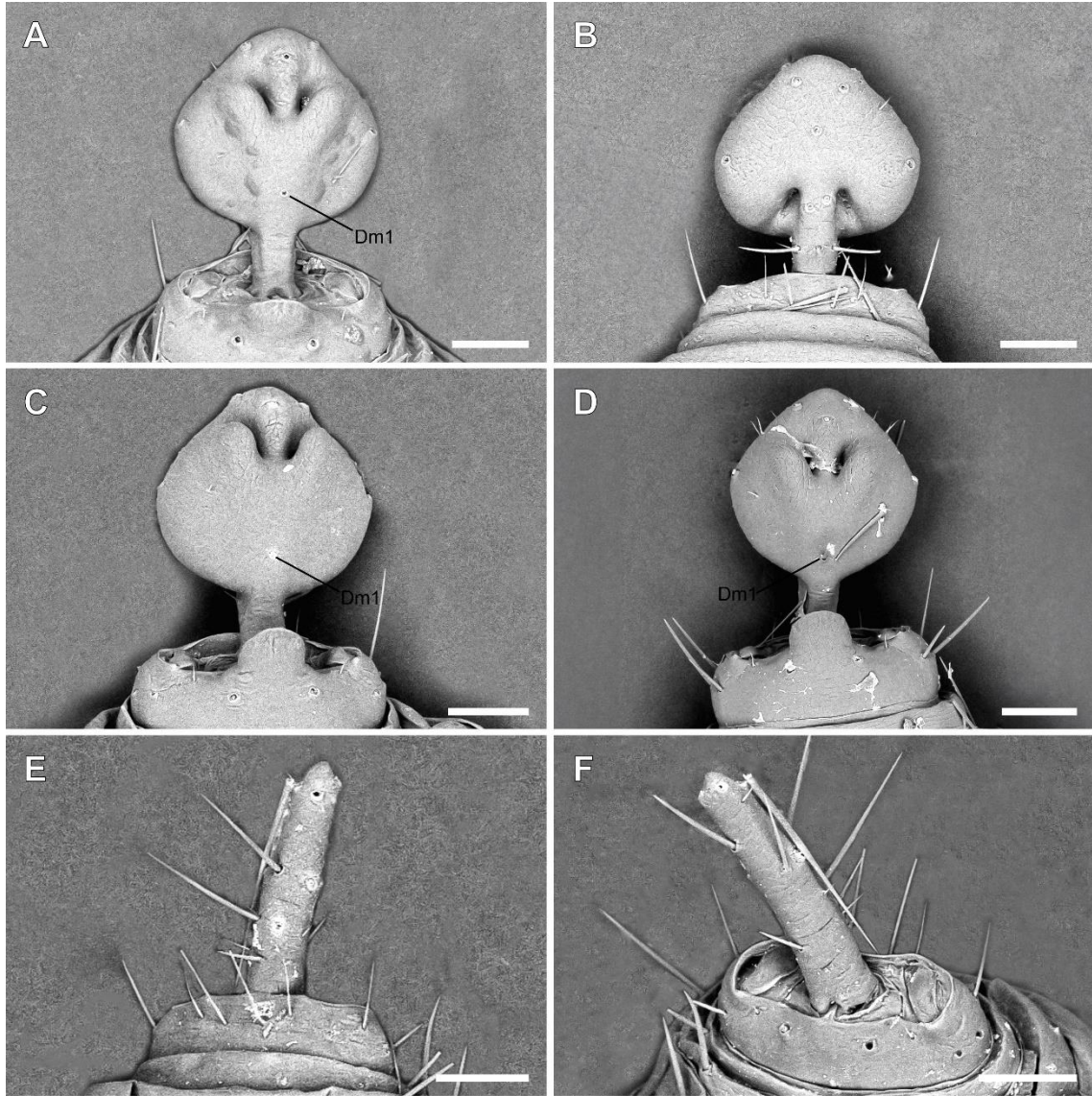


Figura 15. *Rowlandius* sp.n.1, machos (A-D) e fêmea (E-F), fotografia de microscopia eletrônica de varredura do flagelo, em vistas dorsal (A, C-E), e ventral (B, F). A-B: Caverna Buraco Redondo (ISLA 118278); C: Caverna da Furna Nova (a depositar no ISLA); D: Caverna do Pinga (ISLA 118275); E-F: Caverna da Lapa (ISLA 118298). Nota: na imagem A o abdômen está posicionado inclinado, dificultando a observação do processo dorsoposterior em vista dorsal, que pode ser melhor visualizado na imagem D. Escalas: 0.1 mm.

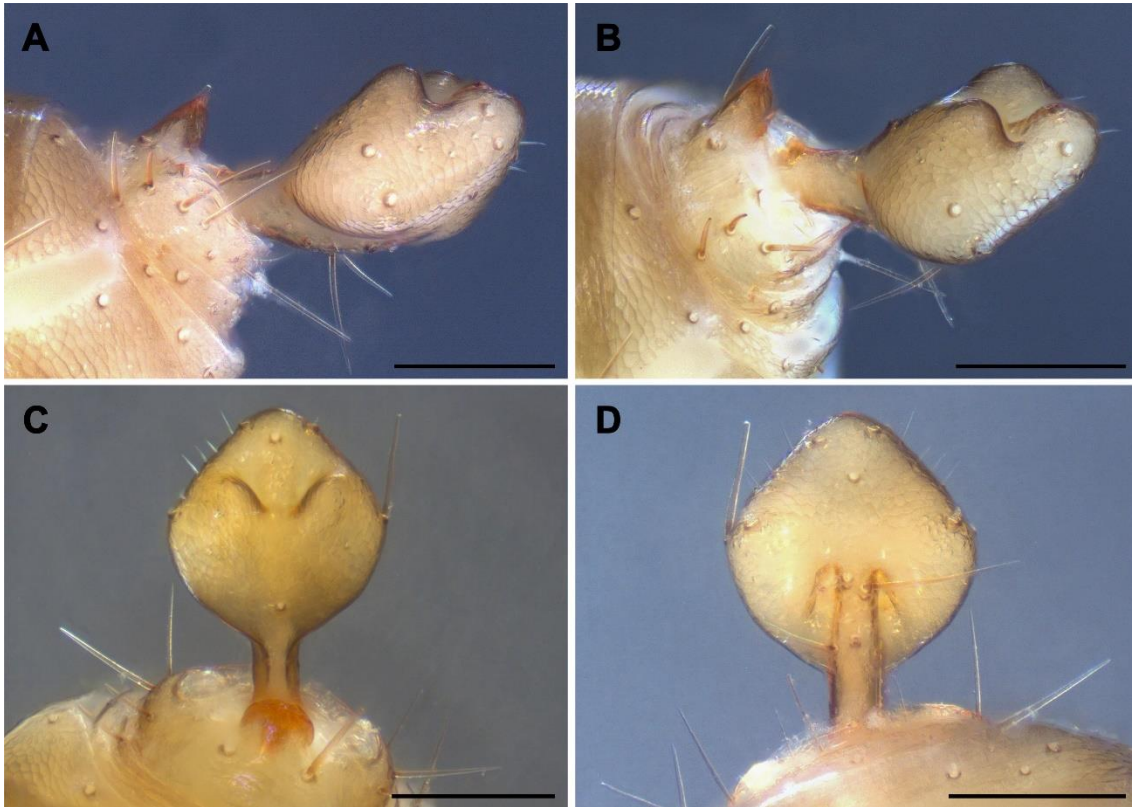


Figura 16. *Rowlandius* sp.n.1, holótipo macho heteromórfico (Caverna da Pedra Lisa; CHNUFPI 5601), flagelo, em vistas lateral (A, B), dorsal (C) e ventral (D). Escalas: 0.2 mm.

Material tipo. HOLÓTIPO: BRASIL. Rio Grande do Norte: Baraúna, Caverna da Pedra Lisa (05°02'43.8"S, 37°31'18.9"W), O. Dantas *et al.* leg., 17/V/2023, 1 heteromórfico #m (CHNUFPI 5601). **PARÁTIPOS:** mesma localidade, coletor e data do holótipo, 1 #ff (CHNUFPI 5602), 1 #ff, 1 imm. (CHNUFPI 5603), 15/VII/2022, 1 #ff (CHNUFPI 5600); Caverna da Furna Nova (05°02'03.2"S, 37°34'16.2"W), mesmo coletor do holótipo, 14/II/2022, 1 heteromórfico #m (CHNUFPI 5597), 1 heteromórfico #m (CHNUFPI 5598), 1 homeomórfico #m (CHNUFPI 5599); *Felipe Guerra*, Caverna do Urubu (05°34'23.0"S, 37°39'08.7"W), mesmo coletor do holótipo, 22/V/2023, 1 heteromórfico #m (CHNUFPI 5604), 1 heteromórfico #m, 1 imm. (CHNUFPI 5605).

Material adicional examinado. BRASIL. Rio Grande do Norte: Apodi, Gruta do Roncador (05°35'51.8"S, 37°49'40.7"W), O. Dantas *et al.* leg., 21/VII/2022, 1 imm. (ISLA 118273), 28/IV/2023, 1 #ff, 1 imm. (ISLA 118300); *Baraúna*, Caverna da Furna Nova (05°02'03.2"S, 37°34'16.2"W), O. Dantas *et al.* leg., 16/VII/2022, 1 imm. (ISLA 118274), Gruta do Pinga (5°03'08.1"S, 37°32'23.0"W), O. Dantas *et al.* leg., 15/II/2022, 3 #m, 1 #ff (ISLA 118275), D. Bento leg., 25/IV/2017, 1 #ff (ISLA 107267), 28/I/2010,

1 #m, 1 #ff (ISLA 1835); *Felipe Guerra*, Caverna Boa (05°33'59.5"S, 37°41'52.4"W), mesmo coletor, 19/VII/2022, 4 #ff (ISLA 118272), Caverna do Urubu (05°34'22.61"S, 37°39'9.15"W), O. Dantas *et al.* leg., 19/VII/2009, 1 #m (UFMG 17595), mesma localidade (05°34'23.0"S, 37°39'08.7"W), O. Dantas *et al.* leg., 15/VII/2022, 3 #m, 1 imm. (ISLA 118276), Caverna do Buraco Redondo (05°34'43.0"S, 37°39'05.0"W), mesmo coletor, 15/V/2022, 1 imm. (ISLA 118277), 22/V/2023, 3 #m, 2 imm. (ISLA 118278), mesma localidade, D. Bento leg., 27/I/2019, 2 #m, 1 #ff (ISLA 1825), 1 #m, 2 #ff, 1 imm. (ISLA 107268), Caverna da Lapa (05°33'41.9"S, 37°41'42.3"W), O. Dantas *et al.* leg., 20/V/2023, 2 #m, 1 #ff, 2 imm. (ISLA 118298); *Governador Dix-Sept Rosado*, Caverna do Marimbondo Caboclo (05°29'44.1"S, 37°32'42.3"W), D.M. Bento leg., 20/VII/2010, 4 #m, (ISLA 1824).

Etimologia. [Omitido nesta dissertação, devido às regras do ICZN].

Diagnose. Machos de *Rowlandius* sp.n.1 assemelham-se aos de *R. linsduarteae*, *R. pedrosoi* e *R. potiguar* pelo formato subquadrado do flagelo do macho (Figura 16 C-D, Figura 15 A-D), sendo diferenciados destas espécies pela combinação dos seguintes caracteres: (1) presença de projeções dorsais no flagelo do macho que são muito largas e separadas por uma distância maior que sua largura (Figura 15A, C, D, Figura 16); (2) processo póstero-dorsal abdominal mais longo que largo, fortemente projetado dorsalmente (Figura 16 A-B); (3) cerda Dm1 localizada na porção globosa do flagelo, distante do pedúnculo (Figura 16 C, Figura 15 A, C, D); e (4) cerda Dm4 distante da borda posterior do flagelo (Figura 16 C, Figura 15 A, C, D). Adicionalmente, machos de *Rowlandius* sp.n.1 diferem dos de *R. potiguar* pelo formato mais afilado na metade posterior do flagelo (Figura 16 C, Figura 15 A, C, D). As fêmeas de *Rowlandius* sp.n.1 assemelham-se às de *R. potiguar* pela presença de um gonópode mediano no arco quitinoso, distinguindo-se pelos seguintes caracteres (Figura 20 F, Figura S26 E-H): (1) arco quitinoso fortemente achatado; (2) pedúnculo dos lóbulos laterais mais finos; e (3) lóbulos medianos finos e longos (Tabela 6).

Descrição, macho α -heteromórfico (holótipo, CHNUFPI 5601). Coloração (Figura 14 A-D): Padrão geral do prosoma marrom-avermelhado; quelíceras vermelho-escuro; pedipalpo avermelhado; propeltidium marrom-avermelhado; metapeltidium e

mesopeltidium vermelho-claro. Opistossoma e flagelo marrom-esverdeado. Ventralmente esverdeado.

Prossoma (Figura 14 A-C). 1.4 mm de comprimento, 0.41 mm de largura. Propeltidium 1.7 vezes mais longo que largo. Processo anterior do propeltidium mais largo na base que no ápice, subtriangular, com 2+1 cerdas; 2 pares de cerdas dorso-submedianas. Metapeltidium inteiro, 2.6 vezes mais largo que longo. Esterno com 14 cerdas. Ausência de mancha ocular.

Quelícera (Figura 17 B, Figura 19 A). Dedo fixo com 1 dente basal difurcado e pontiagudo, seguido de 5 dentes pequenos e 1 dente grande curvado medialmente, com ápice afilado. Dedo móvel pontiagudo e curvado distalmente, dente de guarda presente, 14 dentes hialinos, e uma fileira de 17 cerdas longas e curvadas no ápice. Setação: G1 com 3 cerdas espatuladas; G2 com 5 cerdas plumosas, com o comprimento similar ao dedo móvel; G3 com 3 cerdas espiniformes; G4 composto por 2 cerdas, lisas, curtas e espiniformes; G5 (A) com 7 cerdas longas; G5 (B) com 7 cerdas plumosas; G6 com uma cerda longa, metade do comprimento do dedo móvel; G7 com 6 cerdas. Fórmula do grupo de cerdas: 3-5-3-2-(7+7)-1-6.

Pedipalpo (Figura 14 A-D, Figura 17 A). Trocânter com 7 cerdas ventrais espiniforme, subcilíndrico em vista lateral, 3.2 vezes mais longo que largo. Fêmur: subcilíndrico, em forma de taco, com a porção basal curvada sinuosamente, base mais estreita que o ápice, 12 vezes mais comprido do que largo; com 3 cerdas dorsais e 4 ventrais. Patela: subcilíndrica, com a porção distal duas vezes mais larga do que a basal; 11 vezes mais longa que larga, com 3 cerdas dorsais, 7 laterais e 4 ventrais. Tíbia: cilíndrica, base e ápice com largura similar; mais curta do que metade do comprimento do fêmur, com 6 cerdas ventrais, 5 laterais e 6 dorsais. Tarso: cônico, com esporões assimétricos (pTS e rTS), com cerdas curtas; a garra é curvada anteriormente e afilada. Esporões tarsais presentes e mais curtos que a garra tarsal.

Opistossoma (Figura 14 A-D). 1.7 mm de comprimento, 1.0 mm de largura. Tergitos: I – IX com um par de cerdas dorsais; VIII – XI um par de cerdas dorso-submedianas e um par de cerdas distolaterais; XII com um par de cerdas dorsais e três pares de cerdas laterais; XI - XII telescópicos; XI e XII com 10 cerdas em cada; tergito XII com processo

abdominal póstero-dorsal curto e ovoide. Esternitos: I e II totalmente coberto com cerdas pequenas; II com uma área com pequenos divertículos; III com 14 cerdas; IV a VII com cerdas médias; VIII a XII com cerdas grandes; X com uma fileira de 6 cerdas.

Flagelo (Figura 15A-D, Figura 16, Figura 18). Flagelo globoso, com forma subquadrada e lados arredondados, com metade posterior afilada distalmente. Presença de três protuberâncias dorsais: um par localizado na região dorso-submediana (entre as cerdas dm3 e dl1), e uma postero-mediana com a cerda dm4 situada posteriormente. Cerdas: dm1 distal ao pedúnculo, localizada na área globosa do flagelo; vm1 anterior à dm1; vm4 anterior à dl1; dl1 ao mesmo nível de vl1; vm5 em nível diferente de dm4; vl2 proximal ao nível de dl3; dm3 ao mesmo nível de dl1 e vl1; dm4 anterior a dl3 e localizada distante da extremidade posterior do flagelo.

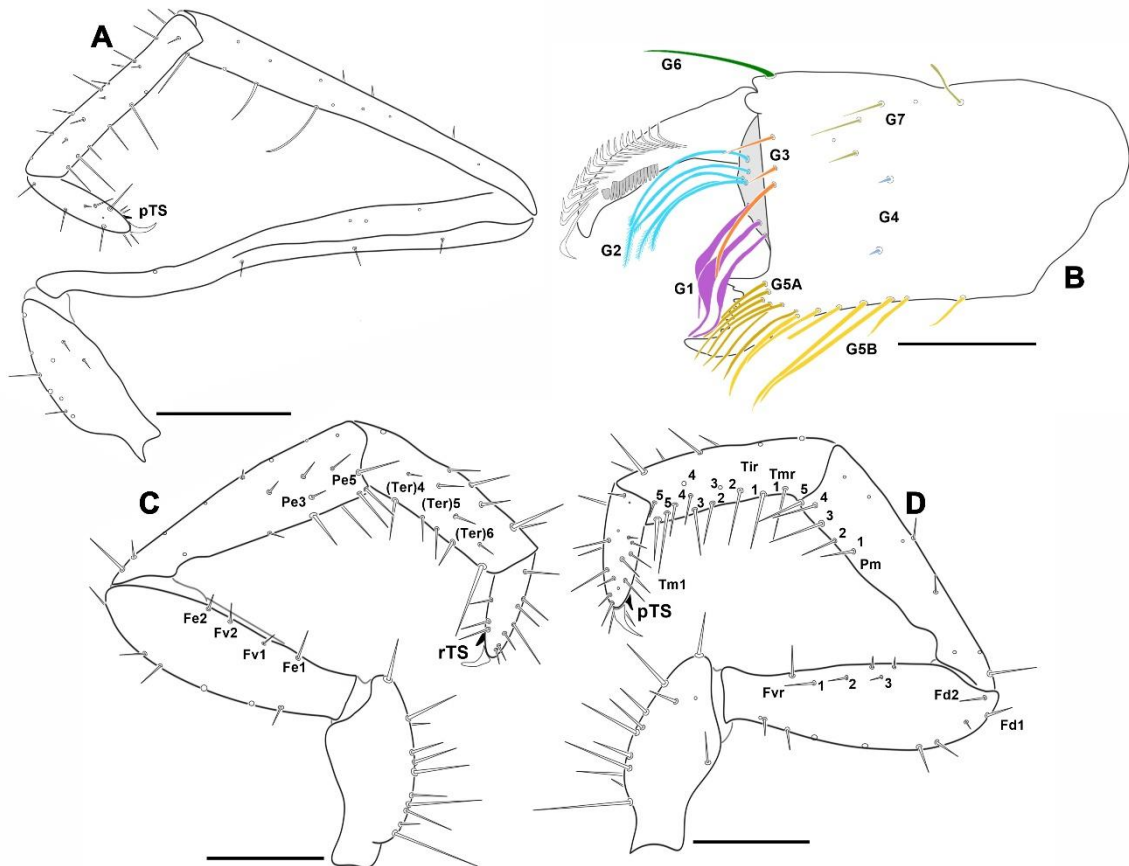


Figura 17. *Rowlandius* sp.n.1, holótipo macho heteromórfico (A-B; Caverna da Pedra Lisa; CHNUFPI 5601) e parátipo macho homeomórfico (E-H; Caverna do Urubu; CHNUFPI 5604), pedipalpos (A, C-D) e quelícera esquerda (B), em vistas prolegateral (A-B, D), e retrolateral (C). Escalas: 0.5 mm (A), 0.1 mm (B) e 0.25 mm (C, D).

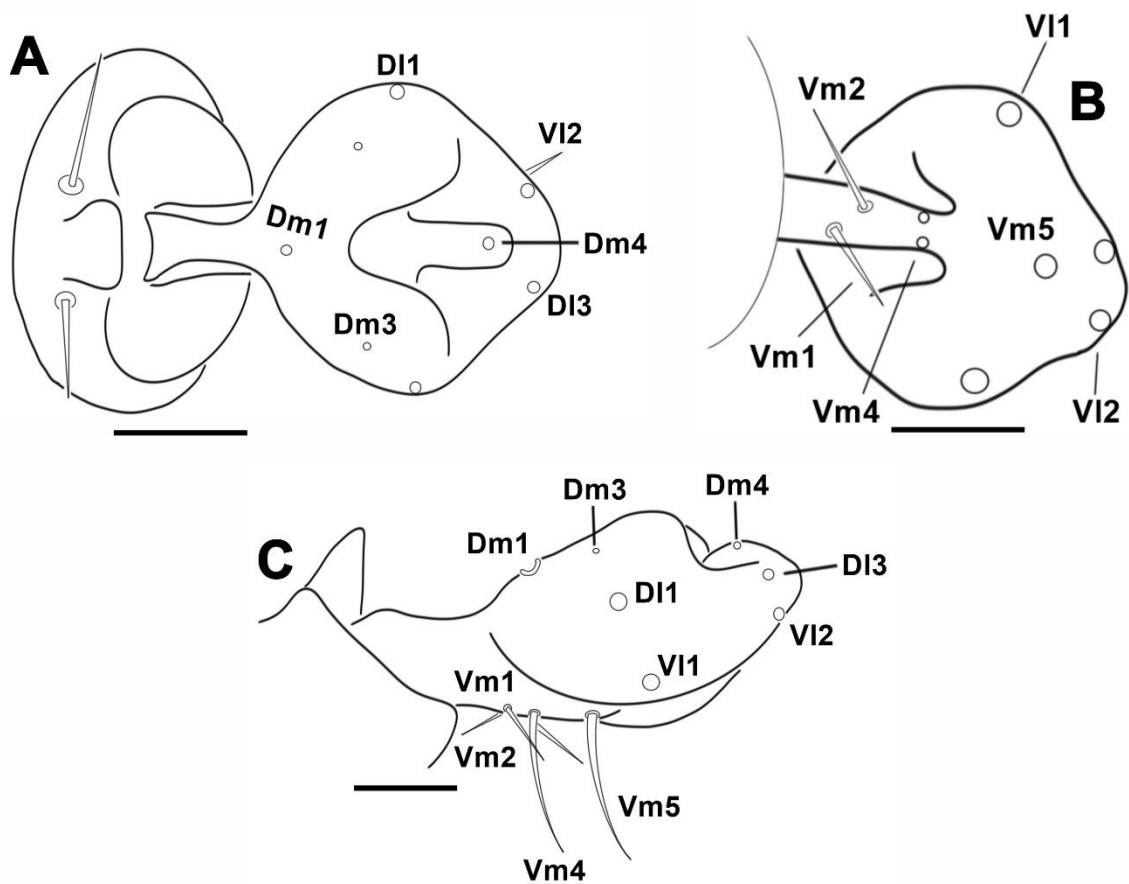


Figura 18. *Rowlandius* sp.n.1, desenhos esquemáticos do flagelo do macho, em vistas dorsal (A), ventral (B) e lateral (C). Escalas: 0.1 mm.

Descrição, macho homeomórfico (parátipo, CHNUFPI 5604). Coloração (Figura 14 E-H): prosoma avermelhado no propeltidium e esverdeado no meso e metapeltidium na região dorsal, e castanho-claro ventral; opistossoma dorsal é marrom-esverdeado escuro e ventral esverdeado claro; quelíceras com padrão de coloração dorsal vermelho-claro e ventral vermelho-escuro; pedipalpos com trocânter, fêmur, patela e tíbia vermelho-claro e tarso vermelho-escuro; pernas: coxa I-IV castanho-claro; trocânter I-IV castanho-esverdeados; fêmur I avermelhado e II-IV marrom-esverdeados; patela I-IV castanho-esverdeadas; tíbia I-IV castanho-claro; tarso I avermelhado claro e II-IV esverdeado.

Prossoma (Figura 14 E-G). 1.2 mm de comprimento, 0.56 mm de largura. Processo anterior do propeltidium com 3 cerdas, seguidas de 2 pares de cerdas dorso-submedianas.

Propeltidium 2.2 vezes mais longo que largo. Metapeltidium inteiro, 0.3 mm de largura e 0.1 mm de comprimento.

Quelícera. Similar ao holótipo.

Pedipalpo (Figura 14 H, Figura 17). 1.1 mm de comprimento. Trocânter: cônico, com 10 cerdas ventrais grandes e espiniformes; ausência de esporão mesal agudo prolateralmente. Fêmur: subcilíndrico, ligeiramente curvado na base, 2.6 vezes mais longo que largo; 10 cerdas dorsais e 3 ventrais; prolateralmente com Fvr1, Fvr2 e Fvr3, e com Fd1 e Fd2; retrolateralmente com Fe1, Fv1, Fv2 e Fe2 próximas a margem ventral. Patela: subcilíndrica, reta dorsalmente e ventralmente com uma curvatura na base, 4.0 vezes mais comprida que larga; 8 cerdas dorsais e 5 ventrais; prolateralmente com Pm1, Pm2, Pm3, Pm4 e Pm5; retrolateralmente com Pe3 e Pe5. Tíbia: cilíndrica, reta, base tão larga quanto o ápice da patela, 3.2 vezes mais longa que larga, com 5 cerdas ventrais e 4 dorsais; prolateralmente com Tm1, Tir com cerdas 1, 2, 3, 4 e 5; Tmr com cerdas 1, 2, 3, 4 e 5; retrolateralmente com Ter com cerdas 4, 5 e 6; Tarso: cônico, com numerosas cerdas, esporões assimétricos pTS (esporões tarsais prolaterais) e rTS (esporões tarsais retrolaterais) presente; garra afiada e curvada. Aberturas glandulares presentes (Figura 19 C-D), como descritas em Santos & Pinto-da-Rocha (2009) e Santos *et al.*, (2013).

Opistossoma (Figura 14 E-G). 1.6 mm de comprimento e 0.8 de largura. Quantidade e localização das cerdas é similar ao holótipo.

Flagelo. Similar ao holótipo.

Descrição, fêmea (parátipo, CHNUFPI 5602). Comprimento 1.2 mm e 0.62 mm de largura. Propeltidium 1.6 vezes mais longo que largo. Padrão geral de coloração e cerdas do prossoma, quelícera e opistossoma similar ao holótipo.

Pedipalpo (Figura 20 A-B). 0.9 mm de comprimento. Trocânter: cônico, com 10 cerdas ventrais grandes e espiniformes; esporão mesal agudo (MS) prolateralmente presente. Fêmur: cilíndrico, 1.6 vezes mais longo que largo; 8 cerdas dorsais e 4 ventrais; prolateralmente com cerdas curtas Fvr1, Fvr2 e Fvr3, e com cerdas longas Fd1 e Fd2; retrolateralmente com Fv1 posicionada lateralmente, Fe1, Fv2 e Fe2 próximas a margem

ventral. Patela: cilíndrica, reta dorsalmente e ventralmente, 2.3 vezes mais longa que larga; 3 cerdas dorsais e 3 ventrais e uma fileira de 5 cerdas; prolateralmente com Pm1, Pm2, Pm3, Pm4 e Pm5; retrolateralmente com Pe3 e Pe5 e uma fileira de 5 cerdas. Tíbia: cilíndrica, 3 vezes mais longa que larga, com 4 cerdas ventrais e 6 dorsais; prolateralmente com Tm1, Tir com cerdas 1, 2, 3, 4 e 5; Tmr com cerdas 1, 2, 3, 4 e 5; retrolateralmente com Ter com cerdas 4, 5 e 6; Tarso: cônico, totalmente coberto de cerdas, esporões assimétricos pTS e rTS presente; garra afiada e curvada, 2 vezes mais longa que o esporão.

Flagelo (Figura 20 C-E). Com 4 segmentos. Segmento II com dm1, vm1 e vm2 presentes; dm1 localizada ao mesmo nível que vm1. Segmento III com dm3 e vm4 e ausência de microcerdas nas laterais; dm3 localizada anteriormente à vm4. Segmento IV com vl1 anterior a vm5 e dl1; dm4 situada entre as cerdas dl1 e dl2; vl2 proximal a dl2 e distal a dm4.

Espermateca (Figura 20 F). Arco quitinizado fortemente achatado, com ângulo mediano $> 150^\circ$ (como em *R. pedrosoi*). Gonópode presente, medianalmente no arco quitinizado. Lóbulos laterais (LL) com pedúnculos longos, levemente curvados e finos; com bulbos globosos, arredondados e orientados medialmente. Lóbulos medianos (ML) longos e finos, com base estreita e ápice arredondado; direcionados para a região anterior.

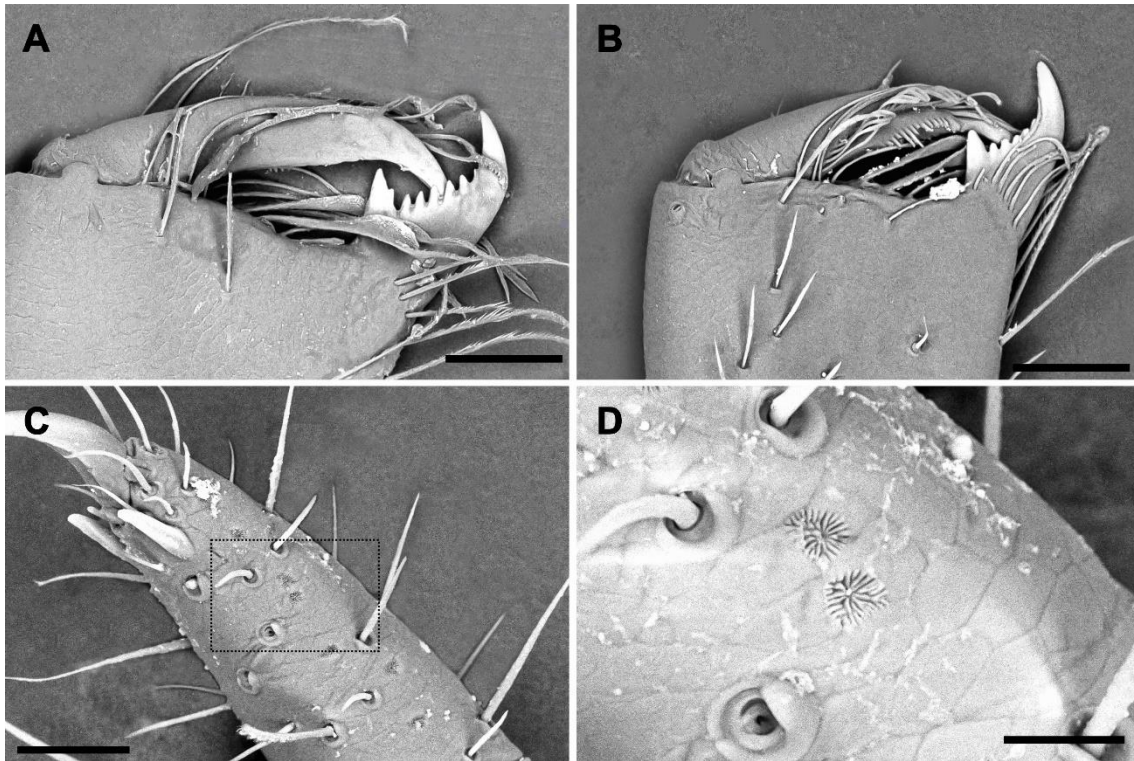


Figura 19. *Rowlandius* sp.n.1, macho (A, C-D; Gruta do Pinga; parátipo, ISLA 118275) e fêmea (B; Caverna Boa; ISLA 118272), fotografia de microscopia eletrônica de varredura da quelícera esquerda e do pedipalpo, em vista prolateral. D: detalhe do poro glandular em área demarcada na figura C. Escalas: 01 mm (A-B), 0.05 mm (C), 0.03 mm (D).

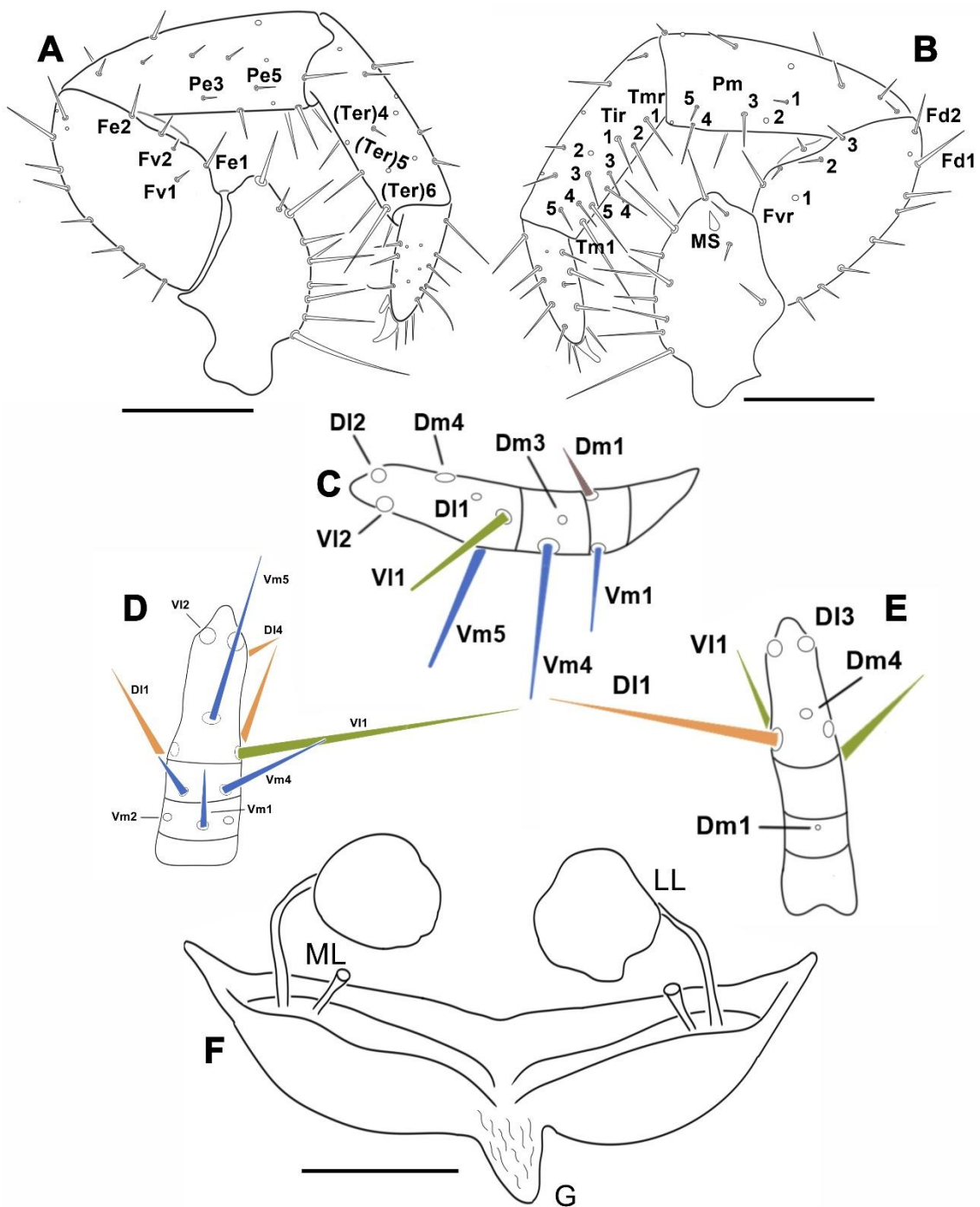


Figura 20. *Rowlandius* sp.n.1, parátipo fêmea (CHNUFPI 5602; Caverna da Pedra Lisa), desenhos esquemáticos do pedipalpo esquerdo (A-B), flagelo (C-E) e da genitália (F), em vistas pro lateral (A), retrolateral (B-C), ventral (D) e dorsal (E-F). ML = lobo mediano; LL = lobo laterla; G = gonópode. Escalas: 0.1 mm.

Distribuição: Espécie registrada e com distribuição confirmada em 13 cavernas no oeste do RN, nos municípios de Apodi, Baraúna, Felipe Guerra e Governador Dix-Sept Rosado, incluindo o Parque Nacional da Furna Feia (Figura 21).

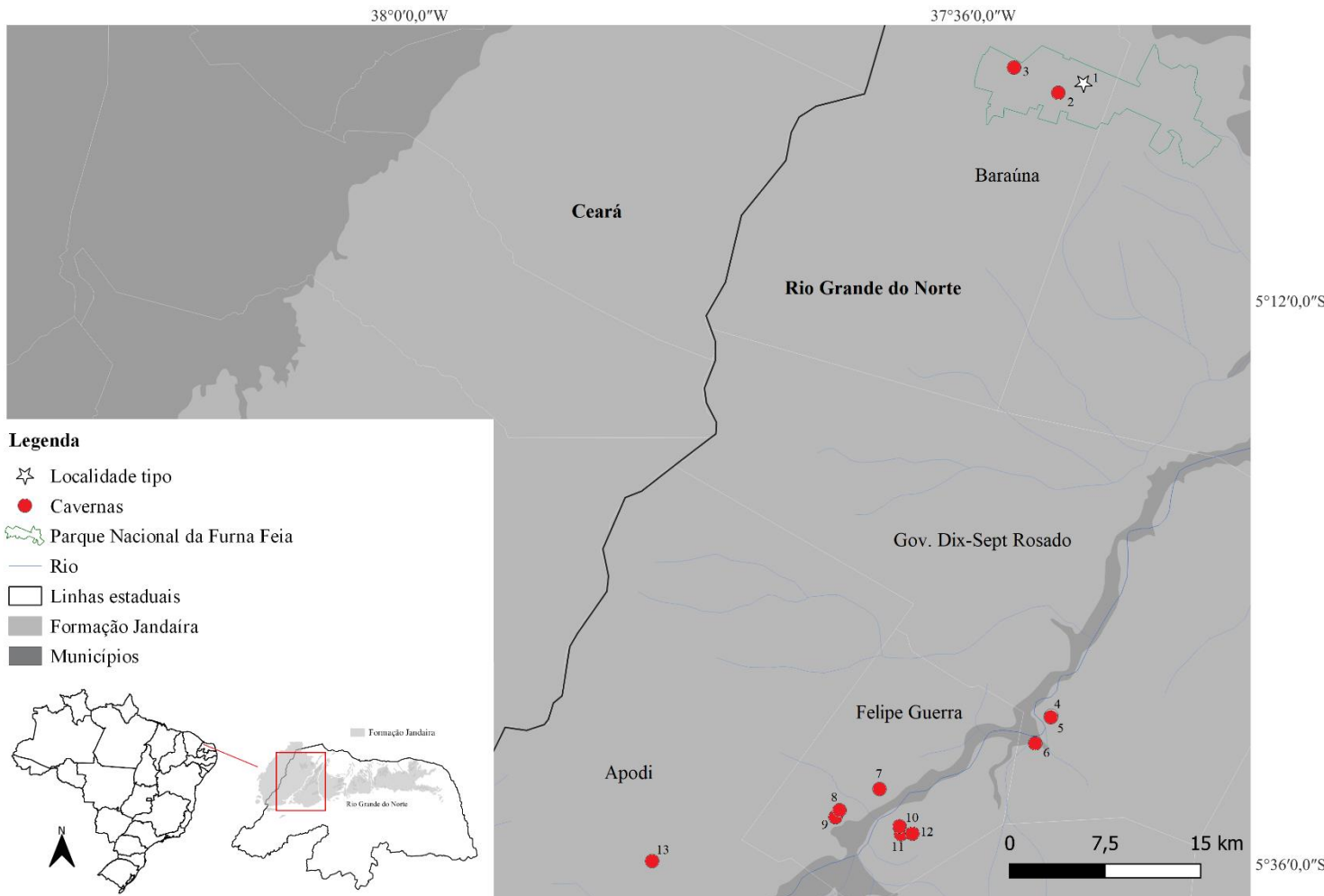


Figura 21. Mapa da distribuição geográfica de *Rowlandius* sp.n.1 nas cavernas do estado do Rio Grande do Norte. Números de cada localidade podem ser consultados na Tabela S13.

Varição. Machos (n=18): comprimento da carapaça: 1.00-2.00; largura da carapaça: 0.41-0.80; comprimento do fêmur do pedipalpo: 0.34-2.20; comprimento da patela do pedipalpo: 0.42-2.02; comprimento da perna I: 3.73-5.18. Fêmeas (n=8): comprimento da carapaça: 1.20-1.77; largura da carapaça: 0.60-0.65; comprimento do fêmur do pedipalpo: 0.42-0.59; comprimento da patela do pedipalpo: 0.44-0.58; comprimento da perna I: 3.84-5.16.

Tabela 6. Comparação entre caracteres diagnósticos entre as espécies brasileiras do grupo *Rowlandius gr. dumistrocae*.

Caractere	<i>R. linsduarteae</i>	<i>R. pedrosoi</i>	<i>R. potiguar</i>	<i>R. ubajara</i>	<i>Rowlandius sp.n.1</i>
Formato do flagelo do macho	Subquadrado	Subquadrado	subquadrado, com lados arredondados	ovóide	subquadrado, com porção posterior lanceolada
Posição da Dm4, no flagelo do macho	distante da borda posterior	distante da borda posterior	próxima à borda posterior	próxima à borda posterior	distante da borda posterior
Posição da Dm1, no flagelo do macho	entre a região globosa e o pedúnculo	entre a região globosa e o pedúnculo	na região globosa, próxima ao pedúnculo	na região globosa, distante do pedúnculo	na região globosa, distante do pedúnculo
Projeção dorsal do flagelo do macho	largas e separadas por uma distância menor que sua largura	largas e separadas por uma distância equivalente à sua largura	estreitas e separadas por uma distância equivalente à sua largura	largas e separadas por uma distância equivalente à sua largura	largas e separadas por uma distância maior que sua largura
Bulbo do lóbulo lateral da genitália feminina	Largo	Largo	largo	pequeno	largo
Pedúnculo do lóbulo lateral da genitália feminina	muito largo e curvo	muito largo, curvo no terço apical, com poros glandulares	largo e curvo	muito largo e quase reto	fino e pouco curvado
Arco quitinizado da genitália feminina	forma de v, com ângulo > 150°	fortemente achatado, com ângulo > 150°	cordiforme, com ângulo 90-100°	quase reto, mais largo que longo	fortemente achatado, com ângulo > 150°
Lóbulo mediano da genitália feminina	cônico, base larga	cônico, base larga	cônico, base larga	largo, reto e longo	longo e fino
Gonópode na genitália feminina	Ausente	Ausente	presente	ausente	presente

5.5.6. Dimorfismo sexual

Em *R. potiguar*, o comprimento da patela do pedipalpo foi explicado significativamente pelo comprimento da perna I e pelo morfótipo sexual (Tabela 7; Figura 22 A-B), não sendo explicado pelo comprimento da carapaça e nem pela interação de variáveis preditoras. Um padrão diferente foi observado em *Rowlandius* sp.n.1, em que apenas interações entre o comprimento da carapaça não resultaram em relações significativas (Tabela 7; Figura 22 C-D). Ainda que o comprimento da patela do pedipalpo tenha sido utilizado para, objetivamente, separar-se machos heteromórficos e homeomórficos (Figura 23 A, E), esta distribuição bimodal só foi acompanhada também pelo comprimento do fêmur do pedipalpo (Figura 23 B-F), com indivíduos machos homeomórficos (ou seja, machos considerados menores) com comprimento da carapaça (Figura 23 C-G) e comprimento da perna I (Figura 23 D-H) maiores que certos machos heteromórficos.

Tabela 7. Sumário de modelos lineares generalizados realizados, separadamente para *R. potiguar* e *Rowlandius* sp.n.1. para investigar a relação entre o comprimento da patela do pedipalpo e seus potenciais preditores: comprimento da carapaça, comprimento da perna I e morfótipo sexual (ou seja: machos heteromórficos, machos homeomórficos e fêmeas), bem como a interação entre estas variáveis. Somente interações significativas ($p < 0.05$) são mostradas.

<i>R. potiguar</i>	Erro residual	g.l.	Erro dos desvios	F	p
Perna I	11.4829	48	4.3461	297.88	<0.001
Morfótipo sexual	2.5729	46	1.7732	33.372	<0.001

<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Erro residual	g.l.	Erro dos desvios	F	p
Carapaça	1.01076	24	5.4809	44.638	<0.001
Perna I	2.762	23	2.7189	121.98	<0.001
Morfótipo sexual	1.91318	21	0.8057	42.246	<0.001
Perna I: Morfótipo sexual	0.37544	19	0.4302	8.2903	0.002

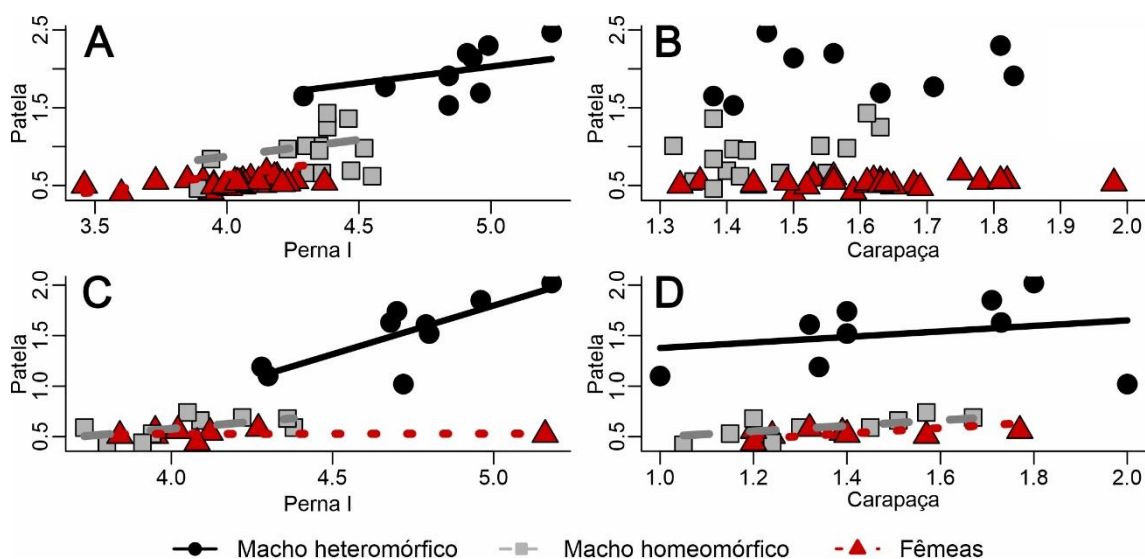


Figura 22. Relação entre o comprimento da patela do pedipalpo e o comprimento da perna I (A-C) e da carapaça (B-D), entre machos heteromórficos (linhas e círculos pretos), machos homomórficos (linhas quadrados cinza) e fêmeas (linhas e triângulos vermelhos), para *R. potiguar* (A-B) e *Rowlandius* sp.n.1 (C-D).

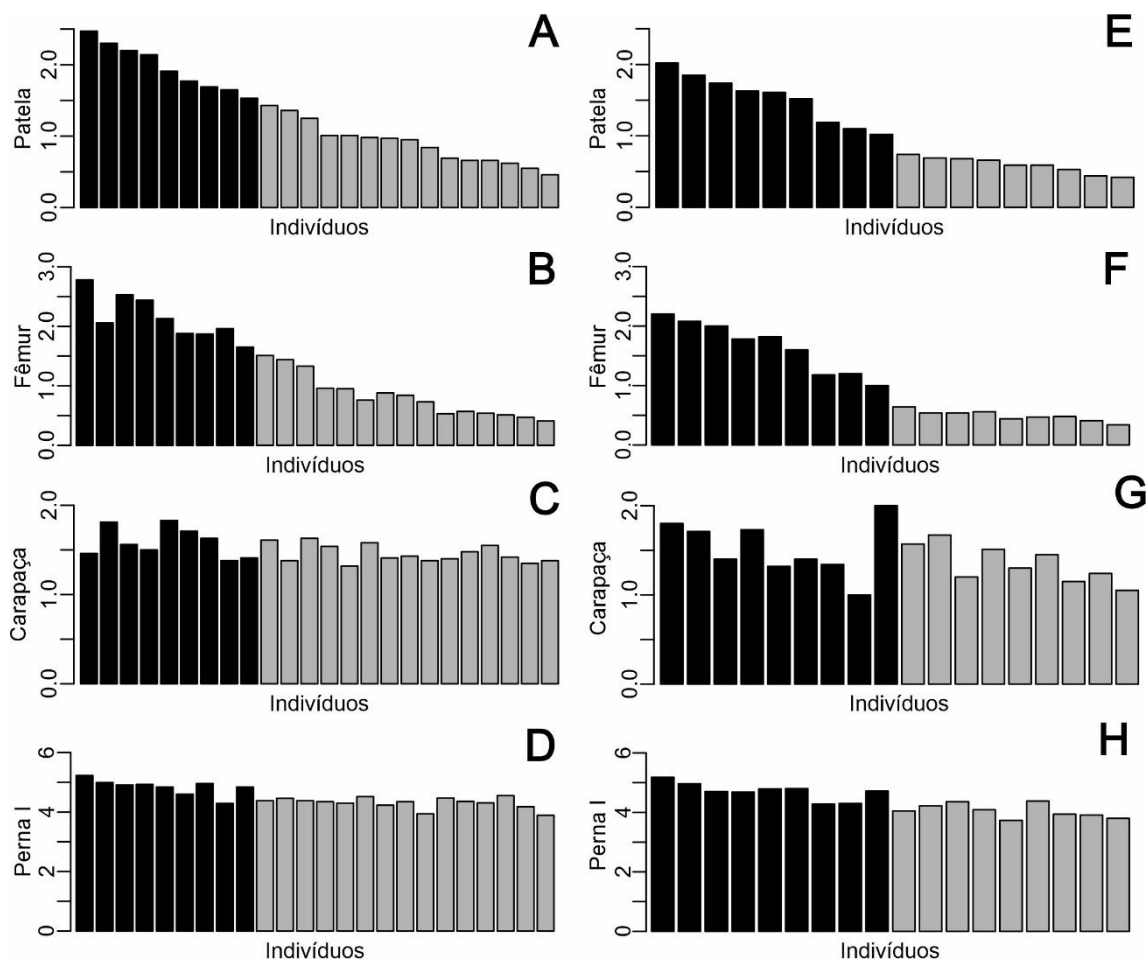


Figura 23. Distribuição de tamanhos de machos de *Rowlandius potiguar* (A-D) e *Rowlandius sp.n.1* (E-H) incluindo indivíduos heteromórficos (barras pretas) e homomórficos (barras cinzas). Os indivíduos estão alinhados em ordem decrescente do comprimento da patela do pedipalpo, seguindo a mesma ordem em todas as figuras. A, E: comprimento da patela do pedipalpo; B, F: comprimento do fêmur do pedipalpo; C-G: comprimento da carapaça; D-H: comprimento da perna I. Todas as medidas estão em milímetros.

5.6. DISCUSSÃO

As coletas que realizamos dos espécimes em 26 localidades, incluindo novos registros, proporcionou uma visão abrangente da distribuição geográfica dos *Rowlandius* das Formações Jandaíra e Jucurutu no RN. Em particular, a presença de indivíduos em 12 localidades previamente conhecidas e em 14 sem registros prévios indicam uma distribuição mais ampla do que se conhecia na literatura (Santos *et al.*, 2013; Bento *et al.*, 2021). Após a delimitação das espécies, *R. potiguar* ocorre em 33 cavernas, *Rowlandius* sp.n.1 em 13, ambas na Formação Jandaíra, e *Rowlandius* sp.n.2 apenas na caverna Casa de Pedra, na Formação Jucurutu. *Rowlandius ubajara* também foi registrada em mais três cavernas (quatro no total), sugerindo que a outra espécie da Caatinga, *R. pedrosoi* também possa ocorrer em outras cavernas adjacentes. Além disso, as análises dos dados moleculares e morfológicos apontaram consistentemente para a existência de um complexo de espécies, com duas potenciais espécies novas, e populações bem estruturadas de *R. potiguar* e *Rowlandius* sp.n.1 nas cavernas da Formação Jandaíra, desafiando a concepção anterior de uma única espécie com ampla distribuição.

Dada a conhecida disparidade nas características evolutivas dos genes mitocondriais e nucleares (Campillo *et al.*, 2019), era esperado uma divergência menor entre as linhagens no marcador nuclear devido aos menores número de cópias e tamanho populacional efetivo, assim como esperava-se acessar pelo marcador mitocondrial a influência das diversas mudanças climáticas, como glaciações, do Plioceno e Pleistoceno. Os resultados obtidos através das filogenias para cada marcador convergem num padrão similar, assim como a árvore multilocus, separando *R. potiguar* em três grandes clados: *R. potiguar*, *Rowlandius* sp.n.1 e *Rowlandius* sp.n.2. Embora os métodos de delimitação de linhagens utilizando o gene *cox1* (Figura 2) tenha identificado mais de três linhagens, como observado nos resultados para o gene *28S* (Figura 3), pode-se inferir que as delimitações dentro dos principais clados refletem estruturação populacional, considerando os demais resultados das análises moleculares e morfológicas. Essa estruturação populacional foi abordada nas análises filogeográficas de *R. potiguar* e *Rowlandius* sp.n.1, que indicou cinco e três populações, respectivamente.

Quanto à topologia datada o gene *cox1* (Figura S25), as estimativas de divergência das linhagens foram fundamentadas na taxa mitocondrial empregada em uma espécie de aracnídeo endêmica da Caatinga, *Sicarius cariri* (Magalhaes *et al.* 2014), que teve como

resultado dois grandes clados com divergência no Mioceno, indicando linhagens com evolução independente. No entanto, em *Rowlandius* da Caatinga as divergências mais antigas remontam ao final do Plioceno e início do Pleistoceno, corroborando outros estudos com artrópodes que indicaram que as variações climáticas do Pleistoceno influenciaram as linhagens de superfície a buscar refúgios nas cavernas, propiciando o surgimento de adaptações e especiação (Podnar *et al.*, 2021; Bátori *et al.*, 2022).

A ausência de um padrão de distribuição geográfica claro entre as diferentes espécies da Formação Jandaíra (*R. potiguar* e *Rowlandius* sp.n.1) permite uma breve compreensão da ecologia e evolução desse grupo. Cada espécie e população ocorre em alopatria, refletindo principalmente o isolamento por lajedos em que são encontradas, padrão similar, embora com menor estruturação, ao encontrado para a cigarrinha troglóbia *K. troglobia* do oeste potiguar (Bento, 2021). Isso pode estar relacionado às condições ambientais, ao passo que as cavernas em um mesmo lajedado podem funcionar como um sistema interconectado (Bento, 2021) e são mais úmidas que o ambiente hipógeo. Logo, as espécies podem utilizar como refúgio e, conseqüentemente, permanecem isoladas. A ausência de simpatria levanta a possibilidade de que a exclusão competitiva pode ter ocorrido entre elas, ainda mais por se encontrarem em *habitat* com recursos limitados, como é o caso de cavernas (Bento *et al.* 2016).

Os resultados obtidos neste estudo se alinham com os resultados de estudos recentes envolvendo dados moleculares de invertebrados subterrâneos terrestres da Formação Jandaíra. Estudos envolvendo a cigarrinha troglóbia *Kinnapotiguara troglobia* (Bento, 2021) e o grilo *Endecous potiguar* (Costa, 2022) também indicaram possíveis complexos de espécies, com sete e duas espécies, respectivamente. Embora em *K. troglobia* e *E. potiguar* tenha se observado uma estruturação populacional que evidencia o potencial papel do rio Apodi-Mossoró como barreira geográfica, o mesmo não apresentou uma associação significativa em *Rowlandius* sp.n.1 (Tabela 4).

Além disso, os dados moleculares revelaram uma distância genética significativa entre as diferentes espécies (*R. potiguar*, *Rowlandius* sp.1 e *Rowlandius* sp.n.2 (Tabela 2), se comparado com distâncias genéticas observadas para as espécies de aranhas troglóbias identificadas no complexo *Telema cucurbitina* (Zhang & Li, 2014), variando entre 5.4% a 17.3% para o gene *cox1*.

Os dados morfológicos também sustentam essa separação. *Rowlandius* sp.n.1 exibe um notável dimorfismo sexual, com machos heteromórficos e homeomórficos, o que também foi descrito para *R. potiguar* e *R. pedrosoi* (Santos *et al.*, 2013; Giupponi *et al.*, 2016), sugerindo se tratar de uma sinapomorfia do grupo. No entanto, a morfometria revelou que o comprimento da patela do pedipalpo é influenciado significativamente pelo comprimento da perna I e pelo morfotipo sexual (Figura 22), não sendo explicado pela carapaça, contrariando observações vista em Santos *et al.* (2013). As características diagnósticas distintas em relação aos machos incluem o formato do flagelo, sua projeção, as posições das cerdas dm1 e dm4, e o processo póstero-dorsal abdominal (Tabela 6). Já nas fêmeas, destacam-se o pedúnculo do lóbulo lateral da genitália feminina e o lóbulo mediano (Tabela 6). Essas informações permitem uma compreensão mais profunda das diferenças entre as linhagens, contribuindo para elucidar a taxonomia desse gênero e promover sua adequada identificação, distribuição geográfica e estado de conservação.

Apesar de *R. potiguar* e *Rowlandius* sp.n.1 estarem protegidas nas cavernas do Parque Nacional da Furna Feia, a maioria das localidades e populações encontram-se fora de áreas protegidas, continuando vulneráveis às diferentes ameaças e perturbações como visitação desordenada, mineração, desmatamento e atividades agropecuárias (Ferreira *et al.*, 2010). Ressaltamos a importância de considerar estratégias de conservação das cavernas que não estão em áreas protegidas, e que incluem populações distintas, sobretudo, as que apresentam haplótipos exclusivos (Tabela S10) e com maior diversidade nucleotídica (Tabela 3), como é o caso das que ocorrem em Felipe Guerra e Gov. Dix-Sept Rosado. Quanto à espécie *Rowlandius* sp. 2, apesar de estar restrita a uma única localidade, a caverna Casa de Pedra, na formação Jucurutu, encontra-se dentro de uma Unidade de Conservação estadual, o Monumento Natural Cavernas de Martins. Esta UC, no entanto, foi criada apenas recentemente e ainda não está devidamente implantada. Durante as coletas, por exemplo, foram verificados diversos impactos associados ao turismo desordenado (tais como pisações, lixo e compactação do piso da caverna).

Portanto, a presença dessas espécies em áreas protegidas desempenha um papel crucial na conservação, pois oferecem um refúgio seguro, protegendo as espécies contra ameaças externas, como a degradação do *habitat* e impactos das atividades antrópicas. Além disso, as áreas protegidas proporcionam condições propícias para o desenvolvimento natural das populações, promovendo a diversidade genética e preservando a integridade do ecossistema.

Por outro lado, a criação de áreas protegidas, por si só, não garante a conservação da biodiversidade. É necessária à sua efetiva implantação, por meio do ordenamento do uso dos recursos naturais e da conscientização das populações do entorno.

5.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Álavarez P.F. & Hormiga, G. 2007. A protocol for digesting internal soft tissues and mounting spiders for scanning electron microscopy. **The Journal of Arachnology**, v. 35, n. 3, p. 538-542.

Armas, L. D. 2002. Nuevas especies de *Rowlandius* Reddell & Cokendolpher, 1995 (Schizomida: Hubbardiidae) de Cuba. **Revista Ibérica de Aracnología**, 6, 149-167.

Armas, L. D. et al. 2009. Nuevo *Rowlandius* Reddell & Cokendolpher, 1995 (Schizomida: Hubbardiidae) de la Sierra San Luis, Venezuela noroccidental. **Papéis Avulsos de Zoologia**, 49, 361-368.

Batori, Z. et al. 2022. Topographic depressions provide potential microrefugia for ground-dwelling arthropods. **Elem Sci Anth**, v. 10, n. 1, p. 00084.

Bento, D.D.M. A. et al. 2016. Seasonal variations in cave invertebrate communities in the semiarid Caatinga, Brazil. **Journal of Cave and Karst Studies**, v. 78, n. 2, p. 61-71.

Bento, D.D.M. et al. 2021. Subterranean “oasis” in the Brazilian semiarid region: neglected sources of biodiversity. **Biodiversity and Conservation**, v. 30, n. 13, p. 3837-3857.

Bento, D. D. M. 2021. **Filogeografia de artrópodes troglóbios do Oeste da formação Jandaíra, Nordeste do Brasil: evolução e conectividade biológica em ambientes subterrâneos como base para ações de conservação**. Tese. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

Bidegaray-Batista, L. & Arnedo, M.A. 2011. Gone with the plate: the opening of the Western Mediterranean basin drove the diversification of ground-dweller spiders. **BMC Evolutionary Biology**, v. 11, n. 1, p. 1-15.

Cala-Riquelme, F. 2021. Autodesk Sketchbook: An application that minimizes time and maximizes results of taxonomic drawing. **Zootaxa**, v. 4963, n. 3, p. 577-586.

Campillo, L. C. et al. 2019. Mitochondrial genomes of the bird genus *Piranga*: rates of sequence evolution, and discordance between mitochondrial and nuclear markers. **Mitochondrial DNA Part B**, v. 4, n. 2, p. 2566-2569.

Conti, J.B. et al. 2003. Geoecologia: o clima, os solos e a biota. **Geografia do Brasil**, v. 6, p. 67-208.

Cokendolpher, J. C., & Reddell, J. R. 1992. Revision of the Protoschizomidae (Arachnida: Schizomida) with notes on the phylogeny of the order. Texas Memorial Museum, **Speleological Monographs**, 3, 31-74.

Cokendolpher, J. C., & Reddell, J. R. 2000. New and rare Schizomida (Arachnida: Hubbardiidae) from South America. **Amazoniana: Limnologia et Oecologia Regionalis Systematis Fluminis Amazonas**, 16(1-2), 187-212.

Costa, N. K. R. D. 2022. **Filogeografia do grilo *Endecous potiguar* Castro-Souza, Zefa & Ferreira, 2017 (Orthoptera, Phalangopsidae): investigação de linhagens crípticas em cavernas na formação Jandaíra** (Master's thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Norte).

Drummond, A.J. et al. 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. **Molecular biology and evolution**, v. 29, n. 8, p. 1969-1973.

Excoffier, L. et al. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, v. 131, n. 2, p. 479-491.

Excoffier, L. et al. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular ecology resources**, v. 10, n. 3, p. 564-567.

Ferreira, R. L. et al. 2010. Fauna subterrânea do estado do Rio Grande do Norte: caracterização e impactos. **Revista Brasileira de Espeleologia**, v. 1, n. 1, p. 25-51.

Folmer M. et al. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. **Mol Mar Biol Biotechnol** 3(5): 294-9.

- Framenau, V. W. et al. 2018. Molecular and morphological characterization of new species of hypogean *Paradraculoides* (Schizomida: Hubbardiidae) from the arid Pilbara bioregion of Western Australia. **The Journal of Arachnology**, v. 46, n. 3, p. 507-537.
- Fu, Y.X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. **Genetics**, v. 147, n. 2, p. 915-925.
- Fujisawa, T., & Barraclough, T. G. 2013. Delimiting species using single-locus data and the Generalized Mixed Yule Coalescent approach: a revised method and evaluation on simulated data sets. **Systematic biology**, 62(5), 707-724.
- Giupponi, L. A. P. et al. 2016. *Rowlandius dumitrescoae* species group: new diagnosis, key and description of new cave-dwelling species from Brazil (Schizomida, Hubbardiidae). **ZooKeys**, (632), 13.
- Guillot, G. et al. 2005. GENELAND: a computer package for landscape genetics. **Molecular ecology notes**, v. 5, n. 3, p. 712-715.
- Hedin, M. 2015. High-stakes species delimitation in eyeless cave spiders (Cicurina, Dictynidae, Araneae) from central Texas. **Molecular ecology**, v. 24, n. 2, p. 346-361.
- Kapli, P. et al. 2017. Multi-rate Poisson tree processes for single-locus species delimitation under maximum likelihood and Markov chain Monte Carlo. **Bioinformatics**, 33(11), 1630-1638.
- Lawrence, R. F. 1969. The trichoid structures on the chelicerae of the short-tailed whip-scorpions (Schizomida; Arachnida). **Transactions of the Royal Society of South Africa**, v. 38, n. 2, p. 123-132.
- Leigh, J.W. et al. 2015. Popart: full-feature software for haplotype network construction. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 6, n. 9, p. 1110-1116.
- Librado, P. et al. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, v. 25, n. 11, p. 1451-1452.
- Maia, R. P. et al. 2012. A importância do controle tectônico para a formação da paisagem cárstica na Bacia Potiguar, Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Geomorfologia**, 13(4).

Magalhaes, I. F. L. et al. 2014. Strong spatial structure, Pliocene diversification and cryptic diversity in the Neotropical dry forest spider *Sicarius cariri*. **Molecular Ecology**, 23(21)

MMA – Ministério Do Meio Ambiente. 2018. Áreas Prioritárias para a Conservação, Utilização Repartição de Benefícios da Biodiversidade Prioritárias para a Biodiversidade. **Diário Oficial da União**, Brasília/DF, seção 1, n. 243, p. 160, 19 dez. 2018. Portaria N° 463, de 18 de dezembro de 2018.

Podnar, M. et al. 2021. Hidden diversity, ancient divergences, and tentative Pleistocene microrefugia of European scorpions (Euscorpiidae: Euscorpiinae) in the eastern Adriatic region. **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research**, v. 59, n. 8, p. 1824-1849.

Puillandre, N. et al. 2021. ASAP: assemble species by automatic partitioning. **Molecular Ecology Resources**, 21(2), 609-620.

Reddell, J.R. & Cokendolpher, J. C. 1995. Catalogue, bibliography, and generic revision of the order Schizomida (Arachnida). Texas Memorial Museum, College of Natural Sciences, **University of Texas at Austin**.

Revelle, W. 2023. psych: Procedures for Psychological, Psychometric, and Personality Research. Evanston, Illinois: Northwestern University. R package version 2.3.9. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=psych>. Acesso em: jan de 2024.

Reis J.R. et al. 2015. RT4Bio: R tools for biologists. **R package version**, v. 1, 2015.rT4Bio - R Tools for Biologists. Junho de 2015. DOI: 10.13140/RG.2.1.4532.2966.

Ruiz, G.R.S & Valente, R.M. 2017. The first schizomid from a dry forest in South America (Arachnida: Schizomida). **Zootaxa**, v. 4311, n. 1, p. 81–95-81–95.

Ruiz, G.R.S & Valente, R.M. 2019. Description of a new species of *Surazomus* (Arachnida: Schizomida), with comments on homology of male flagellum and mating march anchorage in the genus. **PloS one**, v. 14, n. 3, p. e0213268.

Santos, A.J. et al. 2008. The arachnid order Schizomida in the Brazilian Atlantic Forest: a new species of *Rowlandius* and new records of *Stenochrus portoricensis* (Schizomida: Hubbardiidae). **Zootaxa**, v. 1850, n. 1, p. 53-60.

- Santos, A.J. & Pinto-da-Rocha, R. 2009. A new micro-whip scorpion species from Brazilian Amazonia (Arachnida, Schizomida, Hubbardiidae), with the description of a new synapomorphy for Uropygi. **The Journal of Arachnology**, v. 37, n. 1, p. 39-44.
- Santos, A.J. et al. 2013. Two new cave-dwelling species of the short-tailed whipscorpion genus *Rowlandius* (Arachnida: Schizomida: Hubbardiidae) from Northeastern Brazil, with comments on male dimorphism. **Plos One**, v. 8, n. 5, p. e63616.
- Scrucca, L. et al. 2016. mclust 5: clustering, classification and density estimation using Gaussian finite mixture models. **The R Journal**, v. 8, n. 1, p. 289-317.
- Silva, V.P.R. 2004. On climate variability in Northeast of Brazil. **Journal of Arid Environments**, v. 58, n. 4, p. 575-596.
- Sistema de Avaliação do Risco de Extinção da Biodiversidade – SALVE. ICMBio, 2023. Disponível em: <https://salve.icmbio.gov.br/>. Acesso em: 30 de nov. de 2023.
- Stephens, S. R. et al. 2001. Changes in the leachability of metals from dredged canal sediments during drying and oxidation. **Environmental pollution**, 114(3), 407-413.
- Tamura, K. et al. 2021. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. **Molecular biology and evolution**, v. 38, n. 7, p. 3022-3027.
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. **Genetics**, v. 123, n. 3, p. 585-595.
- Teruel, R. et al. 2012. De cuatro nuevos *Rowlandius* Reddell & Cokendolpher 1995 (schizomida: hubbardiidae). **Revista Ibérica de Aracnología** 21: 97–112.
- Thompson, J.D. et al. 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**, v. 22, n. 22, p. 4673-4680.
- Villarreal, O. M. et al. 2016. New proposal of setal homology in Schizomida and revision of *Surazomus* (Hubbardiidae) from Ecuador. **PLoS One**, v. 11, n. 2, p. e0147012.
- Wang, X. et al. 2004. Wet periods in northeastern Brazil over the past 210 kyr linked to distant climate anomalies. **Nature**, v. 432, n. 7018, p. 740-743.
- Zhang, J. et al. 2013. A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. **Bioinformatics**, 29(22), 2869-2876.

Zhang, Y & Li, S. 2014. A spider species complex revealed high cryptic diversity in South China caves. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 79, p. 353-358.

5.8. MATERIAL SUPLEMENTAR

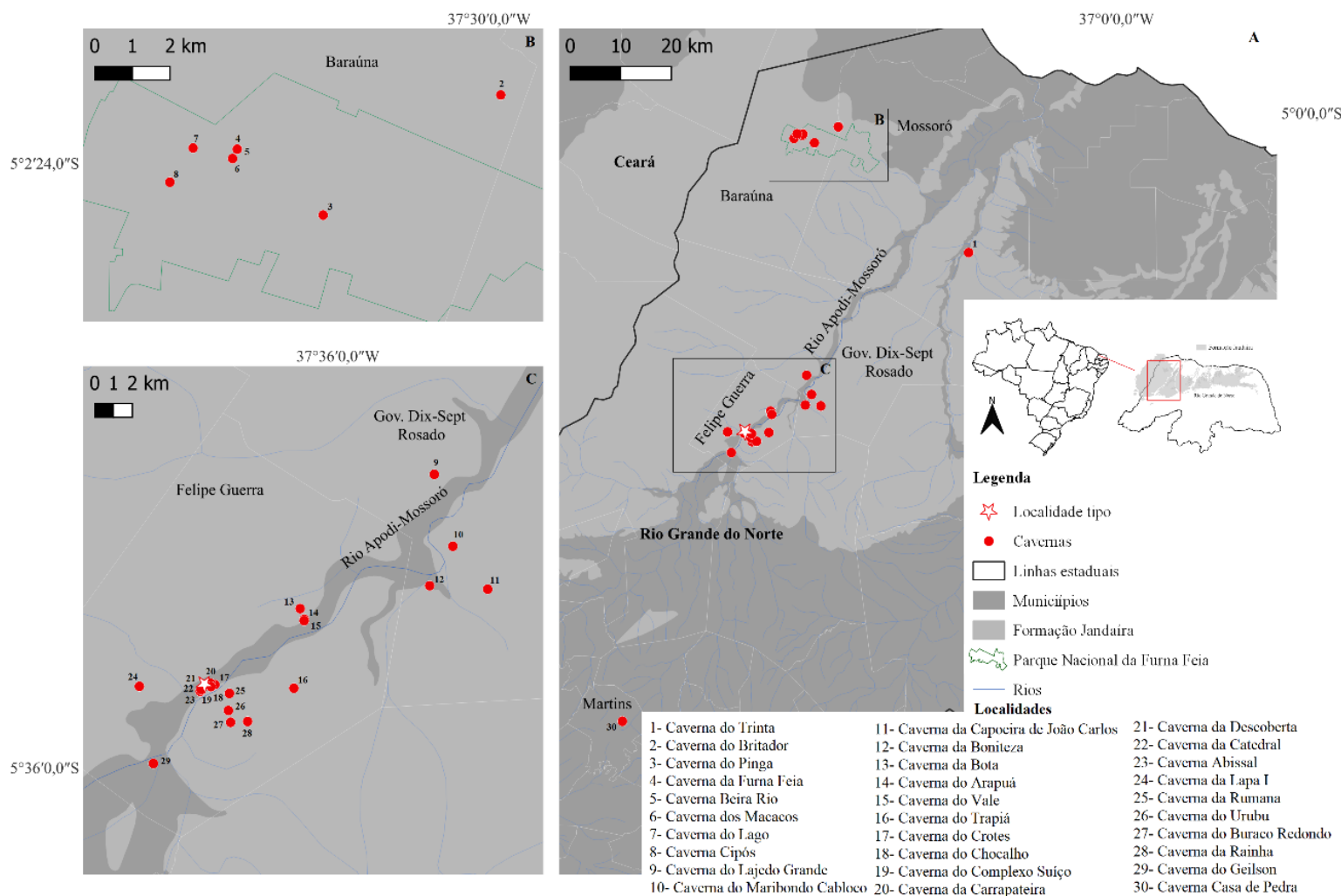


Figura S24. Mapa da distribuição geográfica conhecida de *Rowlandius potiguar* nas cavernas do estado do Rio Grande do Norte, anteriormente a este estudo. **A** – Cavernas em diferentes municípios. **B** – Localidades no Parque Nacional da Furna. **C** – Ampliação da área com concentração de cavernas nos municípios de Felipe Guerra e Gov. Dix-Sept Rosado.

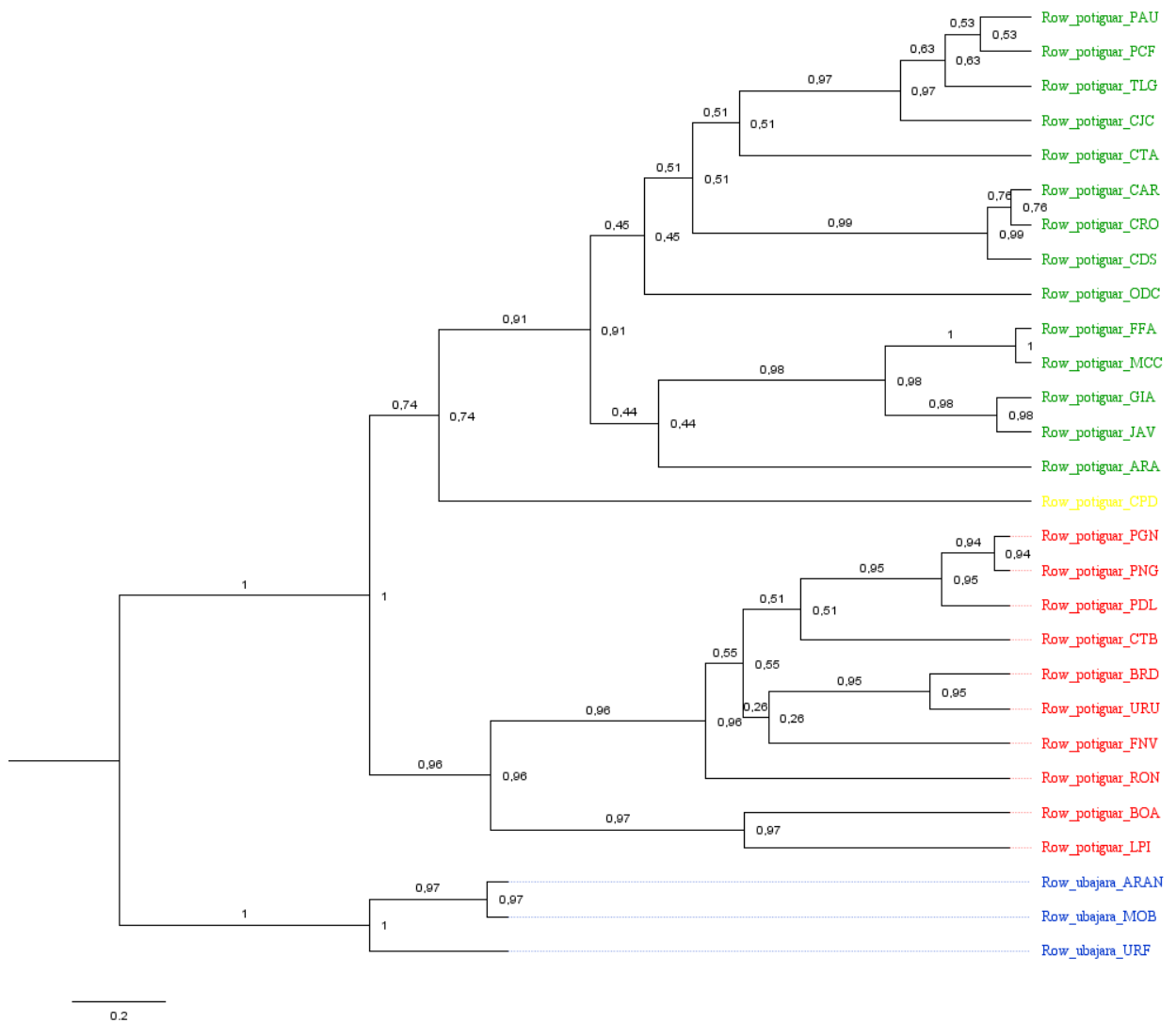


Figura S25. Árvore filogenética de consenso resultante de inferência bayesiana utilizando dados multilocus (*cox1* e *28S*). As cores representam cada clado, sendo verde para *R. potiguar*, amarelo para *Rowlandius* sp.n.2, vermelho para *Rowlandius* sp.n.1 e azul para *R. ubajara*. Cada ramo da árvore apresenta valor de probabilidade posterior.

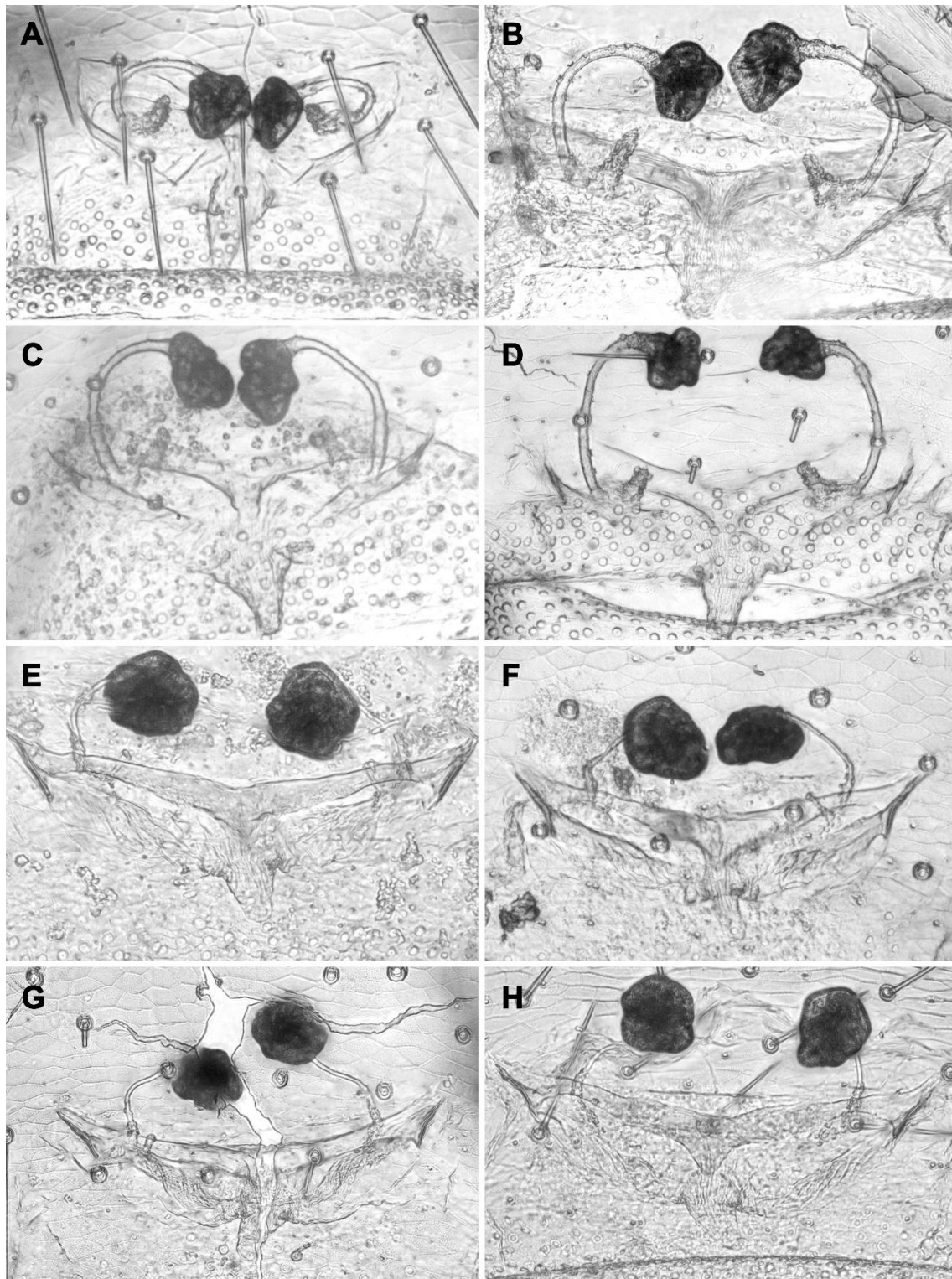


Figura S26. *R. potiguar* (A-D) e *Rowlandius* sp.n.1 (E-H), variação da genitália feminina, vista dorsal. A: Gruta da Carrapateira, localidade-tipo de *R. potiguar*; B: Caverna dos Dois; C: Caverna Capoeira de João Carlos; D: Gruta do Crotes (ISLA 1827); E: Caverna Pedra Lisa, localidade-tipo de *Rowlandius* sp.n.1; F: Caverna Boa; G: Caverna Buraco Redondo; H: Gruta do Pinga. Imagens fora de escala.

Tabela S8. Espécimes de *Rowlandius* utilizados nas análises morfológicas deste estudo.

Nº de Tombo	Espécie	Caverna	Sexo	Dissecação	MEV
ISLA-118281	<i>R. potiguar</i>	Crotes	F	X	
ISLA-118290	<i>R. potiguar</i>	Arapuá	F	X	
ISLA-118290	<i>R. potiguar</i>	Arapuá	F	X	
ISLA-118294	<i>R. potiguar</i>	Do Dois	F	X	
ISLA-118288	<i>R. potiguar</i>	Furna Feia	F	X	
ISLA-118288	<i>R. potiguar</i>	Furna Feia	F	X	
ISLA-118283	<i>R. potiguar</i>	Capoeira de João Carlos	F	X	
ISLA-118291	<i>R. potiguar</i>	Carrapateira	F	X	
ISLA-118280	<i>R. potiguar</i>	Olho D'água do Cedro	F	X	
ISLA-118282	<i>R. potiguar</i>	Trinta	F	X	
ISLA-118299	<i>R. potiguar</i>	Pau	F	X	
ISLA-118297	<i>R. potiguar</i>	Poço Feio	F	X	
ISLA-118296	<i>R. potiguar</i>	Macacos	F	X	
ISLA-118298	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Lapa I	F	X	
ISLA-118298	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Lapa I	F	X	
ISLA-118276	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Urubu	F	X	
ISLA-118302	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Pedra Lisa	F	X	
ISLA-118302	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Pedra Lisa	F	X	
ISLA-118275	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Pinga	F	X	
ISLA-118303	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Furna Nova	F	X	
ISLA-118272	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Boa	F	X	
ISLA-118277	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Buraco Redondo	F	X	
ISLA-118283	<i>R. potiguar</i>	Capoeira de João Carlos	M		X
ISLA-118288	<i>R. potiguar</i>	Furna Feia	M		X
ISLA-118303	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Furna Nova	M		X
ISLA-118275	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Pinga	M		X
ISLA-118278	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Buraco Redondo	M		X

Tabela S9. Amostras de *Rowlandius* utilizadas nas análises moleculares deste estudo.

Nº de Tombo	Espécie	Caverna	Código	Cox1	28S
ISLA-118155	<i>R. potiguar</i>	Furna Feia	Row_potiguar_FFA-02	X	X
ISLA-118166	<i>R. potiguar</i>	Furna Feia	Row_potiguar_FFA-27	X	
ISLA-118162	<i>R. potiguar</i>	Furna Feia	Row_potiguar_FFA-09	X	
ISLA-118156	<i>R. potiguar</i>	Furna Feia	Row_potiguar_FFA-03	X	X
ISLA-118157	<i>R. potiguar</i>	Furna Feia	Row_potiguar_FFA-04	X	X
ISLA-118159	<i>R. potiguar</i>	Furna Feia	Row_potiguar_FFA-06	X	X
ISLA-118154	<i>R. potiguar</i>	Furna Feia	Row_potiguar_FFA-01	X	
ISLA-118158	<i>R. potiguar</i>	Furna Feia	Row_potiguar_FFA-05	X	
ISLA-118161	<i>R. potiguar</i>	Furna Feia	Row_potiguar_FFA-08	X	
ISLA-118168	<i>R. potiguar</i>	Furna Feia	Row_potiguar_FFA-30	X	
ISLA-118163	<i>R. potiguar</i>	Furna Feia	Row_potiguar_FFA-10	X	
ISLA-118164	<i>R. potiguar</i>	Furna Feia	Row_potiguar_FFA-18	X	
ISLA-118167	<i>R. potiguar</i>	Furna Feia	Row_potiguar_FFA-29	X	
ISLA-118160	<i>R. potiguar</i>	Furna Feia	Row_potiguar_FFA-07	X	
ISLA-118165	<i>R. potiguar</i>	Furna Feia	Row_potiguar_FFA-25	X	
ISLA-118251	<i>R. potiguar</i>	Macacos	Row_potiguar_MCC-01	X	X
ISLA-118252	<i>R. potiguar</i>	Macacos	Row_potiguar_MCC-02	X	X
ISLA-118243	<i>R. potiguar</i>	Javan	Row_potiguar_JAV-01	X	X
ISLA-118244	<i>R. potiguar</i>	Javan	Row_potiguar_JAV-02	X	
ISLA-118192	<i>R. potiguar</i>	Gias	Row_potiguar_GIA-01	X	X
ISLA-118250	<i>R. potiguar</i>	Pau	Row_potiguar_PAU-01	X	X
ISLA-118253	<i>R. potiguar</i>	Poço Feio	Row_potiguar_PCF_01	X	X
ISLA-118254	<i>R. potiguar</i>	Poço Feio	Row_potiguar_PCF-02	X	X
ISLA-118173	<i>R. potiguar</i>	Arapuá	Row_potiguar_ARA-06	X	
ISLA-118175	<i>R. potiguar</i>	Arapuá	Row_potiguar_ARA-10	X	
ISLA-118172	<i>R. potiguar</i>	Arapuá	Row_potiguar_ARA-03	X	X
ISLA-118171	<i>R. potiguar</i>	Arapuá	Row_potiguar_ARA-02	X	X
ISLA-118174	<i>R. potiguar</i>	Arapuá	Row_potiguar_ARA-08	X	
ISLA-118177	<i>R. potiguar</i>	Arapuá	Row_potiguar_ARA-12	X	
ISLA-118176	<i>R. potiguar</i>	Arapuá	Row_potiguar_ARA-11	X	X
ISLA-118245	<i>R. potiguar</i>	Carrapateira	Row_potiguar_CAR-02	X	X
ISLA-118217	<i>R. potiguar</i>	Crotes	Row_potiguar_CRO-02	X	
ISLA-118222	<i>R. potiguar</i>	Crotes	Row_potiguar_CRO-08	X	X
ISLA-118216	<i>R. potiguar</i>	Crotes	Row_potiguar_CRO-01	X	X
ISLA-118219	<i>R. potiguar</i>	Crotes	Row_potiguar_CRO-04	X	
ISLA-118221	<i>R. potiguar</i>	Crotes	Row_potiguar_CRO-06	X	X
ISLA-118220	<i>R. potiguar</i>	Crotes	Row_potiguar_CRO-05	X	

Nº de Tombo	Espécie	Caverna	Código	Cox1	28S
ISLA-118223	<i>R. potiguar</i>	Crotes	Row_potiguar_CRO-11	X	
ISLA-118218	<i>R. potiguar</i>	Crotes	Row_potiguar_CRO-03	X	
ISLA-118302	<i>R. potiguar</i>	Do Dois	Row_potiguar_CDS-02	X	
ISLA-118248	<i>R. potiguar</i>	Do Dois	Row_potiguar_CDS-03		X
ISLA-118208	<i>R. potiguar</i>	Capoeira de João Carlos	Row_potiguar_CJC-01	X	
ISLA-118211	<i>R. potiguar</i>	Capoeira de João Carlos	Row_potiguar_CJC-04	X	X
ISLA-118209	<i>R. potiguar</i>	Capoeira de João Carlos	Row_potiguar_CJC-02	X	
ISLA-118212	<i>R. potiguar</i>	Capoeira de João Carlos	Row_potiguar_CJC-07	X	
ISLA-118210	<i>R. potiguar</i>	Capoeira de João Carlos	Row_potiguar_CJC-03	X	X
ISLA-118178	<i>R. potiguar</i>	Três Lagos	Row_potiguar_TLG-01	X	X
ISLA-118193	<i>R. potiguar</i>	Trinta	Row_potiguar_CTA-01	X	
ISLA-118194	<i>R. potiguar</i>	Trinta	Row_potiguar_CTA-03		X
ISLA-118195	<i>R. potiguar</i>	Olho D'água do Cedro	Row_potiguar_ODC-01	X	
ISLA-118203	<i>R. potiguar</i>	Olho D'água do Cedro	Row_potiguar_ODC-09	X	
ISLA-118207	<i>R. potiguar</i>	Olho D'água do Cedro	Row_potiguar_ODC-18	X	
ISLA-118198	<i>R. potiguar</i>	Olho D'água do Cedro	Row_potiguar_ODC-04	X	
ISLA-118201	<i>R. potiguar</i>	Olho D'água do Cedro	Row_potiguar_ODC-07	X	
ISLA-118200	<i>R. potiguar</i>	Olho D'água do Cedro	Row_potiguar_ODC-06	X	
ISLA-118206	<i>R. potiguar</i>	Olho D'água do Cedro	Row_potiguar_ODC-17	X	
ISLA-118197	<i>R. potiguar</i>	Olho D'água do Cedro	Row_potiguar_ODC-03	X	X
ISLA-118202	<i>R. potiguar</i>	Olho D'água do Cedro	Row_potiguar_ODC-08	X	
ISLA-118205	<i>R. potiguar</i>	Olho D'água do Cedro	Row_potiguar_ODC-16	X	
ISLA-118196	<i>R. potiguar</i>	Olho D'água do Cedro	Row_potiguar_ODC-02	X	X
ISLA-118204	<i>R. potiguar</i>	Olho D'água do Cedro	Row_potiguar_ODC-10	X	
ISLA-118256	<i>Rowlandius</i> sp.n.2	Casa de Pedra	Row_potiguar_CPD-01	X	X
ISLA-118257	<i>Rowlandius</i> sp.n.2	Casa de Pedra	Row_potiguar_CPD-02	X	X
ISLA-118258	<i>Rowlandius</i> sp.n.2	Casa de Pedra	Row_potiguar_CPD-03	X	X
ISLA-118259	<i>Rowlandius</i> sp.n.2	Casa de Pedra	Row_potiguar_CPD-04	X	X
ISLA-118260	<i>Rowlandius</i> sp.n.2	Casa de Pedra	Row_potiguar_CPD-05	X	X
ISLA-118261	<i>Rowlandius</i> sp.n.2	Casa de Pedra	Row_potiguar_CPD-06	X	X
ISLA-118262	<i>Rowlandius</i> sp.n.2	Casa de Pedra	Row_potiguar_CPD-07	X	X
ISLA-118263	<i>Rowlandius</i> sp.n.2	Casa de Pedra	Row_potiguar_CPD-08	X	X
ISLA-118264	<i>Rowlandius</i> sp.n.2	Casa de Pedra	Row_potiguar_CPD-09	X	X
ISLA-118184	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Pinga	Row_potiguar_PNG-02	X	
ISLA-118189	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Pinga	Row_potiguar_PNG-10	X	
ISLA-118190	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Pinga	Row_potiguar_PNG-11	X	X
ISLA-118214	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Pedra Lisa	Row_potiguar_PDL-01	X	X
ISLA-118215	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Pedra Lisa	Row_potiguar_PDL-03	X	
ISLA-118213	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Teto baixo	Row_potiguar_CTB-01	X	X

Nº de Tombo	Espécie	Caverna	Código	Cox1	28S
ISLA-118225	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Urubu	Row_potiguar_URU-02	X	X
ISLA-118229	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Urubu	Row_potiguar_URU-06		X
ISLA-118232	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Urubu	Row_potiguar_URU-12	X	
ISLA-118227	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Urubu	Row_potiguar_URU-04	X	
ISLA-118231	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Urubu	Row_potiguar_URU-11	X	
ISLA-118249	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Buraco Redondo	Row_potiguar_BRD-02	X	X
ISLA-118237	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Furna Nova	Row_potiguar_FNV-05	X	
ISLA-118241	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Furna Nova	Row_potiguar_FNV-14	X	
ISLA-118234	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Furna Nova	Row_potiguar_FNV-02	X	X
ISLA-118239	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Furna Nova	Row_potiguar_FNV-12	X	
ISLA-118240	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Furna Nova	Row_potiguar_FNV-13	X	
ISLA-118242	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Furna Nova	Row_potiguar_FNV-16	X	X
ISLA-118182	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Roncador	Row_potiguar_RON-04	X	X
ISLA-118246	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Boa	Row_potiguar_BOA-01	X	X
ISLA-118247	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Boa	Row_potiguar_BOA-04	X	
ISLA-118255	<i>Rowlandius</i> sp.n.1	Lapa I	Row_potiguar_LPI-01	X	X
ISLA-118269	<i>R. ubajara</i>	Aranhas	Row_potiguar_ARAN-01	X	X
ISLA-118266	<i>R. ubajara</i>	Morcego Branco	Row_potiguar_MOB-01	X	X
ISLA-118265	<i>R. ubajara</i>	Morcego Branco	Row_potiguar_MOB-02	X	
ISLA-118267	<i>R. ubajara</i>	Urso Fóssil	Row_potiguar_URF-01	X	X
ISLA-118268	<i>R. ubajara</i>	Urso Fóssil	Row_potiguar_URF-02	X	

Tabela S10. Relação de haplótipos do gene *cox1* das linhagens de *Rowlandius* avaliadas neste estudo.

Haplótipo	Quantidade	Caverna	Espécie
Hap_1	8	ODC	<i>R. potiguar</i>
Hap_2	2	ODC	<i>R. potiguar</i>
Hap_3	2	ODC	<i>R. potiguar</i>
Hap_4	5	CRO	<i>R. potiguar</i>
Hap_5	2	CRO, CAR	<i>R. potiguar</i>
Hap_6	1	CRO	<i>R. potiguar</i>
Hap_7	1	CRO	<i>R. potiguar</i>
Hap_8	1	CTA	<i>R. potiguar</i>
Hap_9	1	TLG	<i>R. potiguar</i>
Hap_10	1	PAU	<i>R. potiguar</i>
Hap_11	1	PCF	<i>R. potiguar</i>
Hap_12	1	PCF	<i>R. potiguar</i>
Hap_13	4	CJC	<i>R. potiguar</i>
Hap_14	1	CJC	<i>R. potiguar</i>

Haplótipo	Quantidade	Caverna	Espécie
Hap_15	2	JAV	<i>R. potiguar</i>
Hap_16	1	GIA	<i>R. potiguar</i>
Hap_17	16	FFA, MCC	<i>R. potiguar</i>
Hap_18	1	FFA	<i>R. potiguar</i>
Hap_19	6	ARA	<i>R. potiguar</i>
Hap_20	1	ARA	<i>R. potiguar</i>
Hap_21	1	CDS	<i>R. potiguar</i>
Hap_22	3	CPD	<i>Rowlandius</i> sp.n.2
Hap_23	1	CPD	<i>Rowlandius</i> sp.n.2
Hap_24	3	CPD	<i>Rowlandius</i> sp.n.2
Hap_25	2	BOA	<i>Rowlandius</i> sp.n.1
Hap_26	1	RON	<i>Rowlandius</i> sp.n.1
Hap_27	3	FNV	<i>Rowlandius</i> sp.n.1
Hap_28	1	FNV	<i>Rowlandius</i> sp.n.1
Hap_29	1	FNV	<i>Rowlandius</i> sp.n.1
Hap_30	1	FNV	<i>Rowlandius</i> sp.n.1
Hap_31	3	PNG	<i>Rowlandius</i> sp.n.1
Hap_32	1	PDL	<i>Rowlandius</i> sp.n.1
Hap_33	1	PDL	<i>Rowlandius</i> sp.n.1
Hap_34	1	CTB	<i>Rowlandius</i> sp.n.1
Hap_35	4	URU	<i>Rowlandius</i> sp.n.1
Hap_36	1	BRD	<i>Rowlandius</i> sp.n.1
Hap_37	1	LPI	<i>Rowlandius</i> sp.n.1
Hap_38	1	MOB	<i>Rowlandius</i> sp.n.1
Hap_39	3	MOB, ARAN	<i>R. ubajara</i>
Hap_40	2	URF	<i>R. ubajara</i>

Tabela S11. Relação de haplótipos do gene 28S das linhagens de *Rowlandius* avaliadas neste estudo.

Haplótipo	Quantidade	Caverna	Espécie
Hap_1	19	ODC, CTA, TLG, PAU, PCF, JAV, GIA, FFA, MCC, ARA, CDS	<i>R. potiguar</i>
Hap_2	4	CRO, CAR	<i>R. potiguar</i>
Hap_3	2	CJC	<i>R. potiguar</i>
Hap_4	9	CPD	<i>Rowlandius</i> sp.n.2
Hap_5	9	BOA, RON, FNV, PNG, PDL, CTB, BRD, LPI	<i>Rowlandius</i> sp n.1
Hap_6	2	URU	<i>Rowlandius</i> sp n.1
Hap_7	3	MOB, ARAN, URF	<i>R. ubajara</i>

Tabela S12. Dados atualizados da distribuição de *Rowlandius potiguar* nas cavernas do estado do Rio Grande do Norte. *localidades no Parque Nacional da Furna Feia. +novos registros. #localidades registradas em Bento *et al.* 2021.

Nº	Sigla	Caverna	Lajedo	Município	Coordenada SIRGAS (2000)	
					Latitude (S)	Longitude (O)
1	CTA	Trinta	Trinta de Setembro	Mossoró	05°12'44.2"	37°15'50.8"
2	JAV	Javan 1+	Javan	Mossoró	05°01'17.6"	37°25'39.0"
3	GIA	Gias+	Javan	Mossoró	05°01'20.2"	37°25'38.9"
4	BRI	Britador	Britador	Baraúna	05°01'25.9"	37°29'49.5"
5	CPO	Cipós	Britador	Baraúna	05°02'40.1"	37°34'34.8"
6	FFA	Furna Feia*	Furna Feia	Baraúna	05°02'12.8"	37°33'36.6"
7	MCC	Macacos*	Furna Feia	Baraúna	05°02'19.8"	37°33'41.3"
8	LGO	Lago	Furna Feia	Baraúna	05°02'06.7"	37°34'08.6"
9	ODC	Olho D'água do Cedro+	Cedro	Baraúna	05°12'39.7"	37°43'35.9"
10	LDG	Lajedo Grande	Lajedo Grande	Gov. Dix-Sept Rosado	05°27'44.2"	37°33'08.9"
11	PCF	Furna do Poço Feio+	Bonito	Gov. Dix-Sept Rosado	05°29'15.5"	37°33'33.4"
12	CJC	Capoeira de João Carlos	Ramadinha	Gov. Dix-Sept Rosado	05°30'57.0"	37°31'41.4"
13	BON	Boniteza	Boniteza	Gov. Dix-Sept Rosado	05°30'51.0"	37°33'21.5"
14	BOT	Bota#	Arapuá	Felipe Guerra	05°31'30.9"	37°37'05.3"
15	ARA	Arapuá	Arapuá	Felipe Guerra	05°31'48.3"	37°36'58.5"
16	VAL	Vale#	Arapuá	Felipe Guerra	05°31'50.7"	37°36'58.3"
17	BIO	Beira Rio	Trapiá	Felipe Guerra	05°33'07.4"	37°37'42.9"
18	TRA	Trapiá#	Trapiá	Felipe Guerra	05°33'45.4"	37°37'15.9"
19	CRO	Crotes	Rosário	Felipe Guerra	05°33'37.9"	37°39'30.9"
20	CHC	Chocalho#	Rosário	Felipe Guerra	05°33'42.5"	37°39'38.7"

Nº	Sigla	Caverna	Lajedo	Município	Coordenada SIRGAS (2000)	
					Latitude (S)	Longitude (O)
21	CSCÇ	Complexo Suíço#	Rosário	Felipe Guerra	05°33'42.5"	37°39'38.7"
22	CAR	Carrapateira	Rosário	Felipe Guerra	05°33'38.4"	37°39'50.2"
23	DBT	Descoberta#	Rosário	Felipe Guerra	05°33'47.50"	37°39'55.77"
24	CTD	Catedral#	Rosário	Felipe Guerra	05°33'50.5"	37°39'57.4"
25	ABS	Abissal#	Rosário	Felipe Guerra	05°33'51.1"	37°39'57.3"
26	CDS	Dos Dois+	Alfredo	Felipe Guerra	05°34'06.5"	37°40'50.4"
27	PAU	Pau+	Brejo	Felipe Guerra	05°35'34.3"	37°41'14.8"
28	TLG	Três Lagos+	Brejo	Felipe Guerra	05°35'34.4"	37°41'12.7"
29	GLS	Geílson	Brejo	Felipe Guerra	05°35'53.2"	37°41'17.6"
30	RUM	Rumana	Rumana	Felipe Guerra	05°33'54.12"	37°39'07.23"
31	PMII	Porco do Mato II+	-	Baraúna	05°2'47.9"	37°32'23.0"
32	SBT	Caverna do Sabonete+	Arapuá	Felipe Guerra	05°31'34.6"	37°37'25.2"
33	GGG	Geraldo Gusso+	-	Felipe Guerra	05°33'	37°39'

Tabela S13. Dados da distribuição de *Rowlandius* sp n.1 nas cavernas do estado do Rio Grande do Norte. *localidades no Parque Nacional da Furna Feia.

Nº	Sigla	Caverna	Lajedo	Município	Coordenada SIRGAS (2000)	
					Latitude (S)	Longitude (O)
1	PDL	Pedra Lisa*	Pedra Lisa	Baraúna	05°02'43.8"	37°31'18.9"
2	PNG	Pinga*	Pinga	Baraúna	05°03'08.1"	37°32'23.0"
3	FNV	Furna Nova*	Furna Nova	Baraúna	05°02'03.2"	37°34'16.2"
4	CTB	Teto Baixo	Angicos	Gov. Dix-Sept Rosado	05°29'44.0"	37°33'01.4"
5	SN9	SN9	Angicos	Gov. Dix-Sept Rosado	05°29'41.3"	37°32'41.7"
6	CAG	Marimbondo Cabloco	Angicos	Gov. Dix-Sept Rosado	05°29'44.1"	37°32'42.3"
7	QJF	Dos Que Já Foram	Lapa	Felipe Guerra	05°32'47.7"	37°39'59.8"
8	LPI	Lapa I	Lapa	Felipe Guerra	05°33'41.9"	37°41'42.3"
9	BOA	Boa	Lapa	Felipe Guerra	05°33'59.5"	37°41'52.4"
10	URU	Urubu	Meio	Felipe Guerra	05°34'23.0"	37°39'08.7"
11	BRD	Buraco Redondo	Meio	Felipe Guerra	05°34'43.0"	37°39'05.0"
12	RAI	Rainha	Meio	Felipe Guerra	05°34'41.6"	37°38'35.6"
13	RON	Roncador	Soledade	Apodi	05°35'51.8"	37°49'40.7"

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A abordagem filogeográfica utilizada neste estudo permitiu a partir dos dados moleculares das linhagens de cada localidade avaliada, que *R. potiguar* se trata de um complexo de espécies, com duas possíveis espécies novas, nenhuma em simpatria, sendo *R. potiguar* registrada em 33 cavernas da Formação Jandaíra, com cinco populações, *Rowlandius* sp. n. 1 em treze cavernas da Formação Jandaíra, com três populações, e *Rowlandius* sp. n. 2 restrita à caverna Casa de Pedra na Formação Jucurutu, ao sul da Formação Jandaíra. Essas espécies identificadas no complexo possuem localidades dentro de áreas protegidas, como o Parque Nacional da Fuma Feia, em Baraúna, para *R. potiguar* e *Rowlandius* sp.n.1, e o Monumento Natural Cavernas de Martins, em Martins, para *Rowlandius* sp.n.2. Porém, há populações fora de áreas protegidas nos municípios de Governador Dix-Sept Rosado e Felipe Guerra, que estão suscetíveis aos impactos antrópicos.

Por conseguinte, a atualização da taxonomia e distribuição geográfica de *R. potiguar*, bem como a identificação da riqueza do gênero *Rowlandius* nas cavernas da Caatinga, não apenas aprimora nosso entendimento sobre a biodiversidade dessa região, mas também proporciona informações para a conservação dessas espécies.