

Universidade de São Paulo  
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto  
Departamento de Biologia

Tatiana Magalhães

**Revisão taxonômica dos caranguejos marinhos do gênero *Pilumnus* Leach,  
1815 (Decapoda: Brachyura) do Atlântico ocidental, baseados em dados  
morfológicos e moleculares**



Ribeirão Preto

2017

Tatiana Magalhães

**Revisão taxonômica dos caranguejos marinhos do gênero *Pilumnus* Leach, 1815 (Decapoda: Brachyura) do Atlântico ocidental, baseados em dados morfológicos e moleculares**

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Biologia Comparada.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Luis Medina Mantelatto

Ribeirão Preto

2017

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo na publicação

Serviço de Biblioteca e Documentação

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Magalhães, Tatiana.

Revisão taxonômica dos caranguejos marinhos do gênero *Pilumnus* Leach, 1815 (Decapoda: Brachyura) do Atlântico ocidental, baseados em dados morfológicos e moleculares / Tatiana Magalhães; orientador, Fernando Luis Medina Mantelatto. – 2017

XIX + 174f.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de concentração: Biologia Comparada) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017

Versão original

1.Brachyura. 2. Taxonomia. 3. COI – 16S mtRNA. 4. Distância Genética.  
5. Análise Filogenética.

MAGALHÃES, Tatiana. **Revisão Taxonômica dos caranguejos marinhos do gênero *Pilumnus* Leach, 1815 (Decapoda: Brachyura) do Atlântico ocidental, baseados em dados morfológicos e moleculares.** 2017. 193f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

Aprovado em:

Prof. Dr (a): \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr (a): \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr (a): \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

Profa. Dr (a): \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr (a): \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

Aos meus pais Carlos e Dalva e a minha irmã Tassiana com muito amor e gratidão pela compreensão, carinho e incansável apoio ao longo de todo o período de elaboração deste trabalho.



**AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador Prof. Dr. Fernando Luis Medina Mantelatto, pela confiança, muita paciência, apoio, orientação, empenho em meu crescimento pessoal e científico e auxílio imprescindível em várias etapas do doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da minha bolsa de doutorado.

Aos projetos que proporcionaram todo o apoio financeiro e logístico, direta ou indiretamente, para o desenvolvimento desta pesquisa junto ao LBSC, concedidos e/ou coordenados do Prof. Dr. Fernando Mantelatto: Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) – Procs. No 1998/07454-5 e 2002/08178-9 (Projetos Individuais de Pesquisa), 2010/50188-8 (Projeto Temático Biota), 2009/54931-0 (Projeto Coleções Científicas); à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Procs. No 315/2009 (Projeto Cooperação Internacional) e 2005/2014 - 23038.004308/201414 (Ciências do Mar II); ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Procs. 472746/2004-9, 471794/2006-6, 473050/2007-2, 471011/2011-8 (Edital Universal, Auxílio Individual a Pesquisa), 491490/2004-6, 490122/2006-0, 490353/2007-0 (Projetos Cooperação Internacional); 301359/2007-5, 302748/2010-5 (Produtividade em Pesquisa).

Ao Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FFCLRP/USP), por todo apoio logístico.

À Pró-Reitoria de Pós-Graduação pela concessão do auxílio financeiro (Processo nº 2016.5.1172.59.7) com o pagamento do seguro viagem e parte do custeio da passagem para Estados Unidos para a visita as diferentes coleções carcinológicas no país.

Ao Programa de Pós-graduação em Biologia Comparada (FFCLRP/USP), pela concessão do auxílio financeiro com parte do custeio da visita à coleção de crustáceos no National Museum of Natural History (USNM), Smithsonian

Institute em Washington, DC e passagem para visita à coleção da UFPE, Recife, Pernambuco.

À todos aqueles que contribuíram com empréstimo, coleta e/ou doação e fotos de exemplares de *Pilumnus*, esforços sem o qual esse trabalho não poderia ter sido realizado: Prof. Dr. Fernando Mantelatto (USP); Djalma Rosa; Álvaro Costa (USP); Prof. Dr. Rogério Costa (UNESP-Bauru); Prof. Dr. Fernando Zara (UNESP-Jaboticabal); Prof. Dr. Antônio Castilho (UNESP-Botucatu); Profa. Dra. Mariana Terossi (USP); Profa. Dra. Cristiana Serejo (MNRJ); Prof. Dr. Jesser Fidelis (UFPE); Prof. Dr. Marcos Tavares (MZUSP); Joana Darc (USP); Dr. Fernando Álvarez (CNCR); Dr. Michel E. Hendrickx (EMU); Dr. Paul Clark (NHMUK); Miranda Lowe (NHMUK); Laure Corbari (MNHN); Paula Martin-Lefevre (MNHN); Noémy Mollaret (MNHN); Candice Untiedt (SAM); Lily Berniker (AMNH); Adam Baldinger (MCZ); Dr. Rafael Lemaitre (USNM); Karen Reed (USNM); Dr. Darryl Felder (ULLZ); Kathy Omura (NHMLA); Regina Wetzer (NHMLA); Dean Pentcheff (NHMLA); Dra. Paula de Araújo (UFRGS); Dr. Rafael Robles (USP); Dr. Emiliano Ocampo (UNMDP); MSc. Edvanda Souza-Carvalho (USP); Dra. Odete Lopez Lopes (MHNCI); Catalina Arteaga (MHNMC); Bibian Martinez-Campos (MHNMC).

Ao Laboratório Multiusuário Centralizado para Sequenciamento de DNA em Larga Escala e Análise de Expressão Gênica da Universidade Estadual Paulista – Campus Jaboticabal, em especial a técnica Agda Facincani pela precipitação e sequenciamento dos fragmentos moleculares.

Ao técnico Rodrigo Ferreira da Silva do Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura do Departamento de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, pela preparação de material e imagens.

Ao João Batista de Oliveira Júnior e Liliane Galindo Dantas por me receberem em sua casa, em especial ao Júnior por toda auxílio e facilidade durante minha estadia em Recife (PE).

A Damily e Daily Diniz por me receber em sua casa durante minha estadia em Paris, França, em especial a Damily (DDI) pela amizade e carinho.

Ao Prof. Dr. Christopher Tudge e sua família por me receberem tão carinhosamente e proporcionarem uma excelente experiência durante minha estadia em Washington, DC/Maryland (MD).

Ao Rafael Polidoro e a Sabrina Absalon por me receberem em sua casa, pelas conversas e conselhos durante minha estadia em Boston/Brookline (MA).

A Catherine Craig por me receber em sua casa, pelo carinho e atenção durante minha estadia em Lafayette (LA).

Ao Adam and Jenessa Wall por me receberem em sua casa, por confiarem e por me deixarem tão a vontade durante minha estadia em Los Angeles/Burbank (CA).

Ao Dr. Darryl L. Felder (ULL) pelo carinho, atenção, orientação, discussões e sugestões durante minha estadia em Lafayette (LA). Ainda pela sugestão da ideia inicial dessa tese. A Jennifer Felder por todo o carinho e atenção.

Ao Dr. Rafael Robles pelos ensinamentos, discussões e sugestões sobre análises e técnicas moleculares, “puxões de orelhas”, incentivos, paciência e amizade.

Ao Dr. Alexandre Oliveira de Almeida pelo auxílio nas dúvidas sobre taxonomia e pelas sugestões como assessor da minha bolsa de doutorado.

Ao Msc. Mario Bronzati Filho pelas discussões e revisões iniciais do projeto, bem como a parceria e ajuda durante as visitas nas coleções de Londres e da África do Sul.

À todos os integrantes e ex-integrantes do LBSC: Ana Tamburus, Ana Luiza Vera, Bárbara Prado, Beatriz Valesio, Caio de Oliveira, Carla Kühn, Daniel Cavallari, Edvanda Souza-Carvalho, Elis Regina, Fabrício Carvalho, Ivana Miranda, Jéferson Pedrosa, Juliana Paixão, Keity Nishikawa, Kimberly Mazagão, Mariana Negri; Mariana Terossi, Mateus Lopes, Maurício Neves, Mayara Miyazaki, Natalia Rossi, Pedro Peres, Raini Tarantino, Rafael Robles, Raquel Buranelli, Silvia Mandai e Suzana Rodrigues os quais fizeram parte do meu dia a dia no laboratório, foram companheiros de trabalho e de comilança também, compartilharam momentos de

diversão, mas me ajudaram e me apoiaram nos momentos difíceis durante o desenvolvimento deste trabalho. Ainda agradeço a outros ex-integrantes que fizeram parte do laboratório durante meus quase nove anos como integrante: Andrea Meirelles, Caio Pavanelli, Douglas Peiró, Emerson Mossolin, Fabíola Faria, Isabela Leone, Leonardo Pileggi, Lígia Amadio, Lucas Torati, Lucas Zupolini, Marina Fantucci, Natalia Grilli, Nathália Moreira, Fernanda Vergamini, Fernanda Vasconcelos, Jully Iguchi e Nicole Olgín os quais fizeram parte do meu crescimento científico e principalmente pessoal.

Aos amigos Panga, Ana, May, Caio e Carales pela ajuda e total apoio nos “45’ do segundo tempo”, com revisões e correções desse trabalho.

A minha irmã amiga Tassi pela linda ilustração da capa deste trabalho.

Aos meus amigos Giu, Mo, Tsimi, Vandinha, Rafa, Keity, Tomate, Salsas, Rafaelly, Carlinha, Mateus, Trops, Ana, Grafite, Brotinha, Julieto, Juma, Dio, Mestre, Anne, Fábio, Taináh, Mermão, Colemboy, Tila, Pedro, Ped, Rafa, Caio, Palito e Pink, por de alguma maneira me apoiar, me ouvir e me dar força durante o começo, meio e/ou fim da execução desse trabalho.

Aos meus pais Carlos e Dalva e minha irmã Tassi, pelo amor, financiamento e apoio incondicional dado ao longo de mais essa jornada. Amo vocês!

Em especial a minha mãe Dalva pelas buscas bibliográficas e revisões, pelos sucos verdes matinais, pela alegria diária e em especial pelo apoio psicológico. Eu amo muito você!



# RESUMO

MAGALHÃES, Tatiana. **Revisão Taxonomia dos caranguejos marinhos do gênero *Pilumnus* Leach, 1815 (Decapoda: Brachyura) do Atlântico ocidental, baseados em dados morfológicos e moleculares.** 2017. 193f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

O gênero *Pilumnus* apresenta um total de 143 espécies válidas sendo representado por caranguejos distribuídos em oceanos tropicais e temperados. Estudos anteriores acerca da sistemática do gênero evidenciam um alto grau de incertezas quanto à sua classificação, provavelmente decorrente do pouco conhecimento sobre as espécies, somada a abundância de seus representantes. A classificação inicial do gênero foi baseada em caracteres morfológicos, compartilhados por diversos gêneros de Brachyura, inclusive posicionados em famílias distintas. A utilização de ferramentas moleculares tem se mostrado bastante eficaz, principalmente quando em conjunto com estudos morfológicos, no auxílio de trabalhos taxonômicos e contribuindo na construção de hipóteses filogenéticas mais robustas para os crustáceos decápodos. Além de uma análise comparativa empírica das espécies de *Pilumnus* do Atlântico ocidental, foram realizadas análises moleculares baseadas nos genes mitocondriais 16S rRNA e o Citocromo Oxidase I (COI) (mesma sequência do barcoding) que resultaram em 17 espécies distintas, incluindo duas espécies novas. Foi observado uma possível estruturação genética entre populações de *P. reticulatus* provenientes de diferentes regiões zoogeográficas (Caribe e Brasil), e a ausência de estruturação nas espécies *P. caribaeus*, *P. dasypodus*, *P. floridanus* e *P. vinaceus* que apresentam uma ampla distribuição. Os dados morfológicos e moleculares permitiu a avaliar o status taxonômico de 21 espécies de ocorrência no Atlântico ocidental em que foi corroborada a proposição de *P. brasiliensis* como sinônimo júnior de *P. caribaeus*. Ademais, os nomes *P. dasypodus* e *P. vinaceus* devem ser considerados válidos, sendo necessário a ressurreição do último, considerado anteriormente sinônimo júnior de *P. dasypodus*. Com base na nossa revisão, 20 espécies são consideradas válidas e a distribuição reportada de *P. diomedae*, *P. longleyi* e *P. spinosissimus* é restrita.

Palavras-chave: Brachyura; Taxonomia; COI – 16S mtRNA; Distância Genética; Análise Filogenética.



# ABSTRACT

MAGALHÃES, Tatiana. **Taxonomic Review of the marine crabs of the genus *Pilumnus* Leach, 1815 (Decapoda: Brachyura) from the western Atlantic, based in morphological and molecular data.** 2017. 193f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

The genus *Pilumnus* has 143 valid species being represented by crabs distributed in tropical and temperate oceans. Previous studies about the systematics of the genus evidenced a high degree of uncertainty regarding its classification, probably due to the lack of knowledge about the species, in addition to the abundance of its representatives. The initial classification of the genus was based on morphological characters, shared by several genera of Brachyura, even in different families. The use of molecular tools has been shown to be very effective, especially when combined with morphological studies, in the aid of taxonomic works and contributing to the construction of more robust phylogenetic hypotheses for decapod crustaceans. In addition to an empirical comparative analysis of *Pilumnus* species from the western Atlantic, molecular analyzes based on mitochondrial 16S rRNA and Cytochrome Oxidase I (COI) genes were performed, resulting in 17 distinct species, including two new species. It was observed a possible genetic structuring between *P. reticulatus* populations from different zoogeographic regions (Caribbean and Brazil), and the absence of genetic structuring in the species *P. caribaeus*, *P. dasypodus*, *P. floridanus* and *P. vinaceus* that present a wide distribution. The morphological and molecular data allowed evaluating the taxonomic status of 21 species with occurrence in the western Atlantic in which the proposition of *P. brasiliensis* as a junior synonym of *P. caribaeus* was corroborated. In addition, the names *P. dasypodus* and *P. vinaceus* should be considered valid, being necessary the resurrection of the last, previously considered junior synonym of *P. dasypodus*. Based on our review, 20 species are considered valid and the reported distribution of *P. diomedae*, *P. longleyi* and *P. spinosissimus* is restricted.

Keywords: Brachyura; Taxonomy; COI - 16S rRNA; Genetic Distance; Phylogenetic Analysis.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Indicação das características com maior variabilidade interespecífica entre as espécies de *Pilumnus* do Atlântico ocidental. A e B – região anterolateral da superfície dorsal da carapaça; C e D – Tipo de pilosidade da superfície dorsal da carapaça; E e F – Disposição de espinhos e/ou grânulos na superfície externa da palma do quelípodo maior; G e H – Presença ou ausência de espinhos e grânulos nas pernas ambulatórias. Chave cor de rosa indica margem anterolateral da carapaça; Chave amarela indica margem superorbital; Seta verde indica região superhepática; Seta roxa indica margem externa da palma do quelípodo maior. A – *Pilumnus holosericus*, USNM 19705; B e H – *Pilumnus spinosissimus*, USNM 69063; C – *Pilumnus floridanus* – ULLZ 12563; D e F – *Pilumnus longleyi*, USNM 62569; E e G – *Pilumnus pannosus*, USNM 13814.....23

**Figura 2.** Espécies de *Pilumnus* com pubescência cobrindo carapaça e pernas ambulatórias. Vista dorsal. A - *Pilumnus holosericus* (LC 7,78mm) USNM 14705; B - *Pilumnus gemmatus* (foto de Joseph Popin) (LC 11,5mm); C - *Pilumnus lacteus* (LC 8,4mm) MCZ 2461; D - *Pilumnus pannosus* (LC 12,0mm) USNM 13814; E - *Pilumnus nudimanus* (LC 7,9mm) USNM 23770; F - *Pilumnus reticulatus* (forma fragosa) (LC 11,5mm) CCDB 5391; G - *Pilumnus reticulatus* (forma tessellata) (LC 10,6mm) CCDB 5379.....24

**Figura 3.** Espécies de *Pilumnus* com cerdas rígidas na carapaça, ou pubescência cobrindo apenas parte da superfície dorsal; presença ou ausência total de espinhos. A - *Pilumnus caribaeus* (LC 14,2mm) CCDB 5180; B - *Pilumnus floridanus* (LC 9,68mm) CCDB 5919; C - *Pilumnus longleyi* (LC 14,4mm) USNM 62569; D - *Pilumnus marshi* (LC 5,65mm) USNM 23771; E - *Pilumnus dasypodus*; (7,5mm) EMU 1103; F - *Pilumnus vinaceus* (LC 8,7mm) CCDB 4593; G - *Pilumnus spinosissimus* (LC 9,9mm) USNM 69063; H - *Pilumnus sayi* (LC 21,5mm) ANHM 991; I - *Pilumnus quooii* (LC 23,4mm) MNHN-IU-2000-4318; J - *Pilumnus miersii* (LC 7,9mm) MNH-IU-2000-2820.....25

**Figura 5.** Histograma de distância-*p* entre os pares de espécimes de *Pilumnus* para o gene Citocromo Oxidase I (COI). Seta preta indica valores intermediários aos valores intra e interespecíficos para os espécimes de *Pilumnus* morfologicamente bem definidos analisados. ARG: Argentina; BRA: Brasil; EUA: Estados Unidos; GUA: Guadalupe; PAN: Panamá.....29

**Figura 6.** Histograma de distância-*p* entre os pares de espécimes de *Pilumnus* para o gene 16S rRNA (16S). Seta preta indica valores intermediários aos valores intra e interespecíficos para os espécimes de *Pilumnus* morfologicamente bem definidos analisados. ARG: Argentina; BRA: Brasil; EUA: Estados Unidos; México; GUA: Guadalupe; PAN: Panamá.....31

**Figura 7.** Filograma gerado por Neighbor-joining para espécies de *Pilumnus* e selecionado grupo externo, baseado no gene mitocondrial COI. Valores de bootstrap  $\leq 70\%$  não são apresentados. ARG: Argentina; BA: Bahia; BEL: Belize; BRA: Brasil; BUL: Bulgária; CE: Ceará; COR: Coréia; CRO: Croácia; CVE: Cabo Verde; ES: Espírito Santo; ESP: Espanha; EUA: Estados Unidos da América; FL: Flórida; FRA: França; GFR: Guiana Francesa; GOM: Golfo do México; GUA: Guadalupe; GUI: Guiné Equatorial; HAV: Havaí; IRA: Irã; IVB: Ilhas Virgens Britânicas; JAP: Japão; LA: Louisiana; MNO: Mar do Norte; MEX: México; PAC: Pacífico; PAL: Palau; PAN: Panamá; PE: Pernambuco; PFR: Polinésia Francesa; POR: Portugal; RJ: Rio de Janeiro; SC: Santa Catarina; SP: São Paulo; TUN: Tunísia; TX: Texas. Espécimes com aspas ("" ) foram identificados *a priori* como indicado na tabela 1.....34

**Figura 8.** Filograma gerado por Neighbor-joining para espécies de *Pilumnus* e selecionado grupo externo, baseado no gene mitocondrial 16S. Valores de bootstrap  $\leq 70\%$  não são apresentados. ARG: Argentina; BEL: Belize; BRA: Brasil; CE: Ceará; COR: Coréia; CVE: Cabo Verde; EUA: Estados Unidos

da América; FL: Flórida; FRA: França; GUA: Guadalupe; IVB: Ilhas Virgens Britânicas; MEX: México; PAN: Panamá; SP: São Paulo; TX: Texas. Espécimes com aspas ("" ) foram identificados *a priori* como indicado na tabela 1.....36

**Figura 9.** Árvore de Máxima Verossimilhança para espécimes de *Pilumnus* e selecionado grupo externo, baseado nos genes mitocondriais COI e 16S concatenados. Valores representam bootstrap expressos em porcentagem. Valores  $\leq 50$  não são apresentados. ARG: Argentina; BA: Bahia; BEL: Belize; BRA: Brasil; BUL: Bulgária; CE: Ceará; COR: Coreia; CRO: Croácia; CVE: Cabo Verde; ES: Espírito Santo; ESP: Espanha; EUA: Estados Unidos da América; FL: Flórida; FRA: França; GFR: Guiana Francesa; GOM: Golfo do México; GUA: Guadalupe; GUI: Guiné Equatorial; HAV: Havaí; IRA: Irã; IVB: Ilhas Virgens Britânicas; JAP: Japão; LA: Louisiana; MNO: Mar do Norte; MEX: México; PAC: Pacífico; PAL: Palau; PAN: Panamá; PE: Pernambuco; PFR: Polinésia Francesa; POR: Portugal; RJ: Rio de Janeiro; SP: São Paulo; SC: Santa Catarina; TUN: Tunísia; TX: Texas.....38

**Figura 10.** Holótipo de *Pilumnus caribaeus*, 1♂ (LC 26,0mm), MNHN-IU-2000-18828 (= MNHN-B18828). A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe das pernas ambulatórias, setas indicam ausência de espinhos no própodo.....62

**Figura 11.** Variação dos espinhos anterolaterais de *P. caribaeus*, vista dorsal. A-Holótipo de *P. caribaeus* MNHN-IU-2000-18828 (= MNHN-B18828). B-Espécime de *P. caribaeus* (CCDB 4595). C-Espécime de *P. caribaeus* (CCDB 5180). D-Espécime de *P. caribaeus* (ULLZ 13393). E-Espécime de *P. caribaeus* (CCDB 5384). F-Espécime de *P. caribaeus* (MNHN-IU-2013-9442). G-Espécime de *P. caribaeus* (MNHN-IU-2013-18494). H-Holótipo de *P. brasiliensis* BMNH-1884.31.....63

**Figura 12.** Holótipo de *Pilumnus brasiliensis*, 1♂ (LC 10,4mm), BMNH-1884.31. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe dos espinhos anterolaterais e da órbita superior. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias.....64

**Figura 13.** Espécime de *Pilumnus dasypodus*, 1♂ (LC 6,3mm), MZUSP 33215. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe dos espinhos anterolaterais e da órbita superior. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias.....69

**Figura 14.** Espécime de *Pilumnus dasypodus*, 1♀ ov., (LC 7,84mm), ULLZ 4346. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe dos espinhos anterolaterais e da órbita superior. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias.....70

**Figura 15.** Holótipo de *Pilumnus diomedae*, 1♀ (LC 14,47mm), USNM 9526. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe dos espinhos anterolaterais e da órbita superior. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias. ....74

**Figura 16.** Representação da espécie "*Pilumnus diomedae*", retirado do trabalho de Holthuis (1959)....75

**Figura 17.** Espécime de "*Pilumnus diomedae*", retirado do trabalho de Takeda & Okutani (1983).....75

- Figura 18.** Espécime de *Pilumnus floridanus*, 1♀ (LC 9,16mm), ULLZ 12563. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe fronte. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias.....79
- Figura 19.** Espécime de *Pilumnus floridanus*, 1♀ (LC 9,68mm), CCDB 5919. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe fronte. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias.....80
- Figura 20.** Espécime de *Pilumnus gemmatus*, 1♀ov. (LC 11,5mm), foto de Joseph Popin. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe fronte. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias. Detailed information: *Pilumnus gemmatus* - Guadelupe, Karubenthos 2012, det. J. Poupin October 2013, 1 Fov 8.9x11.5 mm, st GB12 (14 m), JL774. Copyright Poupin.....83
- Figura 21.** Holótipo de *Pilumnus gracilipes*, 1♀ov. (LC 18,8mm), MCZ 2974. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe dos espinhos anterolaterais, da órbita superior e fronte. D-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias.....87
- Figura 22.** Espécime de *Pilumnus gracilipes*, 1♂ (LC 8,36mm), NHMLA 1694-9. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe dos espinhos anterolaterais e da órbita superior. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias. F-vista mesial, detalhe do Gonópodo (Pleópodo 1).....88
- Figura 23.** Espécime de *Pilumnus gracilipes?*, 1♂ (LC 17,5mm), USNM 298316. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe dos espinhos anterolaterais e da órbita superior. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias. F-vista mesial, detalhe do Gonópodo (Pleópodo 1).....89
- Figura 24.** Holótipo de *Pilumnus holosericus*, 1♂ (LC 7,78mm), USNM 14705. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe dos espinhos anterolaterais e da órbita superior. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias.....94
- Figura 25.** Holótipo de *Pilumnus holosericus*, 1♂ (LC 7,78mm), USNM 14705 (A, C, E). *Pilumnus gemmatus*, 1♀ov. (LC 12,95mm), USNM 56900 (B, D, F). A, B-vista dorsal da carapaça. C, D-vista dorsal, detalhe da margem anterolateral e região hepática. E, F-vista dorsal, detalhe das pernas ambulatórias. Seta preta indica presença de espinhos ou dentes espinhosos na região hepática; seta branca indica presença de espinhos no própodo.....95
- Figura 26.** Espécime de *Pilumnus lacteus*, 1♂, (LC 8,4mm), MCZ 2461. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe fronte. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias.....99
- Figura 27.** Holótipo de *Pilumnus longleyi*, 1♀ (LC 14,4mm), USNM 62569. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe das pernas ambulatórias, setas indicam ausência de espinhos no própodo.....103

- Figura 28.** Espécime de *Pilumnus longleyi*, 1♂ (LC 14,9mm), ULLZ 11154. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe dos espinhos anterolaterais e região hepática. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe das pernas ambulatórias. F-vista ventral, detalhe extremidade do gonópodo (pleópodo 1).....104
- Figura 29.** Holótipo de *Pilumnus longleyi*, 1♀ (LC 14,4mm), USNM 62569 (A, C, E). Holótipo de *Pilumnus caribaeus*, 1♂ (LC 26.0mm), MNHN-IU-2000-18828 (= MNHN-B18828) (B, D, F). A, B-vista dorsal da carapaça. C, D-vista dorsal, detalhe da margem anterolateral e região hepática. E, F-vista dorsal, detalhe das pernas ambulatórias. Seta preta indica presença de espinhos ou dentes espinhosos na região hepática; seta branca indica presença de espinhos no própodo.....105
- Figura 30.** Holótipo de *Pilumnus marshi*, 1♂, (LC 5,65mm), USNM 23771. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe dos espinhos anterolaterais e da órbita superior. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe perna ambulatória. F-vista mesial, detalhe do Gonópodo (Pleópodo 1) direito.....109
- Figura 31.** Lectótipo de *Pilumnus miersii*, 1♀ (LC 7,9mm), MNH-IU-2000-2820 (= MNHN-B2820). A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe dos espinhos anterolaterais e da órbita superior. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias.....112
- Figura 32.** Holótipo de *Pilumnus nudimanus*, 1♀ ov. (LC 7,9mm), USNM 23770. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe dos espinhos anterolaterais e da órbita superior. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias.....115
- Figura 33.** Holótipo de *Pilumnus pannosus*, 1♂, (LC 12,0mm), USNM 13814. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe dos espinhos anterolaterais e da órbita superior. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias. F-vista mesial, detalhe do Gonópodo (Pleópodo 1).....119
- Figura 34.** Espécime de *Pilumnus pannosus*, 1♂, MNHN-IU-2000-4329 (= MNHN-B4329). A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe dos espinhos anterolaterais e da órbita superior. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias.....120
- Figura 35.** Holótipo de *Pilumnus quoii*, 1♂ (LC 23,4 mm), MNHN-IU-2000-4318 (= MNHN-B4318). A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe dos espinhos anterolaterais e da órbita superior. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias.....124
- Figura 36.** Espécime de *Pilumnus reticulatus* (forma fragosa), 1♂ (LC 11.5mm), CCDB 5391. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe dos espinhos anterolaterais e da órbita superior. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias.....129
- Figura 37.** Espécime de *Pilumnus reticulatus* (forma tessellata), 1♂ (LC 10,6mm), CCDB 5379. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe dos espinhos anterolaterais e da órbita superior. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias.....130

<b>Figura 38.</b> Espécime de <i>Pilumnus sayi</i> , 1♂ (LC 21,5mm), ANHM 991. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe dos espinhos anterolaterais e da órbita superior. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias.....	134
<b>Figura 39.</b> Holótipo de <i>Pilumnus spinosissimus</i> , 1♂ (LC 9,9mm), USNM 69063. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe dos espinhos anterolaterais e da órbita superior. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias. F-vista mesial, detalhe do Gonópodo (Pleópodo 1).....	137
<b>Figura 40.</b> Espécime de <i>Pilumnus vinaceus</i> , 1♂, (LC 9.9mm), MNHN-IU-2000-4322 (= MNHN-B4322). A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe dos espinhos anterolaterais e da órbita superior. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias.....	141
<b>Figura 41.</b> Espécime de <i>Pilumnus vinaceus</i> , 1♀, (LC 9.9mm), CCDB 4598. A-vista dorsal do corpo inteiro do animal. B-vista dorsal da carapaça. C-vista dorsal, detalhe dos espinhos anterolaterais e da órbita superior. D-vista ventral, detalhe quelípodo maior. E-vista dorsal, detalhe pernas ambulatórias.....	142
<b>Figura 42.</b> Estruturas usadas na chave de identificação. A – margem anterolateral com dentes; B – margem anterolateral com espinhos; C – Superfície dorsal com pubescência; D – Superfície dorsal com cerdas rígidas; E – Quelípodo maior com menos de 2/3 da superfície externa da palma espinhosa; F - Quelípodo maior com mais de 2/3 da superfície externa da palma espinhosa; G - Pernas ambulatórias com grânulos; H – Pernas ambulatórias com espinhos; I – Perna ambulatória com espinhos achatados verticalmente; J – Pernas ambulatórias com fileira de espinhos achatados lateralmente, inseridos par a par. Chave cor de rosa indica margem anterolateral da carapaça; Chave amarela indica margem superorbital; Seta verde indica região superhepática; Seta roxa indica margem externa da palma do quelípodo maior.....	156
Figura 43. <i>Pilumnus gemmatus</i> . A-Margem anterolateral; B-Perna ambulatória; C-Quelípodo maior.....	160
Figura 44. <i>Pilumnus floridanus</i> . A-Margem anterolateral; B-Perna ambulatória; C-Quelípodo maior.....	160
Figura 45. <i>Pilumnus holosericus</i> . A-Margem anterolateral; B-Perna ambulatória; C-Quelípodo maior.....	161
Figura 46. <i>Pilumnus reticulatus</i> forma fragosa. A-Margem anterolateral; B-Perna ambulatória; C-Quelípodo maior.....	161
Figura 47. <i>Pilumnus reticulatus</i> forma tessellata. A-Margem anterolateral; B-Perna ambulatória; C-Quelípodo maior. ....	162

Figura 48. <i>Pilumnus nudimanus</i> . A-Margem anterolateral; B-Perna ambulatória; C-Quelípodo maior.....	162
Figura 49. <i>Pilumnus pannosus</i> . A-Margem anterolateral; B-Perna ambulatória; C-Quelípodo maior.....	163
Figura 50. <i>Pilumnus lacteus</i> . A-Margem anterolateral; B-Perna ambulatória; C-Quelípodo maior.....	163
Figura 51. <i>Pilumnus longleyi</i> . A-Margem anterolateral; B-Perna ambulatória; C-Quelípodo maior.....	164
Figura 52. <i>Pilumnus quoii</i> . A-Margem anterolateral; B-Perna ambulatória; C-Quelípodo maior.....	164
Figura 53. <i>Pilumnus caribaeus</i> . A-Margem anterolateral; B-Perna ambulatória; C-Quelípodo maior.....	165
Figura 54. <i>Pilumnus marshi</i> . A-Margem anterolateral; B-Perna ambulatória; C-Quelípodo maior.....	165
Figura 55. <i>Pilumnus miersii</i> . A-Margem anterolateral; B-Perna ambulatória; C-Quelípodo maior.....	166
Figura 56. <i>Pilumnus gracilipes</i> . A-Margem anterolateral; B-Perna ambulatória; C-Quelípodo maior.....	166
Figura 57. <i>Pilumnus sayi</i> . A-Margem anterolateral; B-Perna ambulatória; C-Quelípodo maior.....	167
Figura 58. <i>Pilumnus diomedeeae</i> . A-Margem anterolateral; B-Perna ambulatória; C-Quelípodo maior.....	167
Figura 59. <i>Pilumnus spinosissimus</i> . A-Margem anterolateral; B-Perna ambulatória; C-Quelípodo maior.....	168
Figura 60. <i>Pilumnus vinaceus</i> . A-Margem anterolateral; B-Perna ambulatória; C-Quelípodo maior.....	168
Figura 61. <i>Pilumnus dasypodus</i> . A-Margem anterolateral; B-Perna ambulatória; C-Quelípodo maior.....	169

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Lista de caracteres morfológicos utilizados durante a revisão taxonômica dos exemplares do gênero *Pilumnus*.....9
- Tabela 2.** Primers utilizados para amplificação das sequências.....11
- Tabela 3.** Espécimes de caranguejos usados nas análises moleculares com respectivo local de coleta, número de catálogo de coleção e número de acesso do banco de dados genético (Genbank) para os genes COI e 16S. (CCDB – Coleção de Crustáceos do Departamento de Biologia, FFCLRP, USP; CNCR – Colección Nacional de Crustáceos, Instituto de Biología, UNAM; MZUSP – Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo; UF– University of Florida; ULLZ – University of Louisiana at Lafayette’s Zoology Collection; USNM - United States National Museum - Smithsonian, Washington DC/USA); ZRC – Zoological Reference Collection, The Raffles Museum of Biodiversity, National University of Singapore. BRA – Brasil; COL – Colômbia; CRI – Costa Rica; EUA – Estados Unidos; HON – Honduras; MAR – Marrocos; MEX – México; PAN – Panamá; VNZ – Venezuela. Nome das espécies entre aspas (“”) indica identificação equivocada descrita nas etiquetas das instituições.....14
- Tabela 4.** Matriz de divergência genética para o gene Citocromo Oxidase I (COI) entre as espécies de *Pilumnus*. ARG: Argentina; BA: Bahia; BEL: Belize; BUL: Bulgária; CE: Ceará; COR: Coreia; CRO: Croácia; CS: Carolina do Sul; ES: Espírito Santo; ESP: Espanha; FL: Flórida; FRA: França; GFR: Guiana Francesa; GOM: Golfo do México; GUA: Guadalupe; GUI: Guiné Equatorial; IVB: Ilhas Virgens Britânicas; JAP: Japão; LA: Louisiana; MEX: México; PAC: Pacífico; PAL: Palau; PAN: Panamá; PE: Pernambuco; PFR: Polinésia Francesa; POR: Portugal; RJ: Rio de Janeiro; SP: São Paulo; SC: Santa Catarina; TUN: Tunísia; TX: Texas.....30
- Tabela 5.** Matriz de divergência genética para o gene 16S rRNA entre as espécies de *Pilumnus*. ARG: Argentina; BEL: Belize; CE: Ceará; COR: Coreia; FL: Flórida; FRA: França; GUA: Guadalupe; IVB: Ilhas Virgens Britânicas; MEX: México; PAC: Pacífico; PAN: Panamá; SP: São Paulo; TX: Texas.....33

# SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Contextualização do gênero <i>Pilumnus</i> .....	1
1.2. Gênero <i>Pilumnus</i> : características gerais e classificação.....	3
2. OBJETIVOS.....	7
3. MATERIAL & MÉTODOS.....	8
3.1. Obtenção dos dados morfológicos.....	8
3.2. Obtenção dos dados moleculares.....	10
3.3. Análises morfológicas.....	12
3.4. Análises moleculares.....	13
4. RESULTADOS.....	21
4.1. Análises morfológicas.....	21
4.2. Análises moleculares.....	27
5. DISCUSSÃO.....	39
6. CONCLUSÃO.....	55
7. SISTEMÁTICA.....	56
8. REFERÊNCIAS.....	143
9. CHAVE DE IDENTIFICAÇÃO.....	156
10. ANEXO.....	170



# INTRODUÇÃO

### 1.1. Contextualização do gênero *Pilumnus*

Dentre os decápodos, a infraordem Brachyura (Latreille, 1803) é a que possui a maior diversidade morfológica reconhecida para os representantes viventes. Esses animais habitam ambientes terrestres, desde 2.000 metros acima do nível do mar até zonas abissais abaixo de 6.000 metros de profundidade (Ng *et al.*, 2008). A grande diversidade morfológica dos Brachyura é um dos fatores que contribuem para o cenário controverso acerca das diversas propostas de classificação do grupo (Ahyong *et al.*, 2007).

O formato da carapaça e quadro bucal foram caracteres amplamente utilizados no passado para embasar propostas de classificação dos Brachyura (H. Milne-Edwards, 1834; Balss, 1957) e, baseado nestes, o grupo foi subdividido em Dromiacea (*sponge crabs* e relativos), Oxyrhyncha (*spider crabs*), Oxystomata (*box crabs*, *pebble crabs* e relativos), Cancridea (*cancer crabs*) e Brachyrhyncha (*short fronted crabs*). Guinot (1979) apontou que tais estudos se baseavam majoritariamente em caracteres morfológicos pouco informativos, e que estruturas com semelhanças superficiais estavam sendo erroneamente tratadas como homólogas.

Com o intuito de elucidar o controverso cenário da classificação dos braquiúros, Guinot (1977, 1978, 1979) propôs uma grande mudança na taxonomia do grupo, com uma hipótese de classificação baseada, dentre outros caracteres, na posição dos orifícios genitais (gonóporos) dos machos e das fêmeas, separando os táxons em três grupos: os Podotremata com abertura coxal nos machos e fêmeas, Heterotremata com abertura coxal nos machos e esternal nas fêmeas e Thoracotremata com abertura esternal em machos e fêmeas (Melo, 1996). Contudo, muitos taxonomistas norte-americanos não se basearam em tal classificação, e utilizaram sistemas distintos. É o caso, por exemplo, de Williams (1984), que utilizou a classificação de Glaessner (1969), sugerindo que as propostas de Guinot e de outros autores ainda deveriam ser avaliadas. Esta falta de consenso é refletida nas diferenças substanciais da classificação dos Brachyura em diferentes trabalhos (Hendrickx, 1998; Guinot *et al.*, 2013).

Inserido no problemático grupo dos Brachyura, Pilumnidae Samouelle, 1819 também possui controvérsia sistemática, sendo as diferenças encontradas nas classificações entre as subfamílias e gêneros provavelmente decorrem do uso de apenas caracteres morfológicos de indivíduos adultos, que são muito semelhantes (Takeda & Miyake, 1968). Baseando-se em caracteres morfológicos externos como formato da carapaça e quelípodos, Samouelle (1819) erigiu Pilumnidae para a alocação do gênero *Pilumnus* Leach, 1815. No entanto, ao longo dos anos *Pilumnus* foi alocado em diferentes famílias como Eriphidae MacLeay, 1838, Cancridae Latreille, 1802 e Xanthidae MacLeay, 1838 *sensu lato*, aventando a possibilidade de Pilumnidae não ser um táxon válido (Stimpson, 1871, Kingsley, 1878, Miers, 1886). Devido a constante mudança na alocação de *Pilumnus* em distintas famílias, em 1956 por uma decisão da Comissão Internacional de Nomenclatura Zoológica Pilumnidae não deveria ser utilizado e estabeleceu-se preferência a Xanthidae, exceto para pesquisadores que tratassem *Pilumnus* Leach, 1815 e *Xantho* Leach, 1814, como pertencentes a famílias distintas, com *Pilumnus* como membro exclusivo da primeira (Manning & Holthuis, 1981). Contudo, trabalhos subsequentes passaram a adotar *Pilumnus* como membro da família Xanthidae e superfamília Xanthoidea (Glaessner, 1969). Após as inovadoras propostas de classificação de Guinot (1979), o gênero passou a ser novamente alocado na família Pilumnidae, porém ainda inserida na superfamília Xanthoidea, seção Heterotremata (Melo, 1996).

A inclusão de Pilumnidae na superfamília Xanthoidea que até recentemente era aceito, passou a ser questionado (Števíć, 2005). O reconhecimento de uma linhagem distinta tem sido aventado e o gênero tem sido inserido na superfamília Pilumnoidea com base em dados morfológicos e moleculares (Ng *et al.*, 2008; Lai *et al.*, 2011; Schubart & Aichinger, 2014). Ademais, as subfamílias reconhecidas em Pilumnoidea são muito distintas morfológicamente e poderiam ser reconhecidas como famílias (Ng *et al.*, 2008).

## 1.2. Gênero *Pilumnus*: características gerais e classificação

Os caranguejos conhecidos como *bristle* ou *hairy crabs* (caranguejos com cerdas ou peludos) habitam fundos de areia, cascalho, conchas, corais e lama, podendo ser encontrados também dentro de esponjas, desde entre marés até cerca de 340 metros de profundidade (Melo, 1996). De acordo com a checklist mais recente sobre os Brachyura (Ng *et al.*, 2008), este táxon apresenta um total de 143 espécies válidas, amplamente distribuídas em águas marinhas, ocorrendo em todos os oceanos tropicais e temperados (Takeda & Miyake, 1968). O pouco conhecimento sobre as espécies que compõem o gênero somada à abundância e semelhança entre elas, contribuem para um estado de problemas na sistemática do grupo (Takeda & Miyake, 1968). Estudos anteriores sobre a sistemática do gênero mostraram que este grupo sofreu mudanças taxonômicas e que ainda persistem incertezas quanto à sua classificação (Schubart & Aichinger, 2014).

O gênero *Pilumnus* foi descrito por Leach em 1815 com base em espécime identificado como *P. hirtellus* (Linnaeus, 1761). De acordo com o autor, representantes do gênero apresentavam carapaça transversal, margem anterior semi-inclinada, escondendo a margem truncada; olhos não mais grossos que os pedúnculos, que são curtos; antena externa setosa, sub-alongada, inserida no ângulo interno dos olhos obliquamente; palpo no vértice interno do mero do terceiro maxilípede; abdômen em ambos os sexos com sete somitos. Quelípodos bastante desiguais, com dois dedos dentados; pares de pernas ambulatórias com garras de extremidades afiadas e nuas. Ainda de acordo com o Leach (1815), todas as espécies observadas por ele eram cobertas por cerdas arrepiadas, mais proeminentes nas pernas. Além disso, o autor comenta que os espécimes de *P. hirtellus* no qual se baseou por monotipia para descrição do gênero apresenta as vezes carpo e quela bastante lisos, diferentes da característica essencial proposta por Linnaeus para a espécie, que era a granulação das quelas.

Por anos, diferentes espécies de caranguejos que compartilhassem as características palpo interno do terceiro maxilípede, antena oblíqua dentro da órbita,

olhos da mesma largura do pedúnculo e algum tipo de pilosidade, seja na carapaça inteira ou apenas nas pernas ambulatórias, bem como granulação ou não nas quelas, eram inseridos no gênero *Pilumnus*. No entanto, uma diversidade enorme de caranguejos marinhos compartilham essas características, ao mesmo tempo em que outras, como formato do gonópodo, formato do rostro, da carapaça, da órbita, presença de ornamentação ou não, etc, que hoje os diferenciam do taxon *Pilumnus*. Assim, espécies que atualmente estão alocadas em diferentes gêneros de diferentes famílias, como *Actumnus* Dana, 1851, *Eupilumnus* Kossmann, 1877, *Parapilumnus* Kossmann, 1877, *Heteropilumnus* De Man, 1895, *Neopilumnoplax* Serène, 1969, *Aniptumnus* Ng, 2002, *Glabropilumnus* Balss, 1932, *Latopilumnus* Türkay & Schuhmacher, 1985, *Lobopilumnus* A. Milne-Edwards, 1880, *Lophopilumnus* Miers, 1886, *Nanopilumnus* Takeda, 1974, etc, da família Pilumnidae; *Rhithropanopeus* Rathbun, 1898 da família Panopeidae Bronn, 1862; *Forestia* Guinot, 1976, *Heteractaea* Lockington, 1877, *Pilodius* Dana, 1851, *Cymoida* Alcock, 1898, *Garthiope* Guinot, 1990, *Microcassiope* Guinot, 1967, *Micropanope* Stimpson, 1871, etc, da família Xanthidae, foram todos considerados previamente um *Pilumnus* (Ng *et al.*, 2008).

De acordo com A. Milne-Edwards (1880) a identificação das espécies de *Pilumnus* é bastante difícil devido a grande semelhança de caracteres e a variação (incluindo intraespecífica) do número de espinhos nas pernas e na superfície da carapaça. No entanto, as cerdas do corpo apresentam um aspecto particular, e a carapaça é normalmente convexa e as regiões são distintas. Ainda, segundo o autor, essas espécies apresentam fronte com dois lóbulos mais ou menos arredondados, órbita as vezes inteira e as vezes com fissuras, sendo exatamente essa característica utilizada por Kossmann (1877) para separar *Pilumnus* (com uma fenda orbital) e erigir *Parapilumnus* (sem fenda orbital) e *Eupilumnus* (com duas fendas orbitais). Inicialmente, quando foi descrito por Leach (1815), o gênero compreendia três espécies de caranguejos, duas provenientes da Europa, *P. hirtellus* e *P. villosissimus* (Rafinesque, 1814), e uma encontrada na Ásia *P. vespertilio* (Fabricius, 1793) (Schubart

& Aichinger, 2014). Posteriormente, mais de 164 espécies foram descritas e inseridas nesse gênero *Pilumnus*, mas destas 143 são consideradas válidas (Ng *et al.*, 2008).

De acordo com a literatura, é registrada a ocorrência de 17 espécies de *Pilumnus* na costa do Atlântico ocidental (Rathbun, 1930; Lemaitre, 1981; Williams, 1984; Melo, 1996; Ng *et al.*, 2008; Felder *et al.*, 2009): *Pilumnus caribaeus* (Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867); *P. dasypodus* Kingsley, 1879; *P. diomedae* Rathbun, 1894; *P. floridanus* Stimpson, 1871; *P. gemmatus* Stimpson, 1860; *P. gracilipes* A. Milne-Edwards, 1880; *P. holosericus* Rathbun, 1898; *P. lacteus* Stimpson, 1871; *P. longleyi* Rathbun, 1930; *P. marshi* Rathbun, 1901; *P. miersii* A. Milne-Edwards, 1880; *P. nudimanus* Rathbun, 1901; *P. pannosus* Rathbun, 1896; *P. quooii* H. Milne-Edwards, 1834; *P. reticulatus* Stimpson, 1860; *P. sayi* Rathbun, 1897; e *P. spinosissimus* Rathbun, 1898. Essas espécies são separadas de acordo a morfologia da frente e a disposição dos espinhos/grânulos e cerdas nos quelípodos e na carapaça (Rathbun, 1930; Williams, 1984; Melo, 1996). No entanto, a grande similaridade morfológica das espécies não permite muitas vezes uma correta identificação dos exemplares. As chaves de identificação disponíveis apresentam caracteres subjetivos que dificultam a separação destas (*e.g.*, margem dos lóbulos frontais mais ou menos convexa) e ausência de imagens que facilitem a identificação. Além disso, é verificada a presença de caracteres variáveis na diagnose de cada espécie (*e.g.*, número de espinhos ao redor da órbita) (Rathbun, 1930; Melo, 1996).

Alguns trabalhos abordando os problemas de status de espécies deste gênero têm sido realizados no intuito de contribuir para a sistemática e relações filogenéticas do grupo, seja por meio de dados morfológicos apenas (Takeda & Miyake, 1968; Spivak & Rodríguez, 2002) ou aliados a dados moleculares (Oliveira-Biener *et al.*, 2010; Schubart & Aichinger, 2014). No entanto, é evidente a ausência de trabalhos sistemáticos devotados para o gênero *Pilumnus* com espécies de ocorrência no Atlântico ocidental ou continente Americano como um todo.

Dentre as 17 espécies de *Pilumnus* com ocorrência no Atlântico ocidental, seis apresentam uma distribuição desde o sudeste dos Estados Unidos, do Golfo do

México até o Brasil (Melo, 1996). No entanto, o alto grau de endemismo relatado para espécimes provenientes da província Texana (Golfo do México) (Powers, 1977; Mouton & Felder, 1995; Staton & Felder, 1995) poderia indicar um equívoco em relação ao padrão contínuo de distribuição ou presença de grupos crípticos para algumas espécies. Tais características qualificam os representantes do gênero como potencial modelo de estudo para se avaliar o padrão distribucional das espécies em diferentes áreas zoogeográficas nas Américas.

Os exemplos acima citados ilustram o atual panorama, confuso e instável, sobre a identificação e a taxonomia das espécies de *Pilumnus* provenientes do Atlântico ocidental, atualmente baseadas apenas em dados morfológicos. Devido à grande similaridade morfológica das espécies, como no caso de espécies crípticas, um estudo taxonômico baseado apenas em caracteres morfológicos, muitas vezes não permite uma correta separação das espécies (Hebert *et al.*, 2004). Outro problema oriundo da classificação baseada somente nos dados morfológicos, que se configuram como marcadores complexos com grandes intervalos de variação, é a possibilidade de se super- ou subestimar a diversidade atual (Lefébure *et al.*, 2006). Desta forma, o uso de ferramentas moleculares aliado à morfologia tem se mostrado bastante eficaz na resolução de problemas taxonômicos em decápodes, conseqüentemente contribuindo para a construção de hipóteses de relações filogenéticas para seus diferentes subgrupos (e.g., Schubart *et al.*, 2000a; Munasinghe *et al.*, 2003; Robles *et al.*, 2007; Tsang *et al.*, 2014; Magalhães *et al.*, 2016; Terossi *et al.*, 2017)

Tendo em vista a existência de um confuso cenário no que se refere à classificação de *Pilumnus*, um estudo sistemático envolvendo as dezessete espécies do Atlântico ocidental, incluindo uma ampla análise de caracteres morfológicos e moleculares e utilizando-se de metodologias variadas, torna-se fundamental para auxiliar na classificação e também nas relações filogenéticas entre as espécies que compõem o gênero e conseqüentemente a família Pilumnidae.



# OBJETIVOS

Baseado no relato anterior, demonstrando um acúmulo de incertezas sobre a sistemática dos caranguejos pertencentes a este grupo, a presente tese tem como objetivo principal realizar uma análise taxonômica das espécies do gênero *Pilumnus* distribuídas na costa do Atlântico ocidental utilizando dados morfológicos e moleculares. Para isso, foram realizados os seguintes objetivos específicos:

- avaliar as hipóteses postuladas na literatura para a proposição de sinonímias entre algumas espécies do gênero a partir de análises morfológicas (caracteres corpóreos clássicos e dos gonópodos, busca por outros caracteres informativos) comparadas entre os espécimes com distribuição Atlântico ocidental;

- avaliar as hipóteses postuladas na literatura para a proposição de sinonímias entre algumas espécies do gênero, utilizando análise de cluster, baseada nas distâncias genéticas entre as sequências nucleotídicas dos genes mitocondriais 16SmtRNA e Citocromo Oxidase I (COI);

- avaliar as hipóteses postuladas para a ocorrência contínua das espécies de *Pilumnus* no Atlântico ocidental, por meio da verificação de estruturação genética entre as populações, utilizando o gene mitocondrial Citocromo Oxidase I (COI).

Tão quanto possível, o contexto do projeto foi complementado com uma análise de espécimes de outras regiões zoogeográficas no intuito de melhor contextualizar as espécies alvo desta proposta.



# MATERIAL & MÉTODOS

### 3.1. Obtenção dos dados morfológicos

O material analisado foi obtido por meio de coletas, empréstimo, doações e visitas às coleções carcinológicas de diversas instituições científicas. As coletas foram realizadas por meio de barcos de pesca equipado com redes do tipo “otter trawl” ou por coleta manual durante atividades de mergulho (Scuba) ou em áreas intermareais. Os animais obtidos foram devidamente identificados, etiquetados, armazenados em álcool etílico 80% e depositados na Coleção de Crustáceos do Departamento de Biologia (CCDB) do Laboratório de Bioecologia e Sistemática de Crustáceos (LBSC), Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (FFCLRP/USP).

Empréstimos, doações ou visitas *in loco* para análise e obtenção de material foram realizadas nas coleções carcinológicas das seguintes instituições: **AMNH** – American Museum of Natural History, Nova Iorque, Nova Iorque, Estados Unidos; **CNCR/UNAM** – Colección Nacional de Crustaceos da Universidad Nacional Autónoma de México, Cidade do México, México; **EMU** – Colección da Estacion de Mazatlan da Universidad Nacional Autónoma de México, Mazatlan, Sinaloa, México; **HBG** – Crustacean Collection of the Florida International University, Flórida, Estados Unidos; **MCZ** – Museum of Comparative Biology-Harvard, Boston, Massachusetts, Estados Unidos; **MNHN** – Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, França; **MHNCI** – Museu de História Natural Capão da Imbuía, Capão da Imbuía, Curitiba, Brasil; **MHNMC** – Museo de Historia Natural Marina de Colombia-Makuriwa del Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras de Colombia – Invemar, Santa Marta, Colômbia; **MNRJ** – Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil; **MZUSP** – Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo Brasil; **MZUESC** – Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Bahia, Brasil; **NHM** – Natural History Museum, Londres, Inglaterra; **NHMLA** – Natural History Museum of Los Angeles County, Los Angeles, Estados Unidos; **SAM** – Iziko South African Museum, Cidade do Cabo, África do Sul; **UFRGS** –

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil; **UNAM** – Universidad Autónoma de México, Cidade do México, México; **UNMdP** – Univesidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, Argentina; **USNM** – United States National Museum, Whashington D.C, Estados Unidos; **UFPE** – Universidade Federal do Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil; **UF** – University of Florida, Gainesville, Flórida, Estados Unidos; **ULLZ** – University of Louisiana-Lafayette Zoological collection, Lafayette, Louisiana, Estados Unidos.

A identificação preliminar dos exemplares foi baseada em caracteres morfológicos previamente propostos na literatura (H. Milne-Edwards, 1834; Stimpson, 1860, 1871; Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867; Kingsley, 1879; A. Milne-Edwards, 1880; Rathbun, 1894, 1896, 1897, 1898, 1901, 1930; Williams, 1965, 1984; Melo, 1996), os quais juntamente com outros caracteres levantados durante as análises foram reunidos e listados na tabela I, servindo de guia para as análises morfológicas.

Foram analisados, quando possível, exemplares adultos de machos, fêmeas ovígeras e não ovígeras e também juvenis, utilizando os caracteres presentes na lista da tabela I. Posteriormente foi realizada uma análise comparativa (empírica) dos caracteres, identificando aqueles de maior variação interespecífica.

**Tabela 1** - Lista de caracteres morfológicos utilizados durante a revisão taxonômica dos exemplares do gênero *Pilumnus*.

<b>Caracteres Morfológicos</b>
<b>Carapaça:</b> Comprimento e largura; presença e disposição de cerdas, grânulos e espinhos;
<b>Terceiro Maxilípede:</b> presença e disposição de cerdas e grânulos;
<b>Quelípodo:</b> forma e tamanho; proporção dos artículos; presença, número e disposição de espinho e cerdas;
<b>Fronte:</b> formato e presença de dentes, grânulos e espinhos;
<b>Patas ambulatórias:</b> proporção dos artículos, presença de cerdas e espinhos;
<b>Espinhos ou grânulos na carapaça e quelípodos:</b> número e formato;
<b>Gonópodo:</b> forma e comprimento; presença e distribuição de cerdas;

As análises morfológicas realizadas no LBSC-FFCLRP/USP foram feitas sob estereomicroscópio M205 C LEICA®. As imagens de alguns caracteres foram obtidas com câmera digital LEICA® DFC300 FX acoplada ao estereomicroscópio M205 C LEICA® com o software Leica Application Suite LAS V3.3. Os exemplares foram mensurados com paquímetro digital STARRETT® 727 ( $\pm 0,01$  mm) e a largura da carapaça (LC), largura frontorbital (LFO) e o comprimento da margem anterior foram comparadas entre os espécimes (CMA).

### **3.2. Obtenção dos dados moleculares**

#### *Escolha de marcadores*

Para as análises moleculares foram utilizados como marcadores um fragmento parcial de 16S rRNA (16S), um gene com regiões conservativas e taxa de evolução lenta, amplamente utilizado em reconstruções filogenéticas e verificação de status taxonômicos (Schubart *et al.*, 2000a; Mantelatto *et al.*, 2009), um fragmento parcial do gene Citocromo Oxidase subunidade I (COI utilizando mesma sequência do DNA barcode), que possui taxas de evolução rápida, permitindo acesso a estrutura populacional (Moritz *et al.*, 1987; Negri *et al.*, 2012). Ambos os genes mitocondriais têm sido amplamente utilizados em estudos de muitos invertebrados (Lefébure *et al.*, 2006; Feng *et al.*, 2011; Thoma *et al.*, 2013). Mais especificadamente para os crustáceos decápodos, ambos os genes têm sido usados em projetos como Barcoding (Costa *et al.*, 2007; Terossi & Mantelatto, 2012; Silva *et al.*, 2012) e o Tree of Life (Buhay & Crandall, 2008; Bracken-Grissom *et al.*, 2014) focando na delimitação de espécies e esclarecendo as relações evolutivas das espécies entre diversos grupos de crustáceos decápodos.

#### *Extração de DNA*

A partir dos exemplares obtidos, o DNA genômico foi extraído do tecido muscular dos quelípodos, seguindo em linhas gerais os protocolos de Schubart *et al.* (2000b) com modificações de acordo com Mantelatto *et al.* (2006) e Robles *et al.* (2007)

e alguns ajustes para o grupo alvo, posteriormente armazenado em freezer a -20°C. As concentrações das amostras de DNA extraído foram mensuradas por meio de espectrofotômetro NanoDrop2000/2000c (Thermo Scientific®).

#### *Amplificação de DNA*

A amplificação foi realizada por meio da técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction) no termocicladores Veriti thermal cycler system (Applied Biosystem®), utilizando iniciadores (primers) universais testados previamente para as espécies de *Pilumnus* em questão (Tab. 2).

**Tabela 2.** Primers utilizados para amplificação das sequências.

<b>Primer</b>	<b>Sequência</b>
1472 (H2)*	5'-AGATAGAAACCAACCTGG-3'
16L2 (L2)**	5'-TGCCTGTTTATCAAAAACAT-3'
COH6***	5'-TADACTTCDGGRTGDCCAAARAAYCA-3'
COL6b***	5'-ACAAAATCATAAAGATATYGG-3'

\*Crandall & Fitzpatrick, 1996; \*\*Schubart *et al.*, 2002; \*\*\*Schubart & Huber, 2006

Os ciclos termais utilizados foram: desnaturação inicial por 5min a 94-95°C; anelamento por 35-40 ciclos: 45seg a 94-95°C, 45seg a 42-48°C, 1min a 72°C; extensão final de 5min a 72°C. Os resultados obtidos foram observados em eletroforese com gel de agarose 1,5% e fotografados com câmaras digitais C-7070 Olympus® e SX520 Canon® em transluminadores UV M20 UVP® e UV 302 Kasvi®.

#### *Purificação e amplificação do produto da PCR*

A purificação dos produtos de PCR foi feita por meio do kit SureClean Plus® (Bioline USA Inc.), seguindo protocolo do mesmo. A reação de sequenciamento foi realizada para um volume total de 20µL seguindo protocolo de Schubart *et al.* (2000b) e Pileggi & Mantelatto (2010) e o produto foi armazenado em freezer a -20°C.

## Sequenciamento do DNA

Os sequenciamentos foram realizados em sequenciadores automatizados ABI Prism 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems®) no Laboratório Multiusuário Centralizado para Sequenciamento de DNA em Larga Escala e Análise de Expressão Gênica do Departamento de Tecnologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP).

### 3.3. Análises morfológicas

As análises morfológicas foram realizadas preferencialmente no Laboratório de Bioecologia e Sistemática de Crustáceos (LBSC), na Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto (FFCLRP) da Universidade de São Paulo (USP).

A partir da disponibilidade e abundância de algumas espécies de *Pilumnus* obtidos por empréstimos, visitas em instituições ou depositados na coleção de crustáceos desse departamento, foram realizadas as análises morfológicas comparativas em alguns espécimes, *a priori* identificados como representantes das 17 espécies de distribuição no Atlântico ocidental (*P. caribaeus*, *P. diomedae*, *P. dasypodus*, *P. floridanus*, *P. gemmatus*, *P. gracilipes*, *P. holosericus*, *P. lacteus*, *P. longleyi*, *P. marshi*, *P. miersii*, *P. nudimanus*, *P. pannosus*, *P. quooi*, *P. reticulatus*, *P. sayi* e *P. spinosissimus*). Além disso, com o intuito de ampliar o enfoque do trabalho e melhorar a contextualização das espécies-alvo propostas, indivíduos de *Pilumnus* de outras regiões zoogeográficas foram incorporados às análises. Espécimes do Pacífico oriental (*P. depressus* Stimpson, 1871, *P. fernandezi* Garth, 1973, *P. gonzalensis* Rathbun, 1894, *P. limosus* Smith, 1869, *P. pygmaeus* Boone, 1927, *P. stimpsonii* Miers, 1886, *P. spinohirsutus* (Lockington, 1877), *P. tectus*, Rathbun, 1933 e *P. townsendi* Rathbun, 1923), do Pacífico ocidental (*P. acutifrons* Rathbun, 1906, *P. nuttingi* Rathbun, 1906), do Oceano Índico (*P. longicornis* Hilgendorf, 1878 e *P. minutus* De Haan, 1835) e do Mediterrâneo (*P. hirtellus* (Linnaeus, 1761)) também foram incorporados as análises.

Foi elaborada uma tabela com dados compilados das espécies analisadas, baseado em caracteres da literatura (H. Milne-Edwards, 1834; Stimpson, 1860; 1871; Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867; Kingsley, 1879; Rathbun, 1896, 1897, 1898, 1901, 1930; Williams, 1984; Melo, 1996) juntamente com os dados obtidos durante esse estudo, selecionando os caracteres morfológicos de maior variabilidade no gênero (Tab. 1). A distribuição fornecida para as espécies foi gerada a partir de dados da literatura juntamente com os espécimes analisados no presente estudo.

### **3.4. Análises moleculares**

#### *Edição das sequências*

Ambas as fitas (senso e antisenso) das sequências obtidas de fragmentos dos genes mitocondriais 16S e COI foram sequenciadas para maior confiabilidade. A edição e a geração de uma fita consenso foram realizadas utilizando-se o software BioEdit 7.2.6 (Hall, 2005). Todas as sequências consensos obtidas foram previamente submetidas ao alinhamento com a ferramenta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) no intuito de compará-las com a base de banco de dados do Genbank, disponíveis no NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>). As sequências foram alinhadas no programa ClustalW (Thompson *et al.*, 1994), com interface no BioEdit, para a eliminação de possíveis erros que pudessem interferir no resultado das análises. As sequências provenientes de genes tradutores de proteínas foram traduzidas no intuito de verificar a existência de pseudogenes, os quais poderiam prejudicar as análises, a partir da verificação da presença de stop códons no quadro de leitura.

Foram analisadas sequências de 24 espécies previamente identificadas como *Pilumnus*. Destas foram geradas: Atlântico ocidental: *Pilumnus caribaeus*, *P. dasypodus*, *P. diomedae*, *P. floridanus*, *P. gemmatus*, *P. holosericus*, *P. lacteus*, *P. longleyi*, *P. marshi*, *P. nudimanus*, *P. pannosus*, *P. sayi*; Atlântico oriental: *Pilumnus hirtellus*; *P. stebbingi*; Pacífico oriental: *Pilumnus fernandesi* Garth, 1973; Pacífico ocidental: *Pilumnus minutus* De Haan, 1835; *P. orbitospinis* Rathbun, 1911; *P. ohshimai* Takeda & Miyake, 1970; *P. thaithensis* de Man, 1890; Mar Mediterrâneo: *Pilumnus villosissimus*

(Rafinesque, 1814) e Golfo Pérsico: *Pilumnus longicornis* Hilgendorf, 1878. Além disso, foram incluídas nas análises sequências do gênero e do grupo externo obtidas no GenBank: *P. aestuarii* Nardo, 1869, *P. hirtellus*, *P. longicornis*, *P. spinifer* H. Milne-Edwards, 1834, *P. vespertilio* (Fabricius, 1793), *P. villosissimus*, *Chaceon ramosae* Manning, Tavares & Albuquerque, 1989, *Dracryopilumnus rathbunae* Balss, 1932, *Dairoides kusei* (Sakai, 1938), *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781), *Eupilumnus africanus* (A. Milne-Edwards, 1867) e *Menippe nodifrons* Stimpson, 1859. Vouchers genéticos encontram-se depositados nas respectivas coleções de origem, conforme indicado na tabela 3. Durante as análises moleculares os nomes dos espécimes foram mantidos como na etiqueta das coleções no intuito de ilustrar a dificuldade de identificação desses animais. No entanto, após cautelosa identificação, nomes considerados identificações incorretas foram colocados entre aspas ("" ) como se encontra na tabela 3.

**Tabela 3.** Espécimes de caranguejos usados nas análises moleculares com respectivo local de coleta, número de catálogo de coleção e número de acesso do banco de dados genético (Genbank) para os genes COI e 16S. (CCDB – Coleção de Crustáceos do Departamento de Biologia, FFCLRP, USP; CNCR – Colección Nacional de Crustáceos, Instituto de Biología, UNAM; MZUSP – Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo; UF– University of Florida; ULLZ – University of Louisiana at Lafayette’s Zoology Collection; USNM - United States National Museum - Smithsonian, Washington DC/USA); ZRC – Zoological Reference Collection, The Raffles Museum of Biodiversity, National University of Singapore. BRA – Brasil; COL – Colômbia; CRI – Costa Rica; EUA – Estados Unidos; HON – Honduras; MAR – Marrocos; MEX – México; PAN – Panamá; VNZ – Venezuela. Nome das espécies entre aspas ("" ) indica identificação equivocada descrita nas etiquetas das instituições.

Espécie	Localidade	Nº de catálogo	Nº de acesso GenBank	
			COI	16S
<i>Pilumnus aestuarii</i> Nardo, 1869	Bulgária	-	HG328358	-
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	Belize	ULLZ 11140	-	MF504045
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	Guadalupe	MNHN-IU-2013-14497	MF504082	MF504043
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	Panamá	ULLZ 13393	MF504087	MF504044
" <i>Pilumnus caribaeus</i> " Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	Panamá	CCDB 3550	MF504097	MF504047
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	Guiana Francesa	MNHN-IU-2014-9442	MF504088	-
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	Guiana Francesa	MNHN-IU-2014-18494	MF504084	-
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	Pernambuco, Brasil	UFPE 15331	MF504094	-
" <i>Pilumnus dasypodus</i> " Kingsley, 1879	Texas, EUA	ULLZ 4432	MF504155	MF504076
<i>Pilumnus dasypodus</i> Kingsley, 1879	Flórida, EUA	ULLZ 17141	MF504095	-
<i>Pilumnus dasypodus</i> Kingsley, 1879	Flórida, EUA	AMNH 17848	MF504101	-
<i>Pilumnus dasypodus</i> Kingsley, 1879	Ilhas Virgens Britânicas	ULLZ 16263	MF504098	MF504046
<i>Pilumnus dasypodus</i> Kingsley, 1879	Belize	USNM 1277893	MF504096	-
<i>Pilumnus dasypodus</i> Kingsley, 1879	Guadalupe	MNHN-IU-2014-7412	MF504100	MF504048
" <i>Pilumnus dasypodus</i> " Kingsley, 1879	Ceará, Brasil	CCDB 5383	MF504152	-
" <i>Pilumnus dasypodus</i> " Kingsley, 1879	Ceará, Brasil	CCDB 5383	MF504154	-
" <i>Pilumnus dasypodus</i> " Kingsley, 1879	Ceará, Brasil	CCDB 5383	MF504156	-
<i>Pilumnus dasypodus</i> Kingsley, 1879	Bahia, Brasil	MZUSP 29171	MF504099	-
" <i>Pilumnus dasypodus</i> " Kingsley, 1879	Espírito Santo, Brasil	MZUSP 32326	MF504153	-
" <i>Pilumnus dasypodus</i> " Kingsley, 1879	Rio de Janeiro, Brasil	MNRJ 18367	MF504151	-
" <i>Pilumnus dasypodus</i> " Kingsley, 1879	São Paulo, Brasil	CCDB 5382	MF504148	MF504075
" <i>Pilumnus dasypodus</i> " Kingsley, 1879	São Paulo, Brasil	CCDB 4593	MF504150	-
" <i>Pilumnus diomedae</i> " Rathbun, 1894	Pernambuco, Brasil	UFPE 15329	MF504085	-
" <i>Pilumnus diomedae</i> " Rathbun, 1894	São Paulo, Brasil	CCDB 4595	MF504081	MF504074

Espécie	Localidade	Nº de catálogo	Nº de acesso GenBank	
			COI	16S
<i>"Pilumnus diomedea"</i> Rathbun, 1894	São Paulo, Brasil	CCDB 5180	MF504093	-
<i>"Pilumnus diomedea"</i> Rathbun, 1894	São Paulo, Brasil	CCDB 3717	MF504080	-
<i>"Pilumnus diomedea"</i> Rathbun, 1894	São Paulo, Brasil	CCDB 3615	MF504090	-
<i>"Pilumnus diomedea"</i> Rathbun, 1894	São Paulo, Brasil	CCDB 3717	MF504083	-
<i>Pilumnus fernandezi</i> Garth, 1973	Panamá	ULLZ 12000	MF504103	MF504049
<i>Pilumnus floridanus</i> Stimpson, 1871	Belize	ULLZ 12563	MF504105	MF504051
<i>Pilumnus floridanus</i> Stimpson, 1871	Golfo do México	ULLZ 14354	MF504106	-
<i>"Pilumnus floridanus"</i> Stimpson, 1871	Golfo do México	ULLZ 7343	-	EU863403
<i>Pilumnus floridanus</i> Stimpson, 1871	México	ULLZ 7317	-	HM637980
<i>Pilumnus floridanus</i> Stimpson, 1871	Guiana Francesa	MNHN-IU-2013-2502	MF504108	-
<i>Pilumnus floridanus</i> Stimpson, 1871	São Paulo, Brasil	CCDB 5919	MF504104	MF504050
<i>"Pilumnus gemmatus"</i> Stimpson, 1860	Belize	ULLZ 9921	MF504114	-
<i>Pilumnus gemmatus</i> Stimpson, 1860	Guadalupe	MNHN-IU-2013-14558	MF504110	MF504052
<i>Pilumnus gemmatus</i> Stimpson, 1860	Panamá	ULLZ 13462	MF504109	MF504053
<i>Pilumnus hirtellus</i> (Linnaeus, 1761)	Mar do Norte	MT03177	KT209207	-
<i>Pilumnus hirtellus</i> (Linnaeus, 1761)	França	USNM 1277896	MF504111	MF504054
<i>Pilumnus hirtellus</i> (Linnaeus, 1761)	França	-	-	AM946023
<i>Pilumnus hirtellus</i> (Linnaeus, 1761)	Portugal	-	HG328360	-
<i>Pilumnus holosericus</i> Rathbun, 1898	Panamá	CCDB 3552	MF504112	-
<i>Pilumnus holosericus</i> Rathbun, 1898	Panamá	ULLZ 13578	MF504113	MF504055
<i>Pilumnus lacteus</i> Stimpson, 1871	Belize	ULLZ 15465	MF504115	MF504056
<i>"Pilumnus lacteus"</i> Stimpson, 1871	Flórida, EUA	ULLZ 8637	MF504124	MF504062
<i>"Pilumnus lacteus"</i> Stimpson, 1871	Flórida, EUA	ULLZ 8373	MF504125	MF504063
<i>Pilumnus longicornis</i> Hilgendorf, 1878	Persia	USNM 1277904	MF504116	-
<i>Pilumnus longicornis</i> Hilgendorf, 1878	-	-	-	KJ132612

Espécie	Localidade	Nº de catálogo	Nº de acesso GenBank	
			COI	16S
<i>Pilumnus longleyi</i> Rathbun, 1930	Belize	ULLZ 11154	MF504117	MF504057
<i>Pilumnus longleyi</i> Rathbun, 1930	São Paulo, Brasil	CCDB 3615	MF504089	MF504041
<i>Pilumnus longleyi</i> Rathbun, 1930	São Paulo, Brasil	CCDB 3615	MF504079	-
<i>Pilumnus marshi</i> Rathbun, 1901	Belize	ULLZ 17643	MF504118	MF504059
<i>Pilumnus marshi</i> Rathbun, 1901	Guadalupe	MNHN-IU-2014-7461	MF504119	MF504058
<i>Pilumnus minutus</i> De Haan, 1835	Coréia	USNM 1277854	MF504120	MF504060
<i>Pilumnus nudimanus</i> Rathbun, 1901	Flórida, EUA	ULLZ 14342	MF504086	MF504042
<i>Pilumnus nudimanus</i> Rathbun, 1901	Panamá	ULLZ 13466	MF504121	MF504061
<i>Pilumnus orbitospinis</i> Rathbun, 1911	Japão	USNM 120711	MF504122	-
<i>Pilumnus pannosus</i> Rathbun, 1896	Texas, EUA	ULLZ 11213	MF504123	-
<i>Pilumnus pannosus</i> Rathbun, 1896	Guadalupe	MNHN-IU-2013-16321	MF504144	MF504071
<i>Pilumnus pannosus</i> Rathbun, 1896	Panamá	USNM 1277859	MF504126	-
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	Belize	ULLZ 12562	MF504140	-
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	Panamá	ULLZ 13589	MF504141	MF504070
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	Pernambuco, Brasil	UFPE 13508	MF504127	-
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	Rio de Janeiro, Brasil	MNRJ 21462	MF504134	-
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	São Paulo, Brasil	CCDB 3617	MF504142	MF504065
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	São Paulo, Brasil	CCDB 3617	MF504129	MF504066
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	São Paulo, Brasil	CCDB 3617	MF504139	-
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	São Paulo, Brasil	CCDB 5391	MF504135	-
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	São Paulo, Brasil	CCDB 5391	MF504137	-
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	São Paulo, Brasil	CCDB 4323	MF504128	-
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	São Paulo, Brasil	CCDB 4323	MF504136	-
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	Santa Catarina, Brasil	MZUSP 23490	MF504133	-
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	Argentina	CCDB 5379	MF504130	MF504067

Espécie	Localidade	Nº de catálogo	Nº de acesso GenBank	
			COI	16S
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	Argentina	CCDB 5379	MF504132	MF504068
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	Argentina	CCDB 5379	MF504131	MF504069
<i>Pilumnus sayi</i> Rathbun, 1897	Flórida, EUA	ULLZ 14405	-	MF504072
<i>Pilumnus sayi</i> Rathbun, 1897	Flórida, EUA	ULLZ 6938	-	GU144435
" <i>Pilumnus sayi</i> " Rathbun, 1897	Ilhas Virgens Britânicas	ULLZ 4346	MF504102	-
<i>Pilumnus sp.</i>	Belize	ULLZ 10033	MF504143	-
<i>Pilumnus spinifer</i> H. Milne Edwards, 1834	Croácia	-	HG328359	-
" <i>Pilumnus spinosissimus</i> " Rathbun, 1898	São Paulo, Brasil	CCDB 4598	-	MF504078
" <i>Pilumnus spinosissimus</i> " Rathbun, 1898	Rio de Janeiro, Brasil	MNRJ 17249	MF504092	-
" <i>Pilumnus spinosissimus</i> " Rathbun, 1898	Rio de Janeiro, Brasil	MNRJ 17257	MF504107	-
<i>Pilumnus stebbingi</i> Capart, 1951	Ilha de Ano-Bom, Guiné Equatorial	USNM 1277872	MF504146	-
<i>Pilumnus thaitensis</i> de Man, 1890	Moorea, Polinésia Francesa	USNM 266710	MF504147	-
<i>Pilumnus vespertilio</i> (Fabricius, 1793)	-	-	-	KJ132627
<i>Pilumnus villosissimus</i> (Rafinesque, 1814)	Espanha		HG328357	-
<i>Pilumnus villosissimus</i> (Rafinesque, 1814)	Tunisia	USNM 1277963	MF504145	-
<b>Grupo externo</b>				
<i>Chaceon ramosae</i> Manning, Tavares & Albuquerque, 1989	Brasil	-	KC676779	KC676756
<i>Dacryopilumnus rathbunae</i> Balss, 1932	Japão	ZRC 1999.1291	HM638027	HM637971
<i>Dairoides kusei</i> (Sakai, 1938)	Hawaii, EUA	ULLZ 9183	HM638030	HM637979
<i>Eriphia gonagra</i> (Fabricius, 1781)	Flórida, EUA	ULLZ 5463	HM638035	HM637964
<i>Eupilumnus africanus</i> (A. Milne-Edwards, 1867)	Cabo Verde	ULLZ 11966	KC771025	KC771007
<i>Menippe nodifrons</i> Stimpson, 1859	México	ULLZ 4351	HM638050	HM637975

Em anexo segue a tabela 3 com as identificações corrigidas.

### *Análise de distância genética*

As análises de distância genética para as espécies de *Pilumnus* foram realizadas considerando a identificação prévia presente nas etiquetas fornecidas, com posterior avaliação da validade desta identificação (*i.e.*, se os espécimes foram identificados corretamente ou não). Isso permitiu avaliar a dificuldade de identificação dos espécimes desse gênero.

Distância genética tem sido usada por muitos autores no auxílio aos problemas sistemáticos em crustáceos (Weber *et al.*, 2000; Munasinghe *et al.*, 2003, Ocampo *et al.*, 2013). A presença de gaps entre os níveis intra e interespecíficos no DNA barcoding pode ser utilizada como um limite entre as espécies, colaborando, juntamente com os caracteres morfológicos, na identificação de espécies (Hebert *et al.*, 2004; Kerr *et al.*, 2009).

Para ajudar na elucidação do status taxonômico das espécies de *Pilumnus*, foram realizados cálculos de distância genética utilizando o programa MEGA 5 (Tamura *et al.*, 2011) e as matrizes de distância foram calculadas por meio de distancia não corrigida (distância  $p$ ), baseado nas sequências de COI e 16S. A distância  $p$  é comumente utilizada uma vez que evita super parametrização e não há necessidade de usar medidas de distâncias complexas ao estudar sequências estreitamente relacionadas (Nei & Kumar, 2000; Collins *et al.*, 2012). No intuito de acessar as distâncias genéticas intra e interespecífica, foram construídos histogramas de frequências com pares de sequências de COI e 16S. Além disso, foram criados dendrogramas para ilustrar a relação de distâncias entre as espécies analisadas, por meio do método de *Neighbor joining* no programa MEGA 5 e a consistência interna dos ramos foi avaliada pelo método de “bootstrap” (Felsenstein, 1985) com 1000 réplicas, e apenas valores de confiança acima de 70% foram apresentados.

### *Análise filogenética*

A análise filogenética para as espécies de *Pilumnus* foi realizada incorporando as correções na identificação dos espécimes.

No intuito de testar as relações internas das espécies do Atlântico do gênero *Pilumnus*, foi realizada análise concatenada com base em 1247pb (660 para COI e 587 para 16S). O melhor modelo evolutivo para as sequências dos genes concatenados foi determinado pelo software JModeltest 2.1.4. (Posada, 2008) e selecionado pelo método de Critério de Informação Akaike (AIC). O melhor modelo evolutivo para o nosso conjunto de dados foi o GTR+I+G, (General Time Reversible) com sítios invariáveis (I) e taxas de substituições desiguais sob a distribuição gama (G). As frequências nucleotídicas foram: A = 0,3502; C = 0,1573; G = 0,1210; T = 0,3716; taxas de substituição dos nucleotídeos foram: A-C = 0,6358; A-G = 13,7491; A-T = 1,4495; C-G = 0,4564; C-T = 13,2775; G-T = 1,0000; proporção de sítios invariáveis: I = 0,5080; distribuição gama = 0,6300.

A análise filogenética foi realizada utilizando o critério de Máxima Verossimilhança (MV) para os genes mitocondriais 16S e COI concatenados. O método de MV estima a verossimilhança de um conjunto de dados por meio da busca pela árvore que maximiza a probabilidade de observação dos dados, ou seja, calcula a árvore de maior probabilidade de ocorrência, podendo levar em consideração parâmetros como taxa de substituição e frequência de bases, a partir de um modelo evolutivo escolhido (Russo *et al.*, 2001; Hall, 2011). Para a análise de MV, o modelo evolutivo selecionado foi utilizado na base do RAxML 8.2.10 (Stamatakis, 2014), através do portal CIPRES (Cyberinfrastructure for Phylogenetic Research, [www.phylo.org](http://www.phylo.org)) (Miller *et al.*, 2010). A consistência interna dos ramos foi avaliada pelo método de “bootstrap” e apenas valores de confiança acima de 70% foram apresentados.

Juntamente com a árvore filogenética foram incluídas figuras com parte da carapaça dos caranguejos, as quais apresentam diferenças e representam as linhagens indicadas pela mesma coloração.



**RESULTADOS**

#### 4.1. Análises morfológicas

Com base nas análises morfológicas de todos os espécimes de *Pilumnus* analisados, foi verificado que as estruturas morfológicas mais informativas para identificação de adultos do gênero do Atlântico ocidental são carapaça [número, tipo de agregação, formato de espinhos, grânulos e tubérculos; tipo de cerda com pubescência cobrindo toda ou parte da carapaça ou cerdas rígidas e espaçadas; número e formato de espinhos anterolaterais (3, 4, 5 ou 6); formato do rostro (convexo, oblíquo ou reto)], quelípodo (margem externa do quelípodo maior (lisa e nua ou coberta por espinhos, grânulos ou tubérculos e/ou cerdas) e pernas ambulatórias (presença ou ausência de espinhos, grânulos ou tubérculos) (Fig. 1).

Com base na pubescência e espinhos da carapaça e pernas, os espécimes do Atlântico ocidental podem ser separados em ao menos dois grandes grupos. As espécies que compartilham pubescência cobrindo toda ou parte da carapaça e presença de pubescência, tubérculos e/ou grânulos nas pernas ambulatórias (*P. holosericus*, *P. gemmatus*, *P. lacteus*, *P. nudimanus*, *P. pannosus* e *P. reticulatus*) (Fig 2). Neste grupo, *P. holosericus*, *P. gemmatus* e *P. nudimanus*, e *P. lacteus* e *P. pannosus*, a primeira vista, são muito semelhantes, além disso, verificamos dois morfotipos para a espécie *P. reticulatus*. As espécies que constituem o outro grupo compartilham presença de cerdas rígidas, espaçadas e/ou pubescência na região anterior escondendo ou não a superfície dorsal, presença ou ausência total de espinhos nas pernas ambulatórias (*P. caribaeus*, *P. dasypodus*, *P. diomedae*, *P. floridanus*, *P. gracilipes*, *P. longleyi*, *P. marshi*, *P. miersii*, *P. quooii*, *P. sayi*, *P. spinosissimus* e *P. vinaceus*) (Fig. 3). Entre as espécies deste grupo, *P. caribaeus* e *P. longleyi*, *P. dasypodus* e *P. vinaceus* e *P. diomedae* e *P. gracilipes* também a primeira vista são muito semelhantes entre si. Ademais, neste último grupo algumas espécies apresentam algumas características diferentes da maioria dos espécimes de *Pilumnus* analisados. *Pilumnus marshi* apresenta a carapaça mais subquadrada com apenas três espinho na margem anterolateral, a menor razão entre LC e LFO  $\cong 1$  e a maior razão entre LC e CMA  $\cong 5$ , possuindo uma largura fronte orbital maior e a margem anterolateral mais estreita do



## REFERÊNCIAS

- Abele, L.G. 1971. Scanning electron photomicrographs of brachyuran gonopods 1. *Crustaceana*, 21(2): 218-219.
- Abele, L.G. & W. Kim. 1986. **An illustrated guide to the marine decapod crustaceans of Florida**. Vol. 8. State of Florida, Department of Environmental Regulation. 760pp.
- Aguirre-Aguirre, A.; Manrique-Rodríguez, N. & N. Cruz-Castaño. 2006. First record of *Pilumnus pannosus* Rathbun (Decapoda: Brachyura: Pilumnidae) from the Colombian Caribbean. **Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras-INVEMAR**, 35(1): 255-258.
- Ahyong, S.T.; Lai, J.C.Y.; Sharkey, D.; Colgan, D.J. & P.K.L. Ng. 2007. Phylogenetics of the brachyuran crabs (Crustacea: Decapoda): the status of Podotremata based on small subunit nuclear ribosomal RNA. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 45: 576-586.
- Almeida, A.O.D. & P.A. Coelho. 2008. Estuarine and marine brachyuran crabs (Crustacea: Decapoda) from Bahia, Brazil: checklist and zoogeographical considerations. **Latin American Journal of Aquatic Research**, 36(2): 183-222.
- Alves, D.F.R.; Barros-Alves, S.P.; Cobo, V.J.; Lima, D.J.M. & A. Fransozo. 2012. Checklist of the brachyuran crabs (Crustacea: Decapoda) in the rocky subtidal of Vitória Archipelago, southeast coast of Brazil. **Check List**, 8(5): 940-950.
- Baldinger, A.J. 1999. The crustacean collection at the Museum of Comparative Zoology, Harvard University. **Crustaceans and the Biodiversity Crisis: Proceedings of the 4th International Crustacean Congress**, 45-59.
- Balss, H. 1957. Decapoda. VIII. Systematik, pp. 1505-1672. *In*: Bronns, H.G. (Ed.), **Klassen und Ordnungen des Tierreichs**. Funfter Band, 1. Abteilung 7, Buch 12. Winter, Leipzig and Heidelberg.
- Barreto, A.; Coelho, P.A.; Ramos-Porto, M. & M.F.A. Torres. 1991. Distribuição batimétrica dos Brachyura (Crustacea, Decapoda) na plataforma continental do Norte e Nordeste do Brasil. **Tropical Oceanography**, 22(1): 291-297.
- Barros, M.P. & F.R. Pimentel. 2001. A Fauna de Decapoda (Crustacea) do Estado do Pará, Brasil: lista preliminar de espécies. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais**, 17(1): 15-41.
- Bertini, G.; Teixeira, G.M.; Fransozo, V. & A. Fransozo. 2010. Reproductive period and size at the onset of sexual maturity of mottled purse crab, *Persephona*

- mediterranea* (Herbst, 1794) (Brachyura, Leucosioidea) on the southeastern Brazilian coast. **Invertebrate Reproduction and Development**, 54(1): 7-17.
- Bezerra, L.E. & P.A. Coelho. 2006. Crustáceos decápodos associados a esponjas no litoral do Estado do Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, 23(3): 699-702.
- Boos, H.; Buckup, G.B.; Buckup, L.; Araujo, P.B.; Magalhães, C.; Almerão, M.P.; Santos, R.A. & F.L. Mantelatto. 2012. Checklist of the Crustacea from the state of Santa Catarina, Brazil. **Check List**, 8(6): 1020-1046.
- Bracken-Grissom, H.D.; Ahyong, S.T.; Wilkinson, R.D.; Feldmann, R.M.; Schweitzer, C.E.; Breinholt, J.W.; Bendall, M.; Palero, F.; Chan, T.Y.; Felder, D.L.; Robles, R.; Chu, K.H.; Tsang, L.M.; Kim, D.; Mantin, J.W. & K.A. Crandall. 2014. The Emergence of Lobsters: Phylogenetic Relationships, Morphological Evolution and Divergence Time Comparisons of an Ancient Group (Decapoda: Achelata, Astacidea, Glypheidea, Polychelida). **Systematics Biology**, 63(4): 457-479.
- Briones-Fourzán, P. & E. Lozano-Álvarez. 2002. Shallow-water benthic decapod crustaceans of Chankanaab Park, Cozumel Island, Mexico, pp. 197-204. *In* **Modern Approaches to the Study of Crustacea**. Springer, US.
- Buhay, J.E. & K.A. Crandall. 2008. Taxonomic revision of cave crayfish in the genus *Orconectes*, subgenus *Orconectes* (Decapoda: Cambaridae) along the Cumberland Plateau, including a description of a new species *Orconectes barri*. **Journal of Crustacean Biology**, 28(1): 57-67.
- Coelho, P.A. & M. Ramos-Porto. 1980. Crustáceos decápodos da costa do Maranhão, Brasil. **Boletim do Instituto Oceanográfico**, 29(2): 135-138.
- Coelho, P.A.; Almeida, A.O. & L.E.A., Bezerra. 2008. Checklist of the marine and estuarine Brachyura (Crustacea: Decapoda) of northern and northeastern Brazil. **Zootaxa**, 1956: 1-58.
- Collins, R.A.; Boykin, L.M.; Cruickshank, R.H. & K.F. Armstrong. 2012. Barcoding's next top model: an evaluation of nucleotide substitution models for specimen identification. **Methods in Ecology and Evolution**, 3: 457-465.
- Corredor, L.; Criales, M.M.; Palacio, J.; Sánchez, H. & B. Werding. 1979. Decápodos colectados en las Islas del Rosario, pp. 31-34. *In*: **Anales del Instituto de Investigaciones Marinas de Punta Betín**, (Vol. 11).
- Costa, F.O.; deWaard, J.R.; Boutillier, J.; Ratnasingham, S.; Dooh, R.T.; Hajibabaei, M. & P.D. Hebert. 2007. Biological identifications through DNA barcodes: the case of

- the Crustacea. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 64(2): 272-295.
- Coues, E. 1871. Notes on the Natural History of Fort Macon, NC, and Vicinity. (No. 2). **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, 120-148.
- Crandall, A.C. & J.F. Fitzpatrick. 1996. Crayfish molecular systematics: using a combination of procedures to estimate phylogeny. **Systematic Biology**, 45: 1-26.
- Desbonne, I. 1867. *Pilumnus caribaeus*, pp. 32-33 *In*: Desbonne, I. & A. Schramm (eds) **Crustadés de la Guadeloupe d'après un manuscrit du Docteur Isis Desbonne comparé avec les échantillons de Crustacés de sa collection et les dernières publications de M. M. Henri de Saussure et William Stimpson. Ière partie, Brachyures**. Basse-Terre, Imprimerie du gouvernement.
- Felder, D.L. 1973. **An annotated key to crabs and lobsters (Decapoda, Reptantia) from coastal waters of the northwestern Gulf of Mexico**. Louisiana State University. Center for Wetland Resources. Baton Rouge: Louisiana State University. 103pp.
- Felder, D.L.; Álvarez, F.; Goy J.W. & R. Lemaitre. 2009. Decapoda (Crustacea) of the Gulf of Mexico, with comments on the Amphionidacea, pp. 1019-1104. *In*: Felder, D.L. & D.K. Camp (Eds.). **Gulf of Mexico Origin, Waters, and Biota**. Vol. 1, Biodiversity. Corpus Christi: Texas A and M University Press.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. **Evolution**, 39: 783-791.
- Feng, Y.; Li, Q.; Kong, L. & X. Zheng. 2011. DNA barcoding and phylogenetic analysis of *Pectinidae* (Mollusca: Bivalvia) based on mitochondrial COI and 16S rRNA genes. **Molecular Biology Reports**, 38(1): 291-299.
- García, Y.L.D. & A.J. Capote. 2015. List of marine crabs (Decapoda: Anomura and Brachyura) of shallow littoral of Santiago de Cuba, Cuba. **Check List**, 11(2): 1-22.
- Garth, J.S. 1978. Marine biological investigations in the Bahamas. 19. Decapoda Brachyura. **Sarsia**, 63(4): 317-333.
- Glaessner, M.F. 1969. Decapoda. Treatise on Invertebrate Palaeontology, pp. 399-533, 626-628. *In*: Moore, R.C. (ed.). **Arthropoda 4**. Part R. Vol. 2. Lawrence, Kansas: The University of Kansas Press and The Geological Society of America.

- Guinot, D. 1979. Données nouvelles sur la morphologie, la phylogénèse et la taxonomie des Crustacés Décapodes Brachyours. **Mémoires du Muséum national d'Histoire naturelle. Nouvelle Série. Série A, Zoologie**, 112: 3-354.
- Guinot, D.; Tavares, M. & P. Castro. 2013. Significance of the sexual openings and supplementary structures on the phylogeny of brachyuran crabs (Crustacea, Decapoda, Brachyura), with new nomina for higher-ranked podotreme taxa. **Zootaxa**, 3665(1): 1-414.
- Hall, T. 2005. **BioEdit v.7.0.5. Biological sequence alignment editor for windows.** Ibis Therapeutics a division of Isis pharmaceuticals <http://www.mbio.nesu.edu/bioefit.html>.
- Hall, B.G. 2011. Phylogenetic trees made easy: A how-to manual. 4rd edition. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachussets, USA, 233pp.
- Hebert, P.D.N.; Stoeckle, M.Y.; Zemplak, T.S. & C.M. Francis. 2004. Identification of birds through DNA barcodes. **PLoS Biology**, 2: e312.
- Heck, K.L. 1977. Comparative species richness, composition, and abundance of invertebrates in Caribbean seagrass (*Thalassia testudinum*) meadows (Panama). **Marine Biology**, 41(4): 335-348.
- Hendrickx, M.E. 1998. **Los cangrejos braquiuros (Crustacea: Brachyura: Majoidea y Parthenopoidea) del Pacífico mexicano.** México. 274pp.
- Hernández-Ávila, I.; Tagliafico, A.; Rago, N. & J. Marcano. 2012. Composition of decapod crustacean assemblages in beds of *Pinctada imbricata* and *Arca zebra* (Mollusca: Bivalvia) in Cubagua Island, Venezuela: Effect of bed density. **Scientia Marina**, 76(4): 705-712.
- Holthuis, LB. 1959. The Crustacea Decapoda of Suriname (Dutch Guiana). **Zoologischer Verhandelingen**, 44(1): 1-296.
- Keith, D.E. 1985. Shallow-water and terrestrial brachyuran crabs of Roatan and the Swan Islands, Honduras. **Sarsia**, 70(4): 251-278.
- Kerr, K.C.R.; Birks, S.M.; Kalyakin, M.V.; Red'kin, Y.A.; Koblik, E.A. & P.D. Hebert. 2009. Filling the gap - COI barcode resolution in eastern Palearctic birds. **Frontiers in Zoology**, 6(1): 29-42.
- Kingsley, J.S. 1878-1879. List of Decapod Crustacea of the Atlantic Coast, whose range embraces Fort Macon. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, 30: 316-330.

- Komai, T. & H. Motoh. 2012. The identity of *Pilumnus dofleini* Balss, 1933 (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Pilumnidae), with descriptions of three new species from the Western Pacific. **Zootaxa**, 3305(1): 1-27.
- Kossmann, R. 1877. III. Malacostraca (1. Theil: Brachyura), pp. 1-66. *In*: Kossmann, R. (ed.) Zoologische Ergebnisse einer im Auftrage der Königlichen Academie der Wissenschaften zu Berlin ausgeführten Reise in die Küstengebiete des Roten Meeres. Vol. 1. Leipzig: Wilhelm Engelmann.
- Kuhlmann, M.L.; Walker, I.I. & E. Roger. 1999. Geographic variation in size structure and size at maturity in the crab *Pilumnus sayi* (Crustacea: Decapoda: Xanthidae) in the northern Gulf of Mexico. **Bulletin of Marine Science**, 64(3), 535-541.
- Lai, J.C.Y.; Mendoza, J.C.E.; Guinot, D.; Clark, P.F. & P.K.L. Ng. 2011. Xanthidae Macleay, 1838 (Decapoda: Brachyura: Xanthoidea) systematics: a multigene approach with support from adult and zoeal morphology, **Zoologischer Anzeiger**, 250: 407-448.
- Leach, W.E. 1815. **The zoological miscellany; being descriptions of new, or interesting animals**. Vol. 2. Covent Garden and London: E. Nodder and Son. 154pp.
- Lefébure, T.; Douady, C.J.; Gouy, M. & J. Gibert. 2006. Relationship between morphological taxonomy and molecular divergence within Crustacea: Proposal of a molecular threshold to help species delimitation. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 40(2): 435-447.
- Leija-Tristán A., Contreras-Arquieta, A.; García-Garza, M.E.; Contreras-Balderas, A.J.; Lozano-Vilano, M.L.; Contreras-Balderas, S.; García-Ramírez, M.E.; Ortiz-Rosales, J.; Segovia-Salinas, F.; Jiménez-Guzmán, F.; Lazcano-Villarreal, D.; De León-González, J.A.; Martínez-Lozano, S.; Rodríguez-Almaraz, G.A.; Guzmán, M.A.; González De La Rosa, M.C.; García-Salas, J.A.; Guajardo-Martínez, G.; González-Rojas, J.I. & A Guzmán-Velazco. 2000. Taxonomic, bioecological and biogeographic aspects of selected biota of the Laguna Madre, Tamaulipas, Mexico, pp. 399-435. *In*: Munawar, M., Lawrence, S.G.; Munawar I.F. & D.F. Malley (eds). **Aquatic ecosystems of Mexico**. Ecovision World Monograph Series, Blackhuys Publishers, Leiden.
- Lemaitre, R. 1981. Shallow-water crabs (Decapoda, Brachyura) collected in the southern Caribbean near Cartagena, Colombia. **Bulletin of Marine Science**, 31(2): 234-266.
- Linnaeus, C. 1761. **Fauna Suecica sistens Animalia Sueciae Regni: Mammalia, Aves, Amphibia, Pisces, Insecta, Vermes. Distributa per Classes, Ordines**,

**Genera, Species, cum Differentiis Specierum, Synonymis Auctorum, Nominibus Incolarum, Locis Natalium, Descriptionibus Insectorum. Stockholmia. 578pp.**

- Magalhães, C.; Lara, L.R. & I.S. Wehrtmann. 2010. A new species of freshwater crab of the genus *Allacanthos* Smalley, 1964 (Crustacea, Decapoda, Pseudothelphusidae) from southern Costa Rica, Central America. **Zootaxa**, 2604(1): 52-60.
- Magalhães, T.; Robles, R.; Felder, D.L. & F.L. Mantelatto. 2016. Integrative taxonomic study of the purse crab genus *Persephona* Leach, 1817 (Brachyura: Leucosiidae): combining morphology and molecular data. **PLoS One**, 11(4): e0152627.
- Manning, R.B. & L.B. Holthuis. 1981. West African brachyuran crabs (Crustacea, Decapoda). **Smithsonian Contributions to Zoology**. 379pp.
- Manning, R.B. & K.J. Reed. 2006. Decapod crustaceans deposited in the Zoological Museum of Copenhagen by William Stimpson in 1859. **Raffles Bulletin of Zoology**, 54(2): 283-293.
- Mantelatto, F.L. & A. Fransozo. 2000. Brachyuran community in Ubatuba Bay, Northern Coast of São Paulo State, Brazil. **Journal of Shellfish Research**, 19(2): 701-709.
- Mantelatto, F.L.; Robles, R.; Biagi, R. & D.L. Felder. 2006. Molecular analysis of the taxonomic and distributional status based for the hermit crab genera *Loxopagurus* Forest, 1964, and *Isocheles* Stimpson, 1858 (Decapoda, Anomura, Diogenidae). **Zoosystema**, 28(2): 495-506.
- Mantelatto, F.L.; Pardo, L.M.; Pileggi, L.G. & D.L. Felder. 2009. Taxonomic re-examination of the hermit crab species *Pagurus forceps* and *Pagurus comptus* (Decapoda: Paguridae) by molecular analysis. **Zootaxa**, 2133: 20-32.
- Mantelatto, F.L.; Bernardo, C.H.; Silva, T.E.; Bernardes, V.P.; Cobo, V.J. & A. Fransozo. 2016. Composição e distribuição de crustáceos decápodes associados à pesca do camarão-sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) no litoral norte do estado de São Paulo. **Boletim do Instituto de Pesca**, 42(2): 309-326.
- Marochi, M.Z. & S. Masunari. 2011. The Eriphiidae, Menippidae, Panopeidae and Pilumnidae crabs (Crustacea: Brachyura) from shallow waters of the Paraná State coast, Brazil, with pictorial identification key for species. **Biota Neotropica**, 11(3): 21-33.
- Melo, G.A.S., 1996. **Manual de Identificação dos Brachyura (Caranguejos e Siris) do litoral brasileiro**. Editora Plêiade, São Paulo, Brasil. 603pp.

- Melo, G.A.S. 2008. The Brachyura (Decapoda) of Ilha Grande Bay, Rio de Janeiro, Brazil. **Nauplius**, 16(1): 1-22.
- Miers, E.J. 1886. Report on the Brachyura collected by H.M.S. Challenger during the years 1873-1876. *In*: Murray, J. (ed.) Zoology. **Report on the Scientific Results of the Voyage of H.M.S. Challenger During the Years 1873-76 Under the Command of Captain George S. Nares, R.N., F.R.S. and the Late Captain Frank Tourle Thomson, R.N. Wyville Thomson, C. and J. Murray (series eds.)**. Vol. 17. Edinburgh: Neill and Company. 362pp.
- Miller, M.A.; Pfeiffer, W. & T. Schwartz. 2010. **Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees**. Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), 14 Nov. 2010, New Orleans, 1-8.
- Milne-Edwards, H. 1834-1840. **Histoire naturelle des Crustacés, comprenant l'anatomie, la physiologie et la classification de ces animaux**. Librairie Encyclopédique de Roret. Vol. 1-3. Paris: Roret. (1)468pp, (2)532pp, (3)638pp.
- Milne-Edwards, A. 1880. Reports on the results of dredging, under the supervision of Alexander Agassiz, in the Gulf of Mexico, and in the Caribbean Sea, 1877, '78, '79, by the United States Coast Survey Steamer "Blake," Lieut.-Commander C.D. Sigsbee, U.S.N., and Commander J.R. Bartlett, U.S.N., commanding. VIII. Études préliminaires sur les crustacés. **Bulletin of the Museum of Comparative Zoölogy at Harvard College**, 8(1): 1-68.
- Milne-Edwards, A. & E.L. Bouvier. 1923. XLVII: Les Porcellanides et des Brachyures. Reports on the results of dredging. Under the supervision of Alexander Agassiz, in the Gulf of Mexico (1877-78), in the Caribbean Sea (1878-79), and along the Atlantic coast of the United States (1880), by the US Coast Survey steamer "Blake." Lieut.-Com. CD Sigsbee, USN, and Commander JR Bartlett, USN, commanding. **Memoirs of the Museum of Comparative Zoölogy at Harvard College**, 47(4): 289-395.
- Morgado, E.H. & M.O. Tanaka. 2001. The macrofauna associated with the bryozoan *Schizoporella unicornis* in southeastern Brazil. **Scientia Marina**, 65(3): 173-181.
- Moritz, C.; Dowling, T.E. & W.M Brown. 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 18: 269-92.
- Mouton, E.D. & D.L. Felder. 1995. Reproduction of the Fiddler Crabs *Uca longisignalis* and *Uca spinicarpa* in a Gulf of Mexico Salt Marsh. **Estuaries**, 18(3): 469-481.

- Munasinghe, D.H.N.; Murphy, N.P. & C.M. Austin. 2003. Utility of mitochondrial DNA sequences from four gene regions for systematic studies of Australian freshwater crayfish of the genus *Cherax* (Decapoda: Parastacidae). **Journal of Crustacean Biology**, 23(2): 402-417.
- Negri, M.; Pileggi, L.A.G. & F.L. Mantelatto. 2012. Molecular barcode and morphological analyses reveal the taxonomic and biogeographical status of the striped-legged hermit crab species *Clibanarius sclopetarius* (Herbst, 1796) and *Clibanarius vittatus* (Bosc, 1802) (Decapoda:Diogenidae). **Invertebrate Systematics**, 26(6): 561-571.
- Negri, M.; Lemaitre, R. & F.L. Mantelatto. 2014. Molecular and morphological resurrection of *Clibanarius Symmetricus* (Randall, 1840), a cryptic species hiding under the name for the "Thinstripe" hermit crab *C. vittatus* (Bosc, 1802) (Decapoda: Anomura: Diogenidae). **Journal of Crustacean Biology**, 34(6): 848-861.
- Nei, M. & S. Kumar. 2000. **Molecular Evolution and Phylogenetics**. New York: Oxford University Press. 333pp.
- Neigel, J.E. 2009. Populations genetics and Biogeographic of the Gulf of Mexico, pp. 1353–1369. *In. Gulf of Mexico. Origin, waters and biota*. Felder, D.L. & D.K. Camp. (eds). Texas A&M Press.
- Ng, P.K.L. 2000. The Indo-Pacific Pilumnidae XIII. On a New Species, *Pilumnus acanthosoma* (Crustacea: Decapoda: Brachyura), from Taiwan and the South China Sea, with Notes on *P. dofleini* Balss, 1933. **Zoological Studies**, 39(4): 301-306.
- Ng, P.; Guinot, D. & P. Davie. 2008. Systema Brachyrororum: Part I. An annotated checklist of extant brachyuran crabs of the world. **The Raffles Bulletin of Zoology, Supplement**, 17(1): 1-286.
- Nobili, G. 1901. Decapodi raccolti dal Dr. Filippo Silvestri nell'America meridionale. **Bollettino dei Musei di Zoologia ed Anatomia comparata della R. Università di Torino**, 16(402): 1-16.
- Ocampo, E.H.; Robles, R.; Terossi, M.; Nuñez, J.D.; Cledón, M & F.L. Mantelatto. 2013. Phylogeny, phylogeography, and systematics of the American pea crab genus *Calyptraeotheres* Campos, 1990, inferred from molecular markers. **Zoological Journal of the Linnean Society**, 169(1): 27-42.
- Oliveira, L.P. 1945. Classificação hidrobiológica das águas do Oceano Atlântico no litoral do Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 42(1): 191-206.

- Oliveira, L. & L.M. Oshiro. 2006. Remarks about the *Pilumnus floridanus* Stimpson (Decapoda, Brachyura, Pilumnidae) occurrence in Rio de Janeiro coast, Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, 23(4): 1256-1257.
- Oliveira-Biener, U., Melzer, R.R. & M.A. Miller. 2010. *Pilumnus* Leach (Decapoda: Pilumnidae Samouelle) from Mediterranean and adjacent Atlantic waters: a COI analysis. **Invertebrate Systematics**, 24(2):182-193.
- Perez-Gelabert, D.E. 2008. Arthropods of Hispaniola (Dominican Republic and Haiti): A checklist and bibliography. **Zootaxa**, 1831: 1-530.
- Pileggi, L.G. & F.L. Mantelatto. 2010. Molecular phylogeny of the freshwater prawn genus *Macrobrachium* (Decapoda, Palaemonidae), with emphasis on the relationships among selected American species. **Invertebrate Systematics**, 24(2): 194-208.
- Posada, D. 2008. jModelTest: Phylogenetic model averaging. **Molecular Biology and Evolution**, 25(7): 1253-1256.
- Poupin, J.; Ferry, R. & Y. Buske. 2015. Martinique 22-29 novembre. **Rapport de mission BIOSPHERES/IRENAV Martinique 22-29 novembre**. 6pp.
- Powers, L.W. 1977. A catalogue and bibliography to the crabs (Brachyura) of the Gulf of Mexico. **Contributions in Marine Science**, 20: 1-190.
- Quirós, J.; Dueñas, P. & N.H. Campos. 2012. Crustáceos decápodos asociados a ensamblajes macroalgales en el litoral rocoso de Córdoba, Caribe colombiano. **Revista MVZ Córdoba**, 17(1): 2834-2845.
- Rathbun, M.J. 1894. Descriptions of a new genus and four new species of crabs from the Antillean Region. **Proceedings of the United States National Museum**, 17(986): 83-86.
- Rathbun, M.J. 1896. Description of a new genus and four new species of crabs from the West Indies. **Proceedings of the United States National Museum**, 19(1104): 141-144.
- Rathbun, M.J. 1897. List of the decapod Crustacea of Jamaica. **Annals of the Institute of Jamaica**, 1(1): 1-46.
- Rathbun, M.J. 1898. The Brachyura collected by the U.S. Fish Commission steamer Albatross on the voyage from Norfolk, Virginia, to San Francisco, California, 1887-1888. **Proceedings of the United States National Museum**, 21(1162): 567-616.

- Rathbun, M.J. 1900. The Decapod crustaceans of West Africa. **Proceedings of the United States National Museum**, 22(1199): 271-316.
- Rathbun, M.J. 1901. The Brachyura and Macrura of Porto Rico. **Bulletin of the United States Fish Commission**, 20(2): 1-127.
- Rathbun, M.J. 1924. Brachyuran crabs collected at Curaçao. Bijdragen tot de Kennis der Fauna van Curaçao. **Resultaten eener Reis van Dr. C.J. van der Horst in 1920**, 23: 13-21.
- Rathbun, M.J. 1930. The Cancroid crabs of America of the families Euryalidae, Portunidae, Atelecyclidae, Cancridae, and Xanthidae. **Bulletin of the United States National Museum**, 152: 1-609.
- Robles, R.; Schubart, C.D.; Conde, J.; Carmona-Suárez, C.; Álvarez, F.; Villalobos, J. & D.L. Felder. 2007. Molecular phylogeny of the American *Callinectes* Stimpson, 1860 (Brachyura: Portunidae) based on two partial mitochondrial genes. **Marine Biology**, 150(6): 1265-1274.
- Rodriguez, G. 1993. From Oviedo to Rathbun: The development of brachyuran crab taxonomy in the Neotropics (1535-1937). History of carcinology. **Crustacean issues**, (8): 41-73.
- Russo, C.A.M.; Miyaki, C.Y. & S.L. Pereira. 2001. Reconstrução Filogenética: Métodos Geométricos, pp 108-116. In: Matioli, S.R. (Ed). **Biologia Molecular e Evolução**. Holos Editora.
- Samouelle, G. 1819. **The entomologist's useful compendium; or an introduction to the knowledge of British insects, comprising the best means of obtaining and preserving them, and a description of the apparatus generally used; together with the genera of Linné, and the modern method of arranging the classes Crustacea, Myriapoda, Spiders, Mites and Insects, from their affinities and structure, according to the views of Dr. Leach. Also an explanation of the terms used in entomology; a calendar of the times of appearance and usual situations of near 3,000 species of British insects; with instructions for collecting and fitting up objects for the microscope**. London. 496pp.
- Sánchez, A.J. & A. Raz-Guzman. 1997. Distribution patterns of tropical estuarine brachyuran crabs in the Gulf of Mexico. **Journal of Crustacean Biology**, 17(4): 609-620.
- Sant'Anna, B.S.; Zangrande, C.M.; Reigada, A.L.D. & E. Severino-Rodrigues. 2006. Spatial distribution and shell utilization in three sympatric hermit crabs at non-

- consolidated sublittoral of estuarine-bay complex in São Vicente, São Paulo, Brazil. **Revista de Biología Marina y Oceanografía**, 41(2): 141-146.
- Say, T. 1818. An account of the Crustacea of the United States. **Journal of Academy of Natural Science Philadelphia**, 1: 445-458.
- Schubart, C.D. & M.G.J. Huber. 2006. Genetic comparisons of German populations of the stone crayfish, *Austropotamobius torrentium* (Crustacea: Astacidae). **Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture**, (380-381): 1019-1028.
- Schubart, C.D. & B.E. Aichinger. 2014. Determination of evolutionary units in European representatives of the crab genus *Pilumnus*. *Central European Journal of Biology*, 9(1): 104-113.
- Schubart, C.D.; Neigel, J.E. & D.L. Felder. 2000a. Molecular Phylogeny of mud crabs (Brachyura: Panopeidae) from the northwestern Atlantic and the role of morphological stasis and convergence. **Marine Biology**, 137(1): 11-18.
- Schubart, C.D.; Neigel, J.E. & D.L. Felder. 2000b. Use of the mitochondrial 16S rRNA gene for phylogenetic and population studies of Crustacea. **Crustacean Issues**, 12: 817-830.
- Schubart, C.D.; Cuesta, J.A. & D.L. Felder. 2002. Glyptograpsidae, a new brachyuran family from Central America: larval and adult morphology, and a molecular phylogeny of the Grapsoidea. **Journal Crustacean Biology**, 22: 28-44.
- Silva, J.M.; Santos, A.; Cunha, M.R.; Costa, F.O.; Creer, S. & G.R. Carvalho. 2012. Investigating the molecular systematic relationships amongst selected *Plesionika* (Decapoda: Pandalidae) from the Northeast Atlantic and Mediterranean Sea. **Marine Ecology**, 34(2): 157-170.
- Spivak, E.D. & A. Rodríguez. 2002. *Pilumnus reticulatus* Stimpson, 1860 (Decapoda: Brachyura: Pilumnidae): a reappraisal of larval characters from laboratory reared material. **Scientia Marina**, 66(1), 5-19.
- Stamatakis, A. 2014. RAxML Version 8: A tool for phylogenetic analysis and postanalysis of large phylogenies. **Bioinformatics**, 30(9): 1312-1313.
- Staton, J.L. & D.L. Felder. 1995. Genetic variation in populations of the ghost shrimp genus *Callichirus* (Crustacea: Decapoda: Thalassinoidea) in the western Atlantic and Gulf of Mexico. **Bulletin of Marina Science**, 56(2): 523-536.
- Štević, Z. 2005. The reclassification of brachyuran crabs (Crustacea: Decapoda: Brachyura). **Natura Croatica**, 14(1): 1-159.

- Stimpson, W. 1860. Notes on North American Crustacea, in the Museum of the Smithsonian Institution, No. II. **Annals of the Lyceum of Natural History of New York**, 7(1): 177-246.
- Stimpson, W. 1871. Notes on North American Crustacea in the Museum of the Smithsonian Institution. No. III. **Annals of the Lyceum of Natural History of New York**, 10(6): 92-136.
- Tabb, D.C. & R.B. Manning. 1961. A checklist of the flora and fauna of northern Florida Bay and adjacent brackish waters of the Florida mainland collected during the period July, 1957 through September, 1960. **Bulletin of Marine Science**, 11(1): 552-649.
- Takeda, M. & S. Miyake. 1968. Pilumnid crabs of the family Xanthidae from the West Pacific. I. Twenty three species of the genus *Pilumnus* with description of four new species. **OHMU, Occasional Papers of Zoological Laboratory, Faculty of Agriculture, Kyushu University**, 1(1): 1-60.
- Takeda, M. & T. Okutani. 1983. **Crustaceans and Mollusks Trawled Off Suriname and French Guiana**. Tokyo: Japan Marine Fishery Resource Research Center. 185pp.
- Tamura, K.; Peterson, D.; Peterson, N.; Stecher, G.; Nei, M. & S. Kumar. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. **Molecular Biology and Evolution**, 28(10): 2731-2739.
- Terossi, M. & F.L. Mantelatto. 2012. Morphological and genetic variability in *Hippolyte obliquimanus* Dana, 1842 (Decapoda, Caridea, Hippolytidae) from Brazil and Caribbean Sea. **Crustaceana**, 85(6): 685-712.
- Terossi, M.; De Grave, S. & F.L. Mantelatto. 2017. Global biogeography, cryptic species and systematic issues in the shrimp genus *Hippolyte* Leach, 1814 (Decapoda: Caridea: Hippolytidae) by multimarker analyses. **Scientific Reports**, 2045-2322.
- Thoma, B.P.; Guinot, D. & D.L. Felder. 2013. Evolutionary relationships among American mud crabs (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Xanthoidea) inferred from nuclear and mitochondrial markers, with comments on adult morphology. **Zoological Journal of the Linnean Society**, 170(1): 86-109.

- Thompson, J.D.; Higgins, D.G. & T.J. Gibson. 1994. Clustal W, improving position the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific, gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acid Research**, 22(22): 4673-4680.
- Tsang, L.M.; Schubart, C.D.; Ahyong, S.T.; Lay, J.C.Y; Au, E.Y.C.; Chan, T.; Ng, P.K.L. & K.H. Chu. 2014. Evolutionary history of true crabs (Crustacea: Decapoda: Brachyura) and the origin of freshwater crabs. **Molecular Biology and Evolution**, 31(5):1173-1187.
- Weber, L.I.; Hartnoll, R.G. & J.P. Thorpe. 2000. Genetic divergence and larval dispersal in two spider crabs (Crustacea: Decapoda). **Hydrobiology**, 144(1): 211-219.
- Williams, A.B. 1965. Marine decapod crustaceans of the Carolinas. **Fishery Bulletin**, 65(1): 1-298.
- Williams, A.B. 1984. **Shrimps, Lobsters and Crabs of the Atlantic Coast of the Eastern United States**. Smithsonian Institution Press, Washington, United States. 550pp.
- Winfield, I.; Cházaro-Olvera, S.; Horta-Puga, G.; Lozano-Aburto, M.Á. & V. Arenas-Fuentes. 2010. Macrocrustáceos incrustantes en el Parque Nacional Sistema Arrecifal Veracruzano: biodiversidad, abundancia y distribución. **Revista mexicana de biodiversidad**, 81: 165-175.



# CHAVE DE IDENTIFICAÇÃO



**ANEXO**

**Tabela 3.** Espécimes de caranguejos usados nas análises moleculares com respectivo local de coleta, número de catálogo de coleção e número de acesso do banco de dados genético (Genbank) para os genes COI e 16S. (CCDB – Coleção de Crustáceos do Departamento de Biologia, FFCLRP, USP; CNCR – Colección Nacional de Crustáceos, Instituto de Biología, UNAM; MZUSP – Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo; UF– University of Florida; ULLZ – University of Louisiana at Lafayette’s Zoology Collection; USNM - United States National Museum - Smithsonian, Washington DC/USA); ZRC – Zoological Reference Collection, The Raffles Museum of Biodiversity, National University of Singapore. BRA – Brasil; COL – Colômbia; CRI – Costa Rica; EUA – Estados Unidos; HON – Honduras; MAR – Marrocos; MEX – México; PAN – Panamá; VNZ – Venezuela.

Espécie	Localidade	Nº de catálogo	Nº de acesso GenBank	
			COI	16S
<i>Pilumnus aestuarii</i> Nardo, 1869	Bulgária	-	HG328358	-
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	Belize	ULLZ 11140	-	MF504045
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	Guadalupe	MNHN-IU-2013-14497	MF504082	MF504043
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	Panamá	ULLZ 13393	MF504087	MF504044
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	Guiana Francesa	MNHN-IU-2014-9442	MF504088	-
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	Guiana Francesa	MNHN-IU-2014-18494	MF504084	-
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	Pernambuco, Brasil	UFPE 15331	MF504094	-
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	Pernambuco, Brasil	UFPE 15329	MF504085	-
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	São Paulo, Brasil	CCDB 4595	MF504081	MF504074
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	São Paulo, Brasil	CCDB 5180	MF504093	-
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	São Paulo, Brasil	CCDB 3717	MF504080	-
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	São Paulo, Brasil	CCDB 3615	MF504090	-
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	São Paulo, Brasil	CCDB 3717	MF504083	-
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	São Paulo, Brasil	CCDB 3615	MF504089	MF504041
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	São Paulo, Brasil	CCDB 3615	MF504079	-
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	Flórida, EUA	ULLZ 14342	MF504086	MF504042
<i>Pilumnus caribaeus</i> Desbonne em Desbonne & Schramm, 1867	Ilhas Virgens Britânicas	ULLZ 4346	MF504102	-
<i>Pilumnus dasypodus</i> Kingsley, 1879	Panamá	CCDB 3550	MF504097	MF504047
<i>Pilumnus dasypodus</i> Kingsley, 1879	Flórida, EUA	ULLZ 17141	MF504095	-
<i>Pilumnus dasypodus</i> Kingsley, 1879	Flórida, EUA	AMNH 17848	MF504101	-
<i>Pilumnus dasypodus</i> Kingsley, 1879	Ilhas Virgens Britânicas	ULLZ 16263	MF504098	MF504046
<i>Pilumnus dasypodus</i> Kingsley, 1879	Belize	USNM 1277893	MF504096	-
<i>Pilumnus dasypodus</i> Kingsley, 1879	Guadalupe	MNHN-IU-2014-7412	MF504100	MF504048
<i>Pilumnus dasypodus</i> Kingsley, 1879	Bahia, Brasil	MZUSP 29171	MF504099	-
<i>Pilumnus fernandezii</i> Garth, 1973	Panamá	ULLZ 12000	MF504103	MF504049
<i>Pilumnus floridanus</i> Stimpson, 1871	Belize	ULLZ 12563	MF504105	MF504051
<i>Pilumnus floridanus</i> Stimpson, 1871	Golfo do México	ULLZ 14354	MF504106	-

Espécie	Localidade	Nº de catálogo	Nº de acesso GenBank	
			COI	16S
<i>"Pilumnus floridanus"</i> Stimpson, 1871	Golfo do México	ULLZ 7343	-	EU863403
<i>Pilumnus floridanus</i> Stimpson, 1871	México	ULLZ 7317	-	HM637980
<i>Pilumnus floridanus</i> Stimpson, 1871	Guiana Francesa	MNHN-IU-2013-2502	MF504108	-
<i>Pilumnus floridanus</i> Stimpson, 1871	São Paulo, Brasil	CCDB 5919	MF504104	MF504050
<i>Pilumnus floridanus</i> Stimpson, 1871	Rio de Janeiro, Brasil	MNRJ 17257	MF504107	-
<i>Pilumnus gemmatus</i> Stimpson, 1860	Guadalupe	MNHN-IU-2013-14558	MF504110	MF504052
<i>Pilumnus gemmatus</i> Stimpson, 1860	Panamá	ULLZ 13462	MF504109	MF504053
<i>Pilumnus hirtellus</i> (Linnaeus, 1761)	Mar do Norte	MT03177	KT209207	-
<i>Pilumnus hirtellus</i> (Linnaeus, 1761)	França	USNM 1277896	MF504111	MF504054
<i>Pilumnus hirtellus</i> (Linnaeus, 1761)	França	-	-	AM946023
<i>Pilumnus hirtellus</i> (Linnaeus, 1761)	Portugal	-	HG328360	-
<i>Pilumnus holosericus</i> Rathbun, 1898	Belize	ULLZ 9921	MF504114	-
<i>Pilumnus holosericus</i> Rathbun, 1898	Panamá	CCDB 3552	MF504112	-
<i>Pilumnus holosericus</i> Rathbun, 1898	Panamá	ULLZ 13578	MF504113	MF504055
<i>Pilumnus lacteus</i> Stimpson, 1871	Belize	ULLZ 15465	MF504115	MF504056
<i>Pilumnus longicornis</i> Hilgendorf, 1878	Persia	USNM 1277904	MF504116	-
<i>Pilumnus longicornis</i> Hilgendorf, 1878	-	-	-	KJ132612
<i>Pilumnus longleyi</i> Rathbun, 1930	Belize	ULLZ 11154	MF504117	MF504057
<i>Pilumnus marshi</i> Rathbun, 1901	Belize	ULLZ 17643	MF504118	MF504059
<i>Pilumnus marshi</i> Rathbun, 1901	Guadalupe	MNHN-IU-2014-7461	MF504119	MF504058
<i>Pilumnus minutus</i> De Haan, 1835	Coréia	USNM 1277854	MF504120	MF504060
<i>Pilumnus nudimanus</i> Rathbun, 1901	Panamá	ULLZ 13466	MF504121	MF504061
<i>Pilumnus orbitospinis</i> Rathbun, 1911	Japão	USNM 120711	MF504122	-
<i>Pilumnus pannosus</i> Rathbun, 1896	Texas, EUA	ULLZ 11213	MF504123	-
<i>Pilumnus pannosus</i> Rathbun, 1896	Flórida, EUA	ULLZ 8637	MF504124	MF504062
<i>Pilumnus pannosus</i> Rathbun, 1896	Flórida, EUA	ULLZ 8373	MF504125	MF504063
<i>Pilumnus pannosus</i> Rathbun, 1896	Panamá	USNM 1277859	MF504126	-

Espécie	Localidade	Nº de catálogo	Nº de acesso GenBank	
			COI	16S
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	Belize	ULLZ 12562	MF504140	-
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	Panamá	ULLZ 13589	MF504141	MF504070
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	Pernambuco, Brasil	UFPE 13508	MF504127	-
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	Rio de Janeiro, Brasil	MNRJ 21462	MF504134	-
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	São Paulo, Brasil	CCDB 3617	MF504142	MF504065
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	São Paulo, Brasil	CCDB 3617	MF504129	MF504066
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	São Paulo, Brasil	CCDB 3617	MF504139	-
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	São Paulo, Brasil	CCDB 5391	MF504135	-
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	São Paulo, Brasil	CCDB 5391	MF504137	-
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	São Paulo, Brasil	CCDB 4323	MF504128	-
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	São Paulo, Brasil	CCDB 4323	MF504136	-
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	Santa Catarina, Brasil	MZUSP 23490	MF504133	-
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	Argentina	CCDB 5379	MF504130	MF504067
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	Argentina	CCDB 5379	MF504132	MF504068
<i>Pilumnus reticulatus</i> Stimpson, 1860	Argentina	CCDB 5379	MF504131	MF504069
<i>Pilumnus sayi</i> Rathbun, 1897	Flórida, EUA	ULLZ 14405	-	MF504072
<i>Pilumnus sayi</i> Rathbun, 1897	Flórida, EUA	ULLZ 6938	-	GU144435
<i>Pilumnus</i> sp1	Belize	ULLZ 10033	MF504143	-
<i>Pilumnus</i> sp 2	Guadalupe	MNHN-IU-2013-16321	MF504144	MF504071
<i>Pilumnus spinifer</i> H. Milne Edwards, 1834	Croácia	-	HG328359	-
<i>Pilumnus stebbingi</i> Capart, 1951	Ilha de Ano-Bom, Guiné Equatorial	USNM 1277872	MF504146	-
<i>Pilumnus thaitensis</i> de Man, 1890	Moorea, Polinésia Francesa	USNM 266710	MF504147	-
<i>Pilumnus vespertilio</i> (Fabricius, 1793)	-	-	-	KJ132627
<i>Pilumnus villosissimus</i> (Rafinesque, 1814)	Espanha		HG328357	-
<i>Pilumnus villosissimus</i> (Rafinesque, 1814)	Tunisia	USNM 1277963	MF504145	-
<i>Pilumnus vinaceus</i> A. Milne-Edwards, 1880	São Paulo, Brasil	CCDB 4598	-	MF504078
<i>Pilumnus vinaceus</i> A. Milne-Edwards, 1880	Rio de Janeiro, Brasil	MNRJ 17249	MF504092	-

Espécie	Localidade	Nº de catálogo	Nº de acesso GenBank	
			COI	16S
<i>Pilumnus vinaceus</i> A. Milne-Edwards, 1880	Texas, EUA	ULLZ 4432	MF504155	MF504076
<i>Pilumnus vinaceus</i> A. Milne-Edwards, 1880	Ceará, Brasil	CCDB 5383	MF504152	-
<i>Pilumnus vinaceus</i> A. Milne-Edwards, 1880	Ceará, Brasil	CCDB 5383	MF504154	-
<i>Pilumnus vinaceus</i> A. Milne-Edwards, 1880	Ceará, Brasil	CCDB 5383	MF504156	-
<i>Pilumnus vinaceus</i> A. Milne-Edwards, 1880	Espírito Santo, Brasil	MZUSP 32326	MF504153	-
<i>Pilumnus vinaceus</i> A. Milne-Edwards, 1880	Rio de Janeiro, Brasil	MNRJ 18367	MF504151	-
<i>Pilumnus vinaceus</i> A. Milne-Edwards, 1880	São Paulo, Brasil	CCDB 5382	MF504148	MF504075
<i>Pilumnus vinaceus</i> A. Milne-Edwards, 1880	São Paulo, Brasil	CCDB 4593	MF504150	-
<b>Grupo externo</b>				
<i>Chaceon ramosae</i> Manning, Tavares & Albuquerque, 1989	Brasil	-	KC676779	KC676756
<i>Dacryopilumnus rathbunae</i> Balss, 1932	Japão	ZRC 1999.1291	HM638027	HM637971
<i>Dairoides kusei</i> (Sakai, 1938)	Hawaii, EUA	ULLZ 9183	HM638030	HM637979
<i>Eriphia gonagra</i> (Fabricius, 1781)	Flórida, EUA	ULLZ 5463	HM638035	HM637964
<i>Eupilumnus africanus</i> (A. Milne-Edwards, 1867)	Cabo Verde	ULLZ 11966	KC771025	KC771007
<i>Menippe nodifrons</i> Stimpson, 1859	México	ULLZ 4351	HM638050	HM637975