



**THAIS GIOVANNINI PELLEGRINI**

**INSETOS AQUÁTICOS EM AMBIENTES  
SUBTERRÂNEOS:  
ESTRUTURA E DINÂMICA TEMPORAL  
DAS COMUNIDADES**

**LAVRAS - MG**

**2016**

**THAIS GIOVANNINI PELLEGRINI**

**INSETOS AQUÁTICOS EM AMBIENTES SUBTERRÂNEOS:  
ESTRUTURA E DINÂMICA TEMPORAL DAS COMUNIDADES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, área de concentração Ecologia e Conservação de Recursos em Paisagens Fragmentadas e Agrossistemas, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador

Dr. Rodrigo Lopes Ferreira

Co-Orientador

Dr. Lucas del Bianco Faria

**LAVRAS - MG**

**2016**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Pellegrini, Thais Giovannini.

Insetos aquáticos em ambientes subterrâneos : Estrutura e  
dinâmica temporal das comunidades / Thais Giovannini Pellegrini. –  
Lavras : UFLA, 2016.

135 p.

Tese(doutorado)–Universidade Federal de Lavras, 1016.

Orientador(a): Rodrigo Lopes Ferreira.

Bibliografia.

1. caverna. 2. partição da diversidade. 3. distúrbio. 4. variação  
temporal. 5. flutuações de vazão. I. Universidade Federal de Lavras.  
II. Título.

**THAIS GIOVANNINI PELLEGRINI**

**INSETOS AQUÁTICOS EM AMBIENTES SUBTERRÂNEOS:  
ESTRUTURA E DINÂMICA TEMPORAL DAS COMUNIDADES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, área de concentração Ecologia e Conservação de Recursos em Paisagens Fragmentadas e Agrossistemas, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 08 de Junho de 2016.

Dr. Marcos Callisto de Faria Pereira	UFMG
Dra. Cecília Gontijo Leal	MPEG
Dr. Nelson Henrique de Almeida Curi	UNILAVRAS
Dr. Luiz Fernando Silva Magnago	UFLA

Dr. Rodrigo Lopes Ferreira  
Orientador

Dr. Lucas del Bianco Faria  
Co-Orientador

**LAVRAS - MG**

**2016**

Aos meus pais, por todos os valores que sempre me ensinaram.  
Ao Paulo e Aninha, pela família que estamos construindo.

## **DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Ao meu padrinho e professor, Rodrigo (Drops), pela orientação, conselhos, amizade e momentos de descontração. Por ter me oferecido total liberdade e apoio na escolha do meu projeto de doutorado. Por ter me incentivando a entrar numa área de conhecimento totalmente nova para mim, superando medos e inseguranças, para seguir o caminho que escolhi. Ao meu co-orientador, Professor Lucas, que sempre esteve aberto à novas questões e discussões em sua sala. Me instigando à tentar compreender o mundo das interações ecológicas e redes tróficas. Ao Marconi (Titó), que sempre me auxiliou em questões relacionadas ao meu trabalho, com muita paciência e atenção.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada pela oportunidade concedida para realização do doutorado. À CAPES, por ter me concedido a bolsa de estudos de quatro anos de doutorado. Aos professores do programa, pelos ensinamentos transmitidos e disponibilidade em ajudar.

Aos colegas e amigos de laboratório (CEBS), que tiveram participação essencial, não somente para os trabalhos de campo, mas que tornam a convivência diária mais prazerosa. Em especial às amigas Maysa (Xucrete) e Érika (Teta), que empreenderam comigo numa aventura, na primeira campanha de campo. A primeira coleta é sempre mais arriscada, com várias incertezas, em uma época em que havia o perigo eminente de ocorrerem pulsos de inundação na caverna. Passaram comigo momentos de medo, frio e cansaço, sem desanimarem em me apoiar e ajudar. À Vanessa (Mommy), que caminhou desde o início ao meu lado, sendo nós duas à trabalhar com insetos aquáticos em cavernas no CEBS. Pessoa que pude sempre contar para tirar dúvidas de identificação e discutir abordagens ecológicas. Leopoldo (Poldo) e Rafa, pela amizade e auxílio nas coletas de campo. A uma equipe maior ainda, Luiz

(Tripé), Ludson (Chassi), Lucas (Proto), Pedro, Polyanne, Maricélio (Bagre), que toparam revezar nas coletas mensais, que não desanimaram nem mesmo nas coletas de Julho, adentrando nos riachos frios, com cerca de 14°C.

À todo o pessoal do laboratório, Júlio, Marina (Avatar), Ana Carolina (Muds), Fágner, que me auxiliaram em campo, mas principalmente à quem resolveu iniciar a pesquisa científica comigo. Matheus (Ditcho), Cayque, Gabrielle (Perna), Bárbara e Nina, que toparam não somente em conduzir seus próprios projetos, investigando questões ecológicas ligadas aos insetos aquáticos, mas também sempre me ajudaram nas triagens e identificações dos organismos relacionados à minha tese. Ao Rodrigo (Pirilo), que fez um trabalho de iniciação científica minucioso, sempre muito dedicado, honrando com todos os compromissos e objetivos que traçamos juntos. À todos esses alunos, agradeço muito, com eles pude aprender como orientar, que na minha opinião é fundamental para a formação de um doutor. Também aos colegas, professores e amigos da Ecologia, que embora nosso convívio seja pequeno, pela localização do CEBS, sempre me receberam de braços abertos. Ao Toru e Lisi, Toru que me acompanhou nesta jornada desde o mestrado. Com seu humor peculiar, que me diverte, e que remete ao carinho que tem pelos amigos.

À todo o pessoal do Laboratório de Zoobentos no NUPÉLIA da Universidade Estadual de Maringá. Em especial ao prof. Róger Mormul, à Gisele Pinha e ao Fabrício, por terem aberto as portas do laboratório para me receber e por terem dedicado tanto tempo me auxiliando na identificação dos insetos aquáticos e também dos Oligochaeta.

Ao Didi, que nos recebia de braços abertos na sua roça em Luminárias. Tivemos convívio mensal durante todo o período de coleta de campo da Tese. Didi, sempre tão curioso quanto ao que fazíamos nas cavernas, ajudando nas rotas e se preocupando quando demorávamos a voltar. Com longas conversas dos problemas relacionados à mineração da região e ações que poderiam

minimizar os impactos. Ao Mário e Gilson, pelo alojamento no Monumento Natural Peter Lund em Cordisburgo. Embora não tenhamos utilizados os dados dessa coleta, realizamos uma campanha na região, quando ainda pretendíamos incluir mais cavernas no estudo. Ficamos bem alojados e o pessoal nos ofereceu suporte e apoio logístico para a realização das coletas. Ao Dingo e ao Coelho, sempre parceiros do CEBS, que abriram as portas das próprias casas para nos abrigar nas coletas em Pains. Também não utilizamos os dados das cavernas da região, mas estavam disponíveis em nos ajudar, caso incluíssemos coletas mensais da área. E não somente ofereceram apoio logístico, mas também noites de descontração, sempre muito prazerosas.

À minha família, pais, irmão, cunhada e sobrinha, sempre compreensiva, ainda mais nos últimos meses, nos quais a vida social pereceu não fazer mais parte da minha vida. Ao pai e mãe, que, surpreendentemente, venceram barreiras, e também me auxiliaram em coletas de campo. Especialmente ao meu querido marido, Paulo, quem me apoiou em todas as etapas dessa tese de várias maneiras. Sempre paciente nos meus momentos de muito stress, em que a gente acha que tudo dará errado, e que será impossível concluir o trabalho. Paulo me acalmava, e mostrava caminhos possíveis, com serenidade e paciência, sempre de forma positiva. Além de aguentar minhas perguntas, muitas vezes descabidas e fora de hora, sobre trabalhos científicos, análises estatísticas, conceitos e por aí vai. À minha amada filha, Aninha, que não me deu trabalho algum, permitindo que eu concluísse a tese em plenas 30 semanas de gravidez.

Enfim, à todos que de alguma forma me ajudaram na conclusão de 4 anos de trabalho de dedicação. O meu muito obrigada!



Em 1857, Charles Darwin em carta ao jovem Wallace, sobre conjecturas de padrões de distribuição de espécies:

*“... extremamente feliz de saber que o senhor está abordando a distribuição em conformidade com idéias teóricas. Acredito convictamente que, sem especulação, não é possível observar bem e com originalidade. Poucos viajantes prestaram atenção aos quesitos nos quais o senhor está agora trabalhando; e, de fato, toda a questão da distribuição dos animais está terrivelmente atrasada em relação à das plantas.”*

## RESUMO

Cavernas são sistemas únicos, estando sob a constante ameaça de impactos antrópicos. No entanto, para que se tenha medidas adequadas de manejo e conservação da biota cavernícola, é fundamental a compreensão de alguns parâmetros da comunidade. Tais parâmetros incluem sua estruturação, padrões de diversidade, bem como sua dinâmica temporal. Entretanto, pouco se conhece sobre padrões e processos ecológicos de comunidades cavernícolas, principalmente no que se refere às aquáticas subterrâneas. Com isso, esta tese teve como objetivos principais, entender como ocorre a estruturação de comunidades de insetos aquáticos cavernícolas; determinar qual o padrão de dinâmica das comunidades; investigar efeitos de distúrbios experimentais sob seus padrões naturais e avaliar variações dos componentes da diversidade e sua relação com mudanças de vazão, bem como de grupos funcionais alimentares. Para tanto, foram investigados ao longo de um ano amostral, três riachos alogênicos subterrâneos, situados em Minas Gerais, Brasil. Resultados do primeiro manuscrito mostraram que cada riacho subterrâneo é estruturado de forma única. Além disso, cada riacho possui fauna singular, ditada principalmente pelo pool regional de espécies do riacho à montante. Foi verificada ainda a importância da disponibilidade de abrigos para os insetos aquáticos, e seu papel em ditar as maiores riquezas encontradas. Tais achados revelam que impactos que comumente ocorrem na região de entorno das cavernas, tais como o desmatamento e mineração, podem afetar severamente a comunidade associada aos riachos subterrâneos. A partir do segundo manuscrito foi possível compreender a importância dos pulsos de inundação, determinando os maiores valores de diversidade beta temporal de espécies. Além disso, foi possível inferir que mudanças temporais nos substratos presentes no leito do canal subterrâneo, são capazes de levar às maiores mudanças na composição de espécies. Adicionalmente, foi encontrado um padrão de grande instabilidade das comunidades, havendo constantes colonizações e extinções de espécies. Com isso, foi atribuído aos sistemas alogênicos subterrâneos a característica de hiperdinâmicos, fazendo com que mudanças nas comunidades causadas por distúrbios experimentais, sejam comparáveis à dinâmica natural dos sistemas. Por fim, no terceiro manuscrito foi possível verificar que a maior contribuição à diversidade gama de insetos aquáticos se dá principalmente pela diversidade beta, dada por diferenças entre cavernas. Além disso, variações temporais dos componentes da diversidade, são negativamente influenciadas pelo aumento da vazão. Com isso, as maiores vazões, são responsáveis por homogeneizar as comunidades de insetos aquáticos subterrâneos. Um padrão semelhante foi encontrado ao se considerar cada grupo funcional alimentar. No entanto, os predadores não apresentaram relações com o regime de vazões. Tais organismos possuem comportamento de maior mobilidade, sendo seu padrão de distribuição

mais relacionados aos efeitos de densidade de presas. Os resultados da tese, são utilizados para discutir efeitos da homogeneização de canal, decorrentes de desmatamentos e mineração, sobre as comunidades cavernícolas. Além de inferir sobre rotas turísticas adequadas para sistemas cavernícolas que possuem riachos alogênicos hiperdinâmicos. Finalmente, foi discutida a importância de se incluir estudos que contemplem os componentes espaciais da diversidade, a fim de promover subsídios para determinar a real área de influência do ambiente de superfície sobre as cavernas.

Palavras-chave: Caverna. Partição da diversidade. Distúrbio. Variação temporal. Flutuações de vazão.

## ABSTRACT

Caves are unique systems, being under the constant threat of anthropogenic impacts. However, in order to propose appropriate management and conservation actions for cave biological integrity preservation, it is crucial to understand community structure, diversity patterns and temporal dynamics. However, little is known about caves' ecological process and patterns, specially considering aquatic communities associated to cave streams. Thus, the main objectives of this thesis were to understand cave aquatic insect communities structure; determine communities dynamics patterns; investigate experimental disturbances effects over cave benthic communities and evaluate how changes in diversity components could be related to flow changes, as well as on functional feeding groups. Therefore, we investigated three subterranean allogeneic streams, located in Minas Gerais, Brazil, over one year. The first manuscript shows that each subterranean stream is structured in a unique way, and those factors that exhibited greater variation, were the most important in determining distributional species patterns. In addition, each stream has an unique set of fauna, mainly determined by the regional species pool of the upstream drainage. Finally, it was verified the importance of shelter availability in the streams for aquatic insects and their role in determining the highest values of richness. Our findings reveal that common impacts in the caves' surroundings, such as deforestation and mining, can severely affect the associated cave streams communities. The second manuscript aimed to understand the importance of flood pulses, determining the highest temporal beta diversity values. Moreover, it was possible to infer that temporal changes in the bottom substrates from the subterranean channel lead to major changes in species composition. In addition, it was found a pattern of high community instability, with constant colonization and species extinctions. Thus, it was attributed to subterranean allogeneic streams the characteristic of hyperdynamic systems. In addition, changes in communities caused by experimental disturbances were comparable to natural dynamics of cave systems. Finally, we found that the highest contribution of aquatic insects to the gamma diversity was determined by the beta diversity, given by differences among caves. In addition, temporal variations of diversity components are negatively influenced by high flow events. Thus, higher flow rates, were responsible for homogenizing subterranean aquatic communities. The same pattern was found when considering functional feeding groups. However, predators did not have relations with flow changes. Such organisms have greater mobility, hence its distribution pattern is more closely related to prey density effects, than to flow changes. Results are used to discuss the effects of the channel homogenization resulting from deforestation and mining to cave communities. In addition, our results are also useful to infer appropriate tourist routes in cave systems that have allogeneic hyperdynamic streams. Finally, we

discuss the importance of including studies on diversity spatial components, in order to promote knowledge for determining the actual influence area from the surface environment on the caves' communities.

Keywords: Cave. Diversity partitioning. Disturbance. Temporal variation. Flow changes.

## SUMÁRIO

<b>PRIMEIRA PARTE</b>	
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO..... 15</b>
<b>2</b>	<b>CONCLUSÕES FINAIS ..... 17</b>
<b>SEGUNDA PARTE - ARTIGOS ..... 18</b>	
	<b>ARTIGO I How benrhic cave communities are structured?..... 19</b>
	<b>ARTIGO II Resiliência de comunidades bentônicas em rios subterrâneos alogênicos: Sistemas hiperdinâmicos?..... 50</b>
	<b>ARTIGO III Relacionando grupos funcionais alimentares aos componentes espaciais e temporais de diversidade em comunidades aquáticas subterrâneas neotropicais ..... 96</b>

## **PRIMEIRA PARTE**

## 1 INTRODUÇÃO

Ambientes cavernícolas apresentam características peculiares, como a ausência permanente de luz, além de temperaturas estáveis e umidade elevada, que lhes conferem grande estabilidade ambiental quando comparados aos sistemas de superfície. Apesar da estabilidade ambiental, estes sistemas apresentam uma forte barreira à colonização por diversos organismos, principalmente àqueles que não são capazes de se orientar na completa escuridão, ou de exercer suas funções vitais com a baixa disponibilidade de recursos alimentares. Com isso, existe a seleção de espécies altamente adaptadas às severidades do ambiente subterrâneo, sendo que algumas evoluem de forma tão específica às condições cavernícolas, que somente são capazes de estabelecer populações viáveis no interior de cavernas. Tais características físicas e biológicas desses sistemas, lhes conferem grande importância do ponto de vista ecológico e evolutivo. Além disso, as cavernas podem ser consideradas laboratórios naturais subterrâneos. Suas características, como limites físicos bem delimitados, populações pequenas e comunidades mais simplificadas, facilitam o entendimento de padrões e processos que possam ser aplicados à sistemas mais complexos, que apresentem maior diversidade e abundância de espécies.

Outros ambientes amplamente utilizados para o entendimento de questões ecológicas são os aquáticos, com destaque para os organismos bentônicos (especialmente insetos). No entanto, tais ambientes são pouco explorados em sistemas subterrâneos neotropicais. Frente a este cenário, a presente tese buscou compreender a dinâmica e estruturação de comunidades de insetos aquáticos em cavernas neotropicais. Para tanto foram escolhidos três riachos subterrâneos, inseridos em rochas quartzíticas na região sul de Minas Gerais, Brasil.



A presente tese é composta por três capítulos, sendo o primeiro deles relacionado a questões de como fatores físico-químicos, hidrológicos e de estrutura do hábitat dos riachos subterrâneos, estruturam a comunidade de insetos aquáticos cavernícolas. No segundo capítulo são contemplados os fatores que regem a dinâmica temporal das comunidades de insetos aquáticos em cavernas. Investigamos o papel dos índices de pluviosidade no “*turnover*” temporal de espécies, bem como as relações entre a instabilidade da comunidade e mudanças em fatores ambientais. Adicionalmente, foram avaliados os efeitos de um distúrbio experimental sob a comunidade de insetos aquáticos, para verificarmos a resistência e resiliência dessas comunidades. No terceiro e último capítulo, realizamos a partição da diversidade, a fim de verificar como a diversidade de insetos aquáticos e de grupos funcionais alimentares, variam temporalmente em função dos componentes da diversidade e da precipitação regional, nos três riachos subterrâneos.

Vale ressaltar que cada capítulo da tese foi elaborado na forma de manuscritos científicos. O primeiro manuscrito já se encontra submetido à revista: “*Invertebrate Biology*”, ISI Journal Citation Reports © Ranking: 2014: 62/103 (Marine & Freshwater Biology); 66/154 (Zoology), Online ISSN: 1744-7410. Os demais manuscritos ainda serão traduzidos para a língua inglesa para posterior submissão dos trabalhos. Para facilitar esse processo, tabelas e figuras foram construídas em inglês.

## 2 CONCLUSÕES FINAIS

A partir desse trabalho, foi possível aumentar o entendimento da dinâmica e estrutura das comunidades de insetos aquáticos cavernícolas. Inicialmente, evidenciamos o papel do pool regional, e das variáveis físicas dos riachos de cada caverna estudada, na estruturação de suas comunidades. Foi possível compreender ainda, que a diversidade de substratos, promove as maiores riquezas de insetos aquáticos encontrados. Sendo que as mudanças temporais deste mesmo fator, são responsáveis por determinar as maiores instabilidades das comunidades. Também evidenciamos, o elevado “*turnover*” temporal de espécies, promovido principalmente por períodos de maiores vazões, que faz com que, mesmo distúrbios causados experimentalmente, passem despercebidos ao longo do tempo. Estes riachos alogênicos subterrâneos, são altamente instáveis, caracterizados como sistemas hiperdinâmicos, marcados por constantes eventos de extinções e colonizações de espécies. Finalmente, foram observados elevados valores de diversidade, entre transectos de cada caverna e entre cavernas, valores estes que foram atenuados a partir de pulsos de inundação. Com isso, as maiores vazões promovem a homogeneização das comunidades de insetos aquáticos em riachos subterrâneos alogênicos.

**SEGUNDA PARTE - ARTIGOS**

## ARTIGO I

### HOW BENTHIC CAVE COMMUNITIES ARE STRUCTURED?

**Thais Giovannini Pellegrini<sup>13</sup>, Paulo Santos Pompeu<sup>23</sup>, Rodrigo Lopes Ferreira<sup>13</sup>**

<sup>1</sup> CEBS, Centro de Estudos em Biologia Subterrânea - UFLA.  
[thais.g.pellegrini@gmail.com](mailto:thais.g.pellegrini@gmail.com)

<sup>2</sup> Laboratório de Ecologia de Peixes - UFLA.

<sup>3</sup> Universidade Federal de Lavras. Campus Universitário UFLA – CEP: 37200-000. Lavras – MG, Brasil.

O manuscrito foi redigido conforme as normas da revista científica *Invertebrate Biology*, ISSN: 1744-7410, (versão preliminar).

## ABSTRACT

Caves have more simplified communities when compared to external environments due to selective pressures mainly related to the absence of light, which makes them natural subterranean “laboratories” for ecological research. Studies conducted in order to better understand the mechanisms structuring subterranean aquatic communities are scarce. The present study aimed to determine the influence of the regional pool of species, physical parameters of the instream habitat and physicochemical parameters of water quality on structuring the assemblage of aquatic insects in cave streams. Sampling was conducted in three subterranean streams, all of them inserted on quartzite rock in Minas Gerais state, Brazil. The structure and composition of aquatic insect communities were influenced by several environmental variables, from which the distances among caves stood out, indicating the importance of the regional pool of species on community structure. Probably, epigeal rivers that access the subterranean environments have distinct conditions and communities, and therefore, provide a different colonization for each cave. However, it was observed that distinct factors (water speed, organic matter or size of substrate) were the most important in explaining community structure when analyzing each cave separately: different subterranean communities were structured by different factors. On the other hand, when the factors responsible by the highest richness were estimated, the environmental heterogeneity stood out in relation to the other factors. It was related to the highest richness found, since it determined the existence of a greater surface area of colonization, refuges and a higher amount or variety of nutrients in places of limited resources. Thus, besides the importance of the regional pool of species, different communities have distinct structuring factors, and the diversity of habitats is essential for the presence of the local richness.

**Keywords:** aquatic insects, subterranean, physical habitat, substrate heterogeneity, shelter.

## INTRODUCTION

Among the singular caves traits, the most noticeable is the permanent absence of light (Bar 1967). Thus, food resources that in most of the epigeal systems come from photosynthetic organisms, usually become scarce in caves. Excluding rare caves where the chemoautotrophy constitutes the basis of food chain, like Movile Cave in Romania (Sarbu et al. 1996), carbon source in the subterranean environment is totally allochthonous. This condition makes the energetic basis of communities associated to subterranean rivers very peculiar, with hypogean populations structured in function of the limited food resources (Watson 2010).

Some characteristics observed in subterranean systems may determine the evolution of highly specialized species, as the case of stygobites, which are obligate cave aquatic organisms (Gibert et al. 1994). Although some of these species may be found near the surface, e.g. as the hypohelminthic species (Culver et al. 2006; Fiser et al. 2010; Rodrigues et al. 2012), many of them are restricted to deep regions (Gibert et al. 1994) or subterranean rivers with low connectivity with the epigeal environment. The allogenic rivers run over the epigeal environments and then access the caves (Miller 1996), thus presenting higher connectivity with the epigeal system. In these cases, aquatic invertebrates access the caves mainly by drift, as commonly observed for Ephemeroptera (Kohler 1985). Even in these rivers there is a drastic change on environmental parameters when they enter the subterranean environment, thus reducing the number and density of species, since many of them are intolerant to the cave conditions (Death 1988; 1989). In this sense, communities associated to rivers that run throughout caves from an epigeal drainage are highly influenced by processes that determine the upstream patterns of the river (Allan & Castillo

2007; Watson 2010), but present more simplified communities structured in function of the cave conditions.

Ecological studies with aquatic insects in caves have been focused on understanding mechanisms that limit the colonization and maintenance of viable populations in these environments (Death 1989), the connectivity between subterranean and epigeal systems (e.p. Simon & Benfield 2001; Simon et al. 2003; Wood et al. 2008), as well as the gradient of transition between these two environments (Watson 2010). The few studies available in the literature regarding benthic communities in Neotropical caves addressed aspects of trophic dynamics (Souza-Silva et al. 2011; Souza-Silva et al. 2013), and some tried to elucidate the mechanisms structuring subterranean aquatic communities (Bichuette & Santos 1998; Taylor & Ferreira 2012).

In this perspective, this study aimed to determine the role of the regional pool of species (spatial component) and local characteristics of the habitat related to the quality of water and physical traits of the channel (substrate, channel morphology and hydraulic characteristics) on structuring (richness, composition and abundance) communities of aquatic insects in three quartzite caves in southeastern Brazil.

## **METHODS**

### *Study area*

We studied three caves located in Southern Minas Gerais (Brazil): Mandembe Cave (21°32'3810" S 44°47'5730" W), 244 meters long, and Serra Grave Cave (21°33'3350" S 44°49'1070" W), 230 meters, both located in the municipality of Luminárias and Toca Cave (21°28'2400" S 44°40'0200" W), 583 meters, located in the municipality of Carrancas (Figure 1). All caves present allogenic rivers that access the cave by the main entrance, without sinkholes inside them. Thus, the three systems comprise external drainages with a

subterranean stretch of variable dimensions. The caves are inserted in a quartzite system in which the surrounding vegetation comprises a transitional area between Atlantic Forest and Brazilian Savanna (Cerrado).

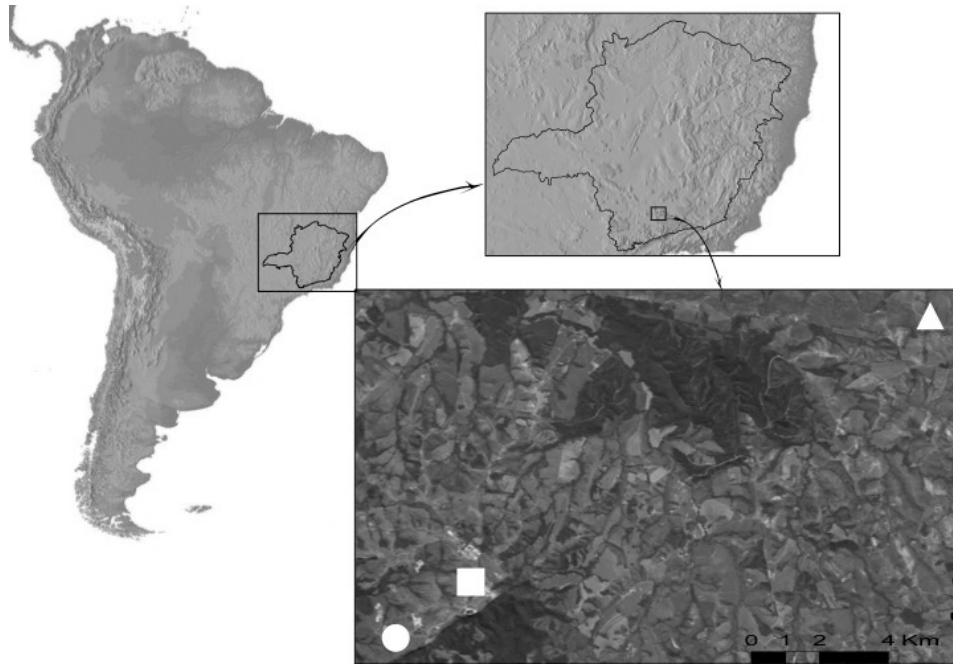


Figure 1: Geographical location of the studied caves: Mandembe Cave (circle), Serra Grande Cave (square) and Toca Cave (triangle).

A single sampling event was performed on each cave from April 2013 to May 2014. Each sampling was conducted by four people that evaluated the instream habitat site and collected aquatic insects. On each cave, one 100 m long stretch was sampled, which were subdivided in ten 10 m long sections, then each cave had 11 longitudinal transects positioned between the sections. Only in Mandembe Cave two transects were positioned in a lateral tributary since the main cavity conduct has less than 100 m, what would preclude the correct distancing between transects if they were condensed in the main tributary. This lateral tributary do not correspond to an allogenic stream, but comprises an autogenic drainage, which consist of waters derived by direct infiltration from



the exposed rock surface, emerging into the cave from concentrated recharges (Gunn 1983).

#### Determining instream habitat

Before any biological or physical sampling in the stream, we evaluated water quality parameters. Dissolved oxygen, conductivity, pH and temperature were measured on each of the 11 transects with the aid of a multi-parameter probe Horiba U-50.

We evaluated the physical habitat of each stream was made in the 11 longitudinal transects by means of a modified protocol based on the methodology of Peck *et al.* (2006) and Hughes and Peck (2008).

On each transect the channel we measured width and in the same transect we measured the depth along five equidistant points. Substrate type was visually classified (matrix rock, large boulder, boulder, block, coarse gravel, fine gravel, sand, silt, clay, hardpan, wood, roots and leaf litter). Width and depth were important measurements to obtain the wetted area of each point.

On each section we adopted the following procedures: *i*) measurement of 10 longitudinal equidistant thalweg depths; *ii*) quantification of the presence of fine sediments, besides visual quantification of bars, backwaters, side channels and channel type (pool, glide, rifle, rapid, cascade, falls or dry channel); *iii*) measurement of the channel slope with a flexible plastic tube and *iv*) sinuosity (measured with compass bearings). Furthermore, we reported the presence of large pieces of wood and leaf litter in the channel.

We calculated the stream flow rate based on the time that a fluctuating object (a small flattened plastic block) spent to run a determined distance (such measurement was made three times and posteriorly the mean time was calculated). Since the wet area (A) of each point and flow rate of the stream (Q) were determined, we obtained the water speed (V) of each transect through the formula:  $V=Q/A$ .

### Sampling of aquatic insects

On each transect we collected the insects in three sub-samples using a 400 cm<sup>2</sup> Surber net. In laboratory we identified all the sampled organisms until the genus level using taxonomic keys (Elson-Harris 1990; Merritt et al. 2008; Benetti et al. 2003; Olifiers et al. 2004; Salles et al. 2004; Manzo 2005; Michat et al. 2008; Mugnai et al. 2010; Segura et al. 2011; Hamada et al. 2014). We determined the abundance of each genus for each section in each stream site.

### Data analyses

Firstly, we removed environmental variables that presented more than 70% of correlation. In order to choose which variable would be removed, we conducted a PCA (Principal Component Analysis) for the three groups of variables (substrate, hydrology and morphology of the channel and water quality). We selected the variables with highest correlation with axis 1 of PCA in order to maintain the more informative variables in the model. Then, we conducted DistLM analyses (Distance Based Linear Modeling) to test the relationship between the similarity matrix of fauna (response variables) generated from data of genera abundance (Bray-Curtis index) and predictor variables. In these models we included matrices of geographical distances among the caves in order to evaluate the role of regional pool of species on structuring the communities. We selected the *forward* method, in which initially the variable with highest explanatory power is selected, and then variables that most contributed to explain the model are gradually added, one by one. The significance of the model is tested at each addition of variable (Anderson et al. 2008). Then we selected the significant model with highest explanatory power. For these analyses the rare species (singletons and doubletons) were eliminated (McCune & Grace 2002) and data was standardized by the total abundance. The inclusion of rare species in this analysis could misrepresent results of explanatory factors responsible by the structure of the community, since these

species could be accidental, collected by chance in that environmental condition. Such analyses were made both for all the caves and considering each cave separately.

For each cave and for the total dataset, we conducted n-MDS (Non-metric Multidimensional Analyses), plotting the variable with highest explanatory model generated by the DistLM model as a factor (categorical variable). In order to verify if the groups formed by categorical variables differed significantly, an ANOSIM (Analyses of Similarities) was conducted. Then, we conducted SIMPER analyses (Similarity Percentages – species contributions) to verify which genera were responsible by the dissimilarities among groups formed by n-MDS. In this analysis we used the variable with highest explanatory power generated by the DistLM model (only for significant models generated by Bray-Curtis method) as a factor, and in cases of continuous variables, the upper and lower values in relation to the mean were used to distinguish groups of points to be compared.

Finally, we used the DistLM analysis to verify the best factors to explain the genus richness found on each section for all the caves and for each cave separately. Thereunto, the matrix of richness similarity among the sections was generated from Euclidian distance. This distance is used when one intends to conduct a traditional analysis of Multivariate Multiple Regression, also known as Redundancy Analysis or RDA (Anderson et al 2008). An important difference when conducting DistLM analysis is that p values are obtained by permutation (Anderson et al. 2008). The software Primer 6.0 was used for all the previously mentioned analyses.

## **RESULTS**

We sampled overall, 509 insects, which are distributed in 59 genera, 27 families and 8 orders (Appendix 1). Diptera, represented more than 50% of them

with 316 individuals, and this order was the richest and most abundant. Among them, 191 belong to the family Simuliidae (all of them *Simulium* spp.) and 116 were Chironomidae. Coleoptera was the second most abundant order with 85 individuals, and Elmidae was the most abundant family, with 74 individuals.

Mandembe was the richest cave and presented the highest abundance, with 384 specimens distributed in 36 genera. Among them, 29% occurred in at least three transversal sections. The most representative genus was *Simulium* spp. (Diptera, Simulidae), with 184 individuals distributed along the cavity. The other two caves presented similar abundance of individuals, 60 for Toca Cave and 63 for Serra Grande Cave, distributed in 21 and 28 genera, respectively. For these two caves the richest group was Coleoptera, with a great variety of Elmidae genera.

The abundance of aquatic insects was influenced by several variables, from which the spatial component (regional pool of species) stood out and explained 11% of the differences found in the structure of communities ( $p = 0.00$  DistLM; Table 1). The models constructed with the tested variables were capable to explain 18% of the abundance of collected individuals (Table 1). The structure of communities present on each cave differed significantly ( $p = 0.001$  ANOSIM, Figure 2).

Table 1 Models generated by the DistLM analysis for all the caves.

	VARIABLE	R <sup>2</sup> ADJUSTED	PSEUDO-F	P
Quantitative Analysis (Bray-Curtis)	Distance	0.1128	2.7169	0.001
	+ Temperature	0.1534	2.1971	0.004
	+ Speed	0.1818	1.8324	0.034

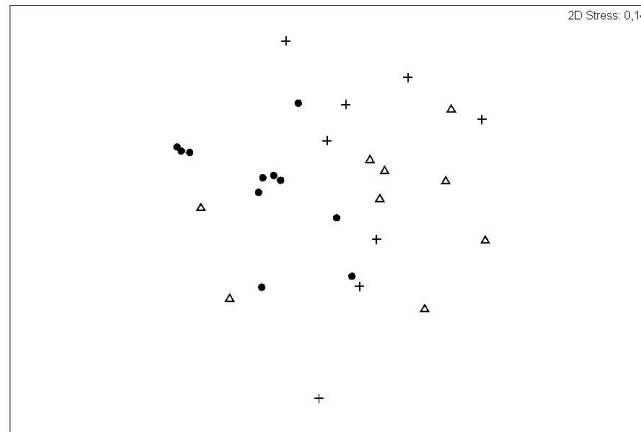


Figure 2: n-MDS of aquatic insect communities considering a similarity matrix generated from abundance data by the Bray-Curtis index; subterranean streams associated to the Mandembe Cave (circles), Serra Grande Cave (triangles) and Toca Cave (crosses) (stress = 0.14).

The genera responsible by most of the differences on the structure of communities between Mandembe and Serra Grande Caves were *Simulium* spp. (Diptera, Simuliidae), *Heterelmis* spp. (Coleoptera, Elmidae), *Argia* spp. (Odonata, Coenagrionidae), *Neotrichia* spp. (Trichoptera, Hydroptilidae) and *Caladomyia* spp. (Diptera, Chironomidae) (Table 2). For Mandembe and Toca Caves, the main genera responsible by the dissimilarities were again *Simulium* spp. (Diptera, Simulium), followed by *Tanytarsus* spp. (Diptera, Chironomidae), *Endotribelos* spp. (Diptera, Chironomidae), and *Heterelmis* spp. (Coleoptera, Elmidae). Together such genera were responsible for more than 50 % of the dissimilarities, and only Diptera was responsible by 44% of the differences (Table 2). Finally, the genera that most contributed to the dissimilarities between Serra Grande and Toca Caves were *Heterelmis* spp. (Coleoptera, Elmidae), *Tanytarsus* spp. (Diptera, Chironomidae), *Endotribelos* spp. (Diptera, Chironomidae), *Hexacylloepus* spp. (Coleoptera, Elmidae) and *Parametriocnemus* spp. (Diptera, Chironomidae) (Table 2).

Table 2 Species responsible by the dissimilarities presented by the studied caves according to the SIMPER analysis. Legend: MD (Mandembe Cave), SR (Serra Grande Cave) and TO (Toca Cave). "To be continued"

		MD Mean abundance	SG Mean abundance	Contribution (%)	Cumulative (%)
	<i>Simulium spp.</i>	35.27	4.17	18.63	18.63
	<i>Heterelmis spp.</i>	0.00	20.97	11.41	30.04
	<i>Argia spp.</i>	14.86	0.69	8.05	38.09
	<i>Neotrichia spp.</i>	3.32	12.78	7.96	46.04
	<i>Caladomyia spp.</i>	3.26	11.11	7.03	53.08
MD	<i>Cloeodes spp.</i>	1.44	11.25	6.25	59.33
X	<i>Macrelmis spp.</i>	9.91	2.78	6.22	65.54
SG	<i>Tanytarsus spp.</i>	8.62	4.31	6.18	71.72
	<i>Neoelmis spp.</i>	1.86	6.94	4.34	76.06
	<i>Austrolimnius spp.</i>	1.91	6.25	4.06	80.12
	<i>Gyrelmis spp.</i>	2.27	5.56	3.98	84.11
	<i>Zavreliella spp.</i>	1.67	5.56	3.73	87.84
	<i>Endotribelos spp.</i>	5.73	0.00	3.12	90.96
	<i>Simulium spp.</i>	35.27	0.00	19.10	19.10
	<i>Tanytarsus spp.</i>	8.62	21.14	13.55	32.65
	<i>Endotribelos spp.</i>	5.73	20.00	11.95	44.60
	<i>Heterelmis spp.</i>	0.00	16.97	9.19	53.79
	<i>Argia spp.</i>	14.86	6.93	9.18	62.97
MD	<i>Hexacylloepus spp.</i>	0.00	14.47	7.84	70.80
X	<i>Parametriocnemus</i>				
TO	<i>spp.</i>	0.90	12.50	7.14	77.94
	<i>Macrelmis spp.</i>	9.91	0.00	5.37	83.31
	<i>Caladomyia spp.</i>	3.26	2.50	2.70	86.01
	<i>Gyrelmis spp.</i>	2.27	3.22	2.66	88.66
	<i>Neotrichia spp.</i>	3.32	0.00	1.80	90.46

Table 2 Species responsible by the dissimilarities presented by the studied caves according to the SIMPER analysis. Legend: MD (Mandembe Cave), SR (Serra Grande Cave) and TO (Toca Cave). “Conclusion”

		SG Mean abundance	TO Mean abundance	Contribution (%)	Cumulative (%)
	<i>Heterelmis spp.</i>	20.97	16.97	15.15	15.15
	<i>Tanytarsus spp.</i>	4.31	21.14	11.96	27.11
	<i>Endotribelos spp.</i>	0.00	20.00	10.93	38.03
	<i>Hexacylloepus spp.</i>	0.00	14.47	7.91	45.94
	<i>Parametriocnemus spp.</i>	1.39	12.50	7.40	53.34
SG	<i>Neotrichia spp.</i>	2.78	0.00	6.98	60.32
X	<i>Caladomyia spp.</i>	11.11	2.50	6.83	67.15
TO	<i>Cloeodes spp.</i>	11.25	0.00	6.15	73.30
	<i>Gyrelmis spp.</i>	5.56	3.22	4.40	77.70
	<i>Neoelmis spp.</i>	6.94	1.14	4.14	81.84
	<i>Argia spp.</i>	0.69	6.93	3.98	85.82
	<i>Austrolimnius spp.</i>	6.25	0.00	3.41	89.23
	<i>Zavreliella spp.</i>	5.56	0.00	3.04	92.27

Distinct factors were more determinant to the structure of communities on each cave when analyzing them separately. In the Mandembe Cave, the temperature and water speed were the most relevant variables (Table 3). In this cave, sampling points with higher temperature presented higher abundance of *Macrelmis* spp. (Coleoptera, Elmidae), while the lowest abundances of *Simulium* spp. (Diptera, Simuliidae) were associated to lower temperatures (Table 4).

Table 3 Models generated by the DistLM analysis for the Mandembe Cave.

	Variable	R <sup>2</sup> adjusted	Pseudo-f	p
Quantitative Analysis (Bray-Curtis)	Temperature	0.2316	4.0132	0.012
	+ Speed	0.4104	3.7301	0.022

Table 4 Species responsible by the dissimilarities among the sections of different temperatures at Mandembe Cave according to the SIMPER analysis.

	Temp.< 18.7 Mean abundance	Temp.>18.7 Mean abundance	Contribution (%)	Cumulative (%)
<i>Simulium spp.</i>	20.89	0.50	33.21	33.21
<i>Macrelmis spp.</i>	0.33	10.50	27.38	60.59
<i>Argia spp.</i>	3.56	0.00	11.59	72.18
<i>Austrolimnius spp.</i>	0.11	2.00	5.09	77.27
<i>Caladomyia spp.</i>	1.00	1.00	4.99	82.25
<i>Endotribelos spp.</i>	1.00	0.00	4.02	86.28
<i>Bezzia spp.</i>	0.22	1.00	3.27	89.55
<i>Neotrichia spp.</i>	1.00	0.00	3.03	92.58

For Serra Grande Cave, three factors explained the variations in the community along the subterranean stream: conductivity, wetting area and distance from the entrance to downstream (Table 5). The genera responsible for the dissimilarities among the points with conductivity higher and lower than 0.003 ms/cm (that represents the mean of this parameter) were *Cloeodes* spp. (Ephemeroptera, Baetidae), *Heterelmis* spp. (Coleoptera, Elmidae), and *Tanytarsus* spp. (Diptera, Chironomidae) (Table 6).

Table 5 Models generated by the DistLM analysis for Serra Grande Cave.

	Variable	R <sup>2</sup> adjusted	Pseudo-F	p
Quantitative Analysis (Bray- Curtis)	Conductivity	0.2654	2.8066	0.187
	+ Wet area	0.7307	7.9123	0.072
	+ distance from the entrance to downstream	0.9835	46.884	0.014



Table 6 Species responsible by the dissimilarities among sections with different conductivities at Serra Grande Cave according to the SIMPER analysis.

	Cond. > 0.003 Mean abundance	Cond. < 0.003 Mean abundance	Contribution (%)	Cumulative (%)
<i>Cloeodes spp.</i>	50	20.24	43.08	43.08
<i>Heterelmis spp.</i>	50	63.69	43.08	86.15
<i>Tanytarsus spp.</i>	0	16.07	13.85	100

Finally, for Toca Cave, four factors explained significantly the variation: dissolved oxygen content, slope, total dissolved solids and substrate size (Table 7). Among the genera responsible by the dissimilarities between points with dissolved oxygen contents higher and lower than 4.7 mg/L (that represents the mean of such parameter), *Endotribelos* spp. (Diptera, Chironomidae) was more abundant in points with higher content, and *Hexacylloepus* spp. (Coleoptera, Elmidae) was found in points with lower dissolved oxygen contents (Table 8).

Table 7 Models generated by the DistLM analysis for the Toca Cave.

	Variable	R <sup>2</sup> adjusted	Pseudo-F	p
Quantitative Analysis (Bray- Curtis)	Dissolved oxygen	0.1656	2.1906	0.063
	+ Slope	0.301	1.9682	0.173
	+ TDS	0.3942	1.616	0.248
	+ Substrate size	0.834	8.9438	0.042

Table 8 Species responsible by the dissimilarities among sections with different contents of dissolved oxygen content at Toca Cave according to the SIMPER analysis. DO: dissolved oxygen content.

	DO > 4.7 Mean Abundance	DO < 4.7 Mean Abundance	Contribution (%)	Cumulative (%)
<i>Endotribelos spp.</i>	1.67	0.50	27.15	27.15
<i>Hexacylloepus spp.</i>	1.00	1.50	26.63	53.78
<i>Tanytarsus spp.</i>	0.67	1.50	24.44	78.22
<i>Heterelmis spp.</i>	1.00	0.25	21.78	100.00

The spatial component (regional pool of species) was an important factor determining the species richness, followed by the presence of shelters (Table 9). For Mandembe Cave, depth and shelter for invertebrates explained most of the variation on richness, while for Serra Grande Cave several variables were included in the model, with water speed as the most important one. Finally, for Toca Cave, a big set of variables was associated to richness, and the availability of shelter was the most relevant (Table 9).

Table 9 DistLM conducted to analyze which factors better explain the genera richness found on each section.

	Variable	R <sup>2</sup> adjusted	Pseudo-F	p
ALL CAVES	Distance among caves	0.1435	3.5137	0.04
	+ Shelter for invertebrates	0.3261	8.5869	0.008
MANDEMBE CAVE	Depth	0.5898	15.375	0.004
	+ Shelter for invertebrates	0.8456	15.919	0.011
SERRA GRANDE CAVE	Speed	0.4837	9.4324	0.067
	+ % of gravel	0.6648	5.3239	0.057
	+ Wet area	0.762	3.8557	0.105
	+ Temperature	0.7909	1.8294	0.239
	+ Depth	0.7967	1.142	0.35
	+ Slope	0.943	11.267	0.054
	+ Shelter for invertebrates	0.9984	102.01	0.014
TOCA CAVE	Shelter for invertebrates	0.2741	4.3998	0.094
	+ Conductivity	0.3702	2.2196	0.185
	+ Wet area	0.5103	3.0036	0.136
	+ Speed	0.698	4.7284	0.073
	+ % of fine substrate	0.8394	5.406	0.09
	+ TDS	0.9871	46.53	0.003
	+ Organic matter	0.9998	22.182	0.049

## DISCUSSION

The results of the present study demonstrate that the regional pool of species is extremely important in determining the structure of cave communities. The epigeal streams that access the caves probably have distinct conditions and communities, and therefore provide a different colonization to each cave. According to Death (1989), aquatic community traits in an allogenic subterranean river reflect the conditions of the epigeal river since it, besides making available great part of the food resources in the hypogean river, also provides the colonizers.

In Mandembe Cave one widely distributed genus, *Simulium* spp., was responsible by the highest dissimilarities in relation to the other caves. This genus prefers sites with higher water flow (Braum 1987), condition more commonly found in this cave, which presents the greatest slopes, highest flow rate and consequently places with the highest water speed among the three studied caves.

In relation to Serra Grande Cave, *Heterelmis* spp. was the genus that attributed more singularity to the cave in relation to the others. This genus is commonly found in shallow flowing waters with high temperatures (Fernandes 2010; Braun et al. 2014). However, such conditions are not exclusive from Serra Grande, than it is possible that other conditions may have contributed to the occurrence of greater abundances of this genus in this cave. The competitive exclusion of *Heterelmis* spp. in the other caves is a possibility, given the presence of other Elmidae genera, like *Macrelmis* spp., which prefer similar habitats (Fernandes 2010).

In the Toca Cave, two genera of Chironomidae, *Tanytarsus* spp. and *Endotribelos* spp., were responsible by the highest dissimilarities in relation to the other caves. While *Tanytarsus* spp. is considered a generalist regarding to the habitat use, *Endotribelos* spp. is usually found in leaf litter associated to rock

blocks (Sanseverino & Nessimian 2001). Once again, the lower frequency of *Tanytarsus* spp. in the other caves may have been caused by the competition with other Chironomidae genus, or alternatively, by its absence on the colonizing source in upstream epigean regions of the river. In the case of *Endotribelos* spp., the first sampling section was very close to one of the cave entrances, which is topographically lower than the external floor, thus favoring the accumulation of leaf litter in this point, and consequently favoring the colonization by this genus. Even though the other caves also have leaf litter stands, they were less representative in relation to the local diversity of substrates observed for Toca Cave.

Besides the importance of the regional pool of species, it was also found that each cave is guided by unique factors. In Mandembe Cave, temperature was a strong structuring factor for the community, which comprises one of the main variables influencing the spatial distribution of aquatic organisms (Esteves 1998). Although there is a certain thermal stability in subterranean rivers (Taylor & Ferreira 2012), such parameter varied throughout the different sampled sections in this cave. Two of them are located in a tributary of the main channel inside the cave, where higher temperatures were recorded. It is important to highlight that such tributary represents an autogenic drainage with distinct characteristics in relation to the other parts of the subterranean stream that is allogenic. Then, the environmental characteristics of this tributary are more constant along the time, what may explain the higher temperatures recorded. The temperature may restrict the distribution of some species (Allan 1995). In the case of Elmidae larvae (Coleoptera), temperature determines higher growth rates (Brown 1987) and therefore is an important factor structuring the community. The correlation between temperature and preference presented by some organisms was already reported for subterranean rivers where higher abundances of *Melanoides tuberculata* and Sphaeriidae, both Gastropoda, were found in

places with higher temperatures. Such association may be related to the behavior of these organisms and also their physiological requirements (Taylor & Ferreira 2012).

Other important variable determining the structure of aquatic insects in Mandembe Cave was the water speed. Different hydraulic conditions strongly determine environmental characteristics of the channel, which indirectly affect the associated invertebrate communities (Hart & Finelli 1999; Brooks et al. 2005). Such differences occur even in small scales and consequently affect patterns of spatial distribution of aquatic insects (Brooks et al. 2005). Accordingly, there are organisms that prefer places with higher water speed (Dolédéc et al. 2007), for which this parameter represents a strong structuring factor for the community (Brooks *et al.* 2005). Such preferences by specific microhabitats are shaped by ecological traits of each species, like functional feeding groups and oxygen demand (Collier 1994). In Mandembe cave, the genus *Simulium* spp. (Diptera: Simuliidae) presented a noticeable preference for places with high water speed. These larvae have a specific strategy to capture food particles that becomes inefficient in places with low water speed (Braum 1987). On the other hand, individuals of the genus *Macrelmis* spp. (Coleoptera: Elmidae) were found associated to places with lower water speed, thus corroborating the studies of Braum et al. (2014) conducted in rivers on Southern Brazil. Lower water speed in lotic systems allows the accumulation of trunks, leaves and roots, which composes the preferential habitat of these organisms (Fernandes 2010).

For Serra Grande cave the community structure was significantly explained by conductivity, wet area and distance from the entrance to downstream. Variations in the electric conductivity may result in osmotic stress, thus interfering in physiological functions like the absorption of nutrients of aquatic invertebrates (Sutcliffe 1984; Kestrup & Ricciardi 2010).

The second most important factor for the community structure in this cave was the wet area, which is directly related to the life area available for the aquatic insects. Then, its relationship with the abundance of some organisms found in Serra Grande cave may be related to one of the most well accepted theories in Ecology, the species-area relationship (MacArthur & Wilson 1963). This theory not only establishes that larger areas shelter more species, but also that it allows the occurrence of larger population densities. Such relationship was already documented in temporary ponds at Mammoth Cave in USA, where larger ponds not only offered a higher diversity of niches, but also presented a different balance between colonization and extinction when compared to smaller ponds (Studinski & Grubbs 2007). This is not different in terrestrial cave environments in which larger caves present a higher diversity of habitats and consequently they may shelter more species (Culver et al. 2004; Souza-Silva et al. 2011; Simões et al. 2015).

Finally, the distance from the entrance to downstream is probably related to the gradual change of environmental parameters as the epigean habitats become more distant, and such gradient creates patterns in the distribution of populations between these two ecosystems (Turner 1989; Watson 2010). The gradient present in cave aquatic environments can be also observed in the terrestrial subterranean systems. One example is the temperature that is more variable in regions next to the entrances (Tobin et al. 2013; Ferreira et al. 2015). Then, regions in the entrance act as ecotones representing a transitional zone between the epigean and hypogean environments (Prous et al. 2004; Moseley 2009; Prous et al. 2015). Such conditions reflect on the patterns of the terrestrial community associated to the cave (Romero 2009; Tobin et al. 2013), as well as on patterns of the aquatic community.

Several factors explained the abundance of species along the subterranean stream at the Toca Cave, and dissolved oxygen stood out. Studies

demonstrate that there are different levels of tolerance to this factor among aquatic insects. In the Toca cave, both Chironomidae and Elmidae presented their distribution patterns related to the dissolved oxygen content. The supposed specificity of habitat presented by some Chironomidae larvae, as occurs with *Tanytarsus* spp. that presents low capacity to survive in anaerobic places (Walshe 1947), reveal patterns of spatial distribution apparently shaped by this factor. Unexpectedly, such larvae occurred in places with lower dissolved oxygen content in Toca cave. Similarly, the Elmidae are limited to sites rich in oxygen, mainly the adults (Merritt et al. 2008). However, *Heterelmis* spp. presented the highest abundances in sites poor in dissolved oxygen in Toca cave. This apparent paradox of species intolerant to low dissolved oxygen contents occurring in places with lower contents inside the caves is probably caused by the small variations of this parameter (around 5 mg/L), what may be an acceptable value both for *Tanytarsus* spp. and *Heterelmis* spp. Alternatively, restrictive conditions imposed by the subterranean habitat may alter the behaviors commonly observed in epigeal habitats. In caves, lower oxygen contents generally occur in areas of lower water movement, what favors the sedimentation and accumulation of organic debris. Thus, although such area may have low dissolved oxygen contents when compared to other areas of the cave, they may represent very attractive places for foraging, especially considering the clear tendency to oligotrophy of subterranean environments. Furthermore, maybe these genera are more tolerant than the expected, with a high adaptive plasticity mainly in habitats subject to stressing conditions (like the ones found in caves).

The fact that different factors are responsible for the structure of communities on each cave may in reflect their local variability. It is expected, for example, that if some trait has constant values throughout the drainage, it probably will not interfere on the variability of local communities, while a

variable factor has higher chances to be a structuring agent of communities. Indeed, while in Mandembe the water speed ranged considerably among the sampled points, in the other caves such variable was constant throughout the drainage. Only in Mandembe cave this factor was related to the characteristics of the community. However, the role of the regional pool of species still must be considered regarding the differences among caves, since distinct species present different sensibilities to environmental factors.

The presence of shelters for invertebrates highlighted when estimating the factors responsible by the highest richness found for the studied caves. Although there is a difference among the explanatory models for each cave separately, the availability of shelter was the only parameter that appeared in all the models, and this factor is directly related to the channel heterogeneity. The studied subterranean caves have low-order rivers that run over quartzite rock, and the matrix rock predominated in the substrate of several sampled sections. The few places that offered shelter for the invertebrates (like blocks and wood pieces) represent a preferential habitat of aquatic insects. Providing a larger surface area for colonization, refuges and high amounts and variety of nutrients in places with limited resources are some of the mechanisms through which the environmental heterogeneity acts on the species diversity (Palmer et al. 2010). Some recent studies prove such positive relationship between environmental heterogeneity and the diversity of aquatic insects (e.g. Astorga et al. 2014; Gurski et al. 2014; Hood & Larson 2014).

Unfortunately, the region where the studied caves are inserted is under constant threat of high impact economic activities, mainly the quartzite mining and extensive agriculture (Carvalho et al. 2007). Such practices, when conducted without a proper management, may result in the increase of transportation and deposition of fine particles in the riverbed, thus reducing the habitat quality (Wood & Armitage 1997). The river silting promotes a deleterious effect on the



associated fauna (Wood & Armitage 1997), and a more drastic effect is expected for the assemblage of aquatic insects of the studied rivers for which the environmental heterogeneity is an important factor. Moreover, the deforestation resultant from such practices alters the natural regime and frequency of wood input into the river (Nakamura & Swanson 2003), other important component that promotes the heterogeneity of habitat.

Finally, considering the results of the present study, it is possible to infer that each community presents a unique structure, which was influenced by distinct factors: by the physicochemical parameters of water or hydraulic traits of the channel. Since the regional pool of species is crucial to determine the composition of communities of aquatic insects in subterranean streams, the adequate management of land use of the contribution basin upstream the cave is fundamental for the conservation of the subterranean fauna. Furthermore, although the heterogeneity of substrates was an important factor determining the highest richness found, it is still necessary to study each underground system in order to adopt practices aiming the conservation of these unique ecosystems.

#### **ANKNOWLEDGMENTS**

To the CEBS team for the help with field works. TGP is grateful to CAPES for the fellowship. PSP is grateful to the National Council of Technological and Scientific Development (CNPq) (process: 304002/2014-3) and FAPEMIG (process: 00608/15) for research scholarship grants. RLF is also grateful to CNPq for research grants (process: 304682/2014-4) and FAPEMIG (process: PPM-00433-11).

#### **REFERENCES**

- Allan JD & Castillo MM 2007. Stream ecology: structure and function of running waters: Springer, Netherlands: 2nd ed., XIV, 436 p.  
Allan JD 1995. Stream ecology. Kluger Academic Press, U.S.A.

- Anderson MJ, Gorley RN & Clarke KR 2008. PERMANOVA+ for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods. Massey University, Albany Campus, Auckland, New Zealand, 214 p.
- Astorga A, Death R, Death F, Paavola R, Chakraborty M & Muotka 2014. Habitat heterogeneity drives the geographical distribution of beta diversity: the case of New Zealand stream invertebrates. *Ecology and Evolution*. 4(13): 2693-2702. doi: 10.1002/ece3.1124
- Barr TC 1967. Observations on ecology of caves. *American Naturalist*. 101: 475-491
- Benetti CJ, Cueto RAJ & Fiorentin LG 2003. Gêneros de Hydradephaga (Coleoptera: Dytiscidae, Gyrinidae, Haliplidae, Noteridae) citados para o Brasil, Com Chaves para Identificação. *Biota Neotropica*, 3(1): BN00803012003
- Bichuette ME & Santos FHS 1998. Levantamento de dados ecológicos da fauna de invertebrados da Gruta dos Paiva Iporanga, SP. *O Carste*. 10(1): 14-19.
- Braimah SA 1987. The influence of water velocity on particle capture by the labral fans of larvae of *Simulium bivittatum* Malloch (Diptera: Simuliidae). *Canadian Journal of Zoology*. 65(10): 2395-2399
- Braum BM, Salvarrey AVB, Kotzian CB, Spies MR & Pires MM 2014. Diversity and distribution of riffle beetle assemblages (Coleoptera, Elmidae) in montane rivers of Southern Brazil. *Biota Neotropica*. 14(2): 1-11.
- Brown HP 1987. Biology of Riffle Beetles. *Annu Rev Entomol* 32: 253-273, doi: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.en.32.010187.001345>
- Brooks AJ, Haeusler T, Reinfelds I & Williams S 2005. Hydraulic microhabitats and the distribution of macroinvertebrate assemblages in riffles. *Freshwater Biology*. 50: 331-344. doi:10.1111/j.1365-2427.2004.01322.x
- Carvalho VCC, Silva MAC & Oliveira DV 2007. Potencialidades espeleoturísticas da área cárstica do município de Luminárias (MG, Brasil). *Revista de Turismo y Patrimônio Cultural*. 5(3): 383-390.
- Collier K 1994. Influence of nymphal size, sex and morphotype on microdistribution of *Deleatidium* (Ephemeroptera: Leptophlebiidae) in a New Zealand river. *Freshwater Biology*. 31: 35-42.
- Culver DC, Christman MC, Sereg I, Trontelj P & Sket B 2004. The location of terrestrial species-rich caves in a cave-rich area. *Subterranean Biology* 2: 27-32.
- Culver DC, Pipan T & Gottstein S 2006. Hypothelminorheic - a unique freshwater habitat. *Subterranean Biology* 4: 1-7.
- Death RG 1988. Drift distance, periodicity and frequency of benthic invertebrates in a cave stream. *Verhandlungen der Internationalen*

- Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie **23**:1446-1450.
- Death RG 1989. The effect of a cave on benthic invertebrate communities in a South Island stream. *New Zealand Natural Sciences* **16**:67-78.
- Dolédec S, Lamouroux N, Fuchs U & Mérigoux S 2007. Modelling the hydraulic preferences of benthic macroinvertebrates in small European streams. *Freshwater Biology*, *52*, 145–164.
- Elson-Harris MM 1990. Keys to the immaure stages of some Australian Ceratopogonidae (Diptera). *J. Aust. Ent. Soc.* *29*: 267-275.
- Esteves FA 1998. Fundamentos da Limnologia. Rio de Janeiro. Interciencias FINEP.
- Fernandes AS 2010. Taxonomia de Elmidae (Insecta, Coleoptera) no Município de Presidente Figueiredo, Amazonas. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Amazonas, 125pp.
- Ferreira RL, Martins VM, Paixão EA & Souza-Silva MS 2015. Spatial and temporal fluctuations of the abundance of Neotropical cave-dwelling moth *Hypena* sp. (Noctuidae, Lepidoptera) influenced by temperature and humidity. *Subterranean Biology*. *16*: 47-60.
- Fiser C, Konec M, Kobe Z, Osanic M, Gruden P, Potocnik H 2010. Conservation problems with hypohelminthic *Niphargus* species (Amphipoda: Niphargidae). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* *20*: 602–604. doi: 10.1002/aqc.1119
- Gibert J, Danielopol DL & Stanford JA 1994. *Groundwater Ecology*, Academic Press, United States of America.
- Gunn J 1983. Point-recharge of limestone aquifers – A model from New Zealand Karst. *Journal of Hydrology*. *61*: 19-29.
- Gurski FA, Pinha GD, Moretto Y, Takeda AM & Bueno NC 2014. Effect of habitat heterogeneity in the composition and distribution of Chironomidae (Diptera) assemblage in different microhabitats of preserved streams in the Brazilian Atlantic Forest. *Acta Limnologica Brasiliensia*. *26*(2): 163-175.
- Hamada N, Nessimian JL & Querino RB 2014. Insetos aquáticos na Amazônia brasileira: taxonomia, biologia e ecologia. Manaus : Editora do INPA. 724 p.
- Hart DD & Finelli CM 1999. Physical-biological coupling in streams: the pervasive effects of flow on benthic organisms. *Annual Review of Ecology and Systematics* **30**:363-395.
- Hood GA & Larson DG 2014. Beaver-Created Habitat Heterogeneity Influences Aquatic Invertebrates Assemblages in Boreal Canada. *Wetlands*. *34*: 19-29. doi: 10.1007/s13157-013-0476-z

- Hughes RM & Peck DV 2008. Acquiring data for large aquatic resource surveys: the art of compromise among science, logistics, and reality. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 27(4): 837–859. DOI: 10.1899/08-028.1
- Kestrup A & Ricciardi A 2010. Influence of conductivity on life history traits of exotic and native amphipods in the St. Lawrence River. *Fundam. Appl. Limnol., Arch. Hydrobiol.* 176(3): 249-262.
- Kohler S 1985. Identification of stream drift mechanisms: an experimental and observational approach. *Ecology* 66:1749-1761.
- Manzo V 2005. Key to the South America genera of Elmidae (Insecta: Coleoptera) with distributional data. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 40(3): 201- 208
- McCune B & Grace JB 2002. Analysis of ecological communities. In: MjM Software Design. Gleneden Beach, Oregon.
- Merritt RW, Cummins KW & Berg MB 2008. An Introduction to the Aquatic Insects of North American. 4th edition. Kendal: Hunt Publishing Company. 1158p.
- Michat MC, Archangelsky M, Bachmann AO 2008. Generic keys for the identification of larval Dytiscidae from Argentina (Coleoptera: Adephaga). *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 67(3-4): 17-36
- Miller TE 1996. Geologic and Hydrologic controls on karst and cave development in Belize. *Journal of Cave and Karst Studies.* 58(2): 100-120.
- Moseley M 2009. Are all caves ecotones? *Cave and Karst Science.* 36(2): 53-58.
- Mugnai R, Nessimian JI & Baptista Df 2010. Manual de Identificação de Macroinvertebrados Aquáticos do Estado do Rio de Janeiro. Technical Books. 1ª Edição, 174 p.
- Nakamura F & Swanson F 2003. Dynamics of wood in rivers in the context of ecological disturbance. Pages 279 - 297. In: Gregory S, Boyer K & Gurnell A, editors. *The Ecology and Management of Wood in World Rivers.* American Fisheries Society, Symposium 37, Bethesda, Maryland.
- Olifiers MH, Dorvillé LFM, Nessimian JL & Hamada N 2004. A key to Brazilian genera of Plecoptera (Insecta) based on nymphs. *Zootaxa*, 651: 1-15.
- Palmer MA, Menninger HL & Bernhardt E 2010. River restoration, habitat heterogeneity and biodiversity: a failure of theory or practice. *Freshwater Biology.* 55(Suppl. 1): 205-222.
- Peck DV, Herlihy AT, Hill BH, Hughes RM, Kaufmann PR, Klemm DJ, Lazorchak JM, McCormick FH, Peterson SA, Ringold PL, Magee T & Cappaert M 2006. Environmental Monitoring and Assessment Program-Surface Waters Western Pilot Study: Field Operations Manual for Wadeable Streams. EPA/620/R-06/003. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Washington, D.C.

- Prous X, Ferreira RL & Martins RP 2004. Ecotone delimitation: epigeal-hypogean transition in cave ecosystems. *Austral Ecology* 29: 374-382.
- Prous X, Ferreira RL & Jacobi CM 2015. The entrance as a complex ecotone in a Neotropical cave. *International Journal of Speleology*. 44(2) 177-189. doi.org/10.5038/1827-806X.44.2.7
- Rodrigues SG, Bueno AAP & Ferreira RL 2012. The first hypohelminth Amphipoda (Dogielinotidae: Hyalella) from South America. *ZooKeys* (Print). 236: 65-80.
- Romero A 2009. *Cave Biology*. Cambridge University Press, New York, 319 pp.
- Salles FF, Da-Silva ER, Serrão JE & Francischetti CN 2004. Baetidae (Ephemeroptera) na Região Sudeste do Brasil: Novos registros e chave para os gêneros em estágio ninfal. *Neotropical Entomology*, 33(5): 725-735.
- Sanseverino AM & Nessimian JL 2001. Hábitats de larvas de Chironomidae (Insecta, Diptera) em riachos de Mata Atlântica no Estado do Rio de Janeiro. *Acta Limnologica Brasileira*. 13: 29-38.
- Sarbu SM, Kane TC & Kinkle BK 1996. A Chemoautotrophically Based Cave Ecosystem. *Science*. 272(5270): 1953-1955. DOI: 10.1126/science.272.5270.1953
- Segura MO, Valente-Neto F & Fonseca-Gessner AA 2011. Family level key to aquatic Coleoptera (Insecta) of Sao Paulo State, Brazil. *Biota Neotrop*. 11(1):
- Simon KS, & Benfield EF 2001. Leaf and wood breakdown in cave streams. *Journal of the North American Benthological Society*. 20: 550-563.
- Simon KS, Benfield EF & Macko SA 2003. Food web structure and the role of epilithic biofilms in cave streams. *Ecology*. 84: 2395-2406.
- Simões MH, Souza-Silva M & Ferreira RL 2015. Cave physical attributes influencing the structure of terrestrial invertebrates communities in Neotropics. *Subterranean Biology*. 16: 103-121.
- Souza-Silva M, Martins RP & Ferreira RL 2011. Cave lithology determining the structure of the invertebrate communities in the Brazilian Atlantic Rain Forest. *Biodivers. Conserv*. 20: 1713-1729.
- Souza-Silva M, Júnior AS, Ferreira RL 2013. Food resource availability in a quartzite cave in the Brazilian montane Atlantic Forest. *Journal of Cave and Karst Studies*. 75(3): 177-188.
- Studinski JM & Grubbs SA 2007. Environmental factors affecting the distribution of aquatic invertebrates in temporary ponds in Mammoth Cave National Park, Kentucky, USA. *Hydrobiologia*. 575: 211-220. DOI 10.1007/s10750-006-0368-9
- Sutcliffe DW 1984. Quantitative aspects of oxygen uptake by *Gammarus* (Crustacea, Amphipoda) - a critical review. *Freshwat. Biol*. 14: 443-489.

- Taylor ELS & Ferreira RL 2012. Determinants on the structure of an aquatic invertebrate community in a Neotropical limestone cave. *Revista Brasileira de Espeleologia*. 2(1): 1-12.
- Tobin BW, Hutchins BT & Schwartz BF 2013. Spatial and temporal changes in invertebrate assemblage structure from the entrance to deep-cave zone of a temperate marble cave. *International Journal of Speleology* 42(3): 203-214. Tampa, FL (USA) ISSN 0392-6672
- Turner MG 1989. Landscape ecology: the effect of pattern on process. *Annual review of ecology and systematics*. 20: 171-197.
- Walshe BM 1947. The oxygen requirements and thermal resistance of chironomid larvae from flowing and from still Waters.
- Watson TN 2010. The structuring of aquatic macroinvertebrate communities within cave streams. A thesis submitted in partial fulfillment for the degree of Master of Science in Ecology at the University of Canterbury, Christchurch, New Zealand, 111 pp.
- Wood PJ & Armitage PD 1997. Biological Effects of Fine Sediment in the Lotic Environment. *Environmental Management*. 21(2): 203-217.
- Wood PJ, Gunn J & Rundle SD 2008. Response of benthic cave invertebrates to organic pollution events. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*. 18: 909-922.

## APPENDIX 1: Genera list found in each sampled cave. "To be continued"

TAXON	Toca Cave	Mandembe Cave	Serra Grande Cave
<b>COLEOPTERA</b>			
<b>Dytiscidae</b>			
<i>Bidessonotus</i> spp.	0	2	0
<i>Copelatus</i> spp.	3	0	0
<i>Laccophilus</i> spp.	1	0	0
<b>Elmidae</b>			
<i>Austrolimnius</i> spp.	0	5	3
<i>Gyrelmis</i> spp.	2	2	1
<i>Heterelmis</i> spp.	4	0	11
<i>Hexacylloepus</i> spp.	9	0	0
<i>Macrelmis</i> spp.	0	24	1
<i>Neelmis</i> spp.	1	4	4
<i>Phanocerus</i> spp.	0	2	0
<i>Xenelmis</i> spp.	1	0	0
<b>Hydrochidae</b>			
<i>Hydrochus</i> spp.	0	0	1
<b>Scirtidae</b>			
<i>Scirtes</i> spp.	1	0	0
<b>Staphylinidae</b>			
<i>Tachypaninae</i> spp.	3	0	0
<b>DIPTERA</b>			
<b>Ceratopogonidae</b>			
<i>Atrichopogon</i> spp.	0	1	0
<i>Bezzia</i> spp.	0	4	1
<i>Forcipomyia</i> spp.	0	1	0
<b>Chironomidae</b>			
<i>Chironomidae gen. nov.</i>	0	0	3
<i>Ablabesmyia</i> spp.	0	2	1
<i>Caladomyia</i> spp.	2	11	3
<i>Corynoneura</i> spp.	0	1	0
<i>Endotribelos</i> spp.	7	9	0
<i>Larsia</i> spp.	0	1	0

## APPENDIX 1: Genera list found in each sampled cave. “To be continued”

<b>TAXON</b>	<b>Toca Cave</b>	<b>Mandembe Cave</b>	<b>Serra Grande Cave</b>
<i>Lopescladius</i> spp.	0	0	1
<i>Onconeura</i> spp.	0	1	0
<i>Parametrioctenus</i> spp.	1	3	2
<i>Pentaneura</i> spp.	0	6	0
<i>Stempellinella</i> spp.	0	1	0
<i>Stenochironomus</i> spp.	1	1	1
<i>Tanytarsus</i> spp.	8	38	3
<i>Thienemanniella</i> spp.	0	3	0
<i>Zavreliella</i> spp.	0	5	1
<b>Simuliidae</b>			
<i>Simulium</i> spp.	0	189	2
<b>Tipulidae</b>			
Tipulidae spp.	0	2	0
<b>EPHEMEROPTERA</b>			
<b>Baetidae</b>			
<i>Cloeodes</i> spp.	0	3	5
<i>Waltzoyphius</i> spp.	0	1	0
<i>Zelus</i> spp.	0	1	2
<b>Leptophlebiidae</b>			
<i>Askola</i> spp.	0	0	1
<i>Hagenulopsis</i> spp.	0	0	2
<i>Miroculis</i> spp.	0	1	0
<b>HEMIPTERA</b>			
<b>Gerridae</b>			
<i>Trepobates</i> spp.	0	2	0
<b>Naucoridae</b>			
<i>Limnocoris</i> spp.	0	1	0
<b>MEGALOPTERA</b>			
<b>Corydalidae</b>			
<i>Corydalus</i> spp.	0	1	1
<b>Odonata</b>			
<b>Calopterygidae</b>			



APPENDIX 1: Genera list found in each sampled cave. “To be continued”

TAXON	Toca Cave	Mandembe Cave	Serra Grande Cave
Calopterygidae spp.	0	4	0
<b>Coenagrionidae</b>			
<i>Argia</i> spp.	6	32	1
<b>Libellulidae</b>			
<i>Libellula</i> spp.	1	0	0
<b>PLECOPTERA</b>			
<b>Gripopterygidae</b>			
<i>Tupiperla</i> spp.	0	1	0
<b>Perlidae</b>			
<i>Anacroneuria</i> spp.	2	0	0
<i>Macrogynoplax</i> spp.	0	0	1
<b>TRICHOPTERA</b>			
<b>Calamoceratidae</b>			
<i>Phylloicus</i> spp.	1	0	1
<b>Helicopsychidae</b>			
<i>Helichopsyche</i> spp.	0	2	0
<b>Hydrobiosidae</b>			
<i>Atopsyche</i> spp.	0	2	0
<b>Hydropsychidae</b>			
<i>Anacroneuria</i> spp.	1	0	0
<i>Leptonema</i> spp.	3	0	0
<i>Macrostemum</i> spp.	0	1	0
<i>Smicridea</i> spp.	1	0	0
<b>Hydroptilidae</b>			
<i>Alisotrichia</i> spp.	0	5	0
<i>Neotrichia</i> spp.	0	9	5
<b>Leptoceridae</b>			
<i>Nectopsyche</i> spp.	0	1	0
<i>Oecetis</i> spp.	0	0	3
<b>Odontoceridae</b>			
<i>Barypenthus</i> spp.	0	1	0

## APPENDIX 1: Genera list found in each sampled cave. "Conclusion"

<b>TAXON</b>	<b>Toca Cave</b>	<b>Mandembe Cave</b>	<b>Serra Grande Cave</b>
<b>Polycentropodidae</b>			
<i>Polycentropus spp.</i>	1	0	2
<b>Total Abundance</b>	<b>60</b>	<b>386</b>	<b>63</b>

**ARTIGO II**

**RESILIÊNCIA DE COMUNIDADES BENTÔNICAS EM RIOS  
SUBTERRÂNEOS ALOGÊNICOS: SISTEMAS HIPERDINÂMICOS?**

**Thais Giovannini Pellegrini<sup>1,3</sup>, Lucas Del Bianco Faria<sup>2,3</sup>, Rodrigo Lopes  
Ferreira<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup> CEBS, Centro de Estudos em Biologia Subterrânea - UFLA. E-mail:  
thais.g.pellegrini@gmail.com

<sup>2</sup> Laboratório de Ecologia e Complexidade - UFLA.

<sup>3</sup> Universidade Federal de Lavras. Campus Universitário UFLA – CEP: 37200-  
000. Lavras – MG, Brasil.

O manuscrito foi redigido conforme as normas da revista científica

*Hydrobiologia*, ISSN: 0018-8158, (versão preliminar).

## RESUMO

Contrariamente à realidade de sistemas de superfície, sistemas cavernícolas apresentam alta estabilidade de variáveis ambientais, o que reflete nas comunidades associadas. Assim, hipoteticamente, comunidades bentônicas associadas a riachos subterrâneos alogênicos, apresentariam maior estabilidade ao longo do tempo. A partir dessa hipótese, foram estudados três riachos alogênicos subterrâneos. Um dos objetivos foi determinar possíveis variações na diversidade beta temporal de insetos aquáticos subterrâneos e suas relações com os índices pluviométricos da região (que determinam o regime de vazões em riachos). Além disso, buscou-se compreender as eventuais relações entre a estabilidade das comunidades e as variações de parâmetros ambientais dos riachos. Por fim, avaliou-se os processos de colonização da comunidade de insetos aquáticos frente a um distúrbio experimental. Os insetos aquáticos de três riachos subterrâneos foi amostrada mensalmente ao longo de um ano, concomitantemente à determinação de parâmetros ambientais (pluviosidade, variáveis de substrato, hidrológicas, morfologia do canal e de qualidade de água). Além disso, um distúrbio experimental foi causado no trecho médio de cada riacho, por meio da adição de pellets de cloro. Contrariando a hipótese inicial, as comunidades associadas aos riachos subterrâneos testados apresentam padrão de alta instabilidade ao longo do tempo. Adicionalmente, os maiores valores de diversidade beta temporal coincidem com os períodos de maiores vazões dos riachos. Relações entre mudanças em condições ambientais e instabilidades de comunidades foram evidentes somente com relação à variações de parâmetros de substrato em dois dos três riachos subterrâneos em estudo. Por fim, não foi possível detectar mudanças nos padrões da comunidade em função do distúrbio experimental. Neste caso, o “*turnover*” de espécies decorrente de processos naturais, foi similar àqueles causados nos eventos de defaunação. Frente a estes padrões observados no presente estudo, propõe-se que riachos subterrâneos alogênicos possuem características de sistemas hiperdinâmicos, marcados por constantes extinções e novas colonizações, e um alto “*turnover*” temporal de espécies.

**Palavras-chave:** Insetos aquáticos, riacho subterrâneo, variação temporal, diversidade beta, fauna bentônica.

## INTRODUÇÃO

Sistemas aquáticos lóticos são tidos como ambientes altamente dinâmicos, marcados por constantes eventos desestabilizadores, principalmente pelo efeito de pulsos de inundação (Resh et al. 1988). Com isso, a organização de comunidades aquáticas ocorre em função de variabilidade temporal e espacial do sistema no qual se insere (Townsend et al. 1997; Scarsbrook, 2002). Assim, tais comunidades podem ser altamente instáveis, principalmente considerando-se pequenas escalas temporais. Dessa forma, as características ambientais de um ecossistema influenciam diretamente a comunidade, podendo aumentar ou reduzir sua resistência ou alterar a taxa de recuperação pós-distúrbio (resiliência) (Peterson & Stevenson, 1992).

Por outro lado, sistemas subterrâneos são tidos como altamente estáveis, em função de suas condições ambientais peculiares, como ausência permanente de luz, umidade elevada e temperaturas estáveis (Culver, 1982). Com isso, é esperado que esta estabilidade se reflita na estruturação de comunidades de invertebrados que se associam a estes ambientes (Ward & Palmer, 1994; Ferreira & Martins, 1998), uma vez que as mesmas, não seriam tão afetadas por mudanças sazonais externas. Tais mudanças frequentemente determinam padrões de riqueza, abundância e diversidade, bem evidentes em comunidades epígeas (de superfície) (Chainho et al. 2007). No entanto, embora as cavernas se configurem como sistemas mais estáveis que os de superfície, as comunidades a elas associadas, não são estáticas, e o suposto baixo dinamismo das comunidades cavernícolas não são uma regra (Tobin et al. 2013). Embora estes sistemas sejam estáveis, o nível desta estabilidade está diretamente relacionado ao grau de conectividade do sistema subterrâneo com o ambiente externo (epígeo) (Ferreira, 2004). Cavernas pequenas, de entradas amplas e com um maior número de entradas, são menos estáveis do que cavernas que possuem maior grau de isolamento (Ferreira, 2004; Bento et al. *no prelo*; Pellegrini et al.

2016). O mesmo princípio se aplica aos sistemas aquáticos subterrâneos, que são progressivamente mais variáveis, de acordo com o quão conectados estão com a superfície (Gibert et al. 1994).

Variações temporais na diversidade (ou “*turnover*” de espécies) em ambientes aquáticos, são ditadas simultaneamente por uma série de fatores ecológicos, físicos e geográficos (Korhonen et al. 2010). No entanto, este “*turnover*” tende a diminuir à medida que se aumenta a escala temporal do estudo, já que fatores sazonais refletem em mudanças nas comunidades, estando mais evidentes em estudos conduzidos ao longo de um único ano, do que em estudos mais prolongados (Korhonen et al. 2010). Além disso, os autores previamente citados, constataram que o “*turnover*” é menor em ecossistemas maiores. Ao compararem oceanos, lagos e sistemas lóticos, eles verificaram que oceanos possuem maior estabilidade de parâmetros físico-químicos e menores gradientes ambientais, o que se reflete em maior estabilidade da comunidade (Korhonen et al. 2010). A escala geográfica é outro parâmetro importante na determinação desse dinamismo. Os trópicos apresentam as maiores taxas de “*turnover*” de espécies em escalas temporais menores, e o padrão encontrado se deve, em grande parte, à grande entrada de energia solar em baixas latitudes (Korhonen et al. 2010). Esta alta energia se traduz pelas altas temperaturas, acelerando as taxas metabólicas dos organismos, que consequentemente, afetam seus ciclos de vida, tornando-os mais curtos e dinâmicos (Brown et al. 2004). No entanto, ao considerar escalas temporais maiores, o “*turnover*” é mais rápido em maiores latitudes. A razão para esta diferença de acordo com a escala temporal, ainda é especulativa, mas provavelmente resultam da interação entre dois fatores, variações na entrada de energia no sistema e o fato das mudanças temporais em ecossistemas temperados serem mais drásticas (Korhonen et al. 2010). Assumindo que as taxas de entrada de energia podem ditar padrões da diversidade beta temporal de comunidades, poder-se-ia esperar menores taxas de

“*turnover*” em locais de menor energia, como é o caso das cavernas, que são locais de total ausência de energia solar e conseqüentemente, não existe produção primária por fotossíntese.

Assumindo os mecanismos explicativos acima, referentes aos padrões de diversidade beta temporal, o presente estudo buscou investigar a hipótese de que, apesar de diversos trabalhos indicarem a alta instabilidade nas comunidades associadas a sistemas aquáticos lóticos, espera-se que comunidades de riachos subterrâneos apresentem padrões de maiores estabilidades ao longo do tempo. A partir dessa hipótese, buscou-se verificar *i*) a existência de variações no padrão de diversidade beta temporal total, bem como a importância relativa dos elementos ( $\alpha$ ,  $\beta_1$  e  $\beta_2$ ) dessa diversidade beta; *ii*) determinar se existe relação entre os valores de diversidade beta temporal em relação aos índices pluviométricos da região de estudo; *iii*) avaliar se existe relação entre mudanças na composição de espécies das comunidades e a estabilidade de parâmetros ambientais; por fim, *iv*) determinar, a partir de uma experimentação em campo de defaunação, como decorrem processos de colonização.

## **METODOLOGIA**

### Local de estudo

O estudo foi conduzido em três rios subterrâneos, localizados em cavernas quartzíticas independentes. Todas apresentam rios alogênicos, que são aqueles que percorrem a superfície e depois acessam o ambiente subterrâneo (Miller 1996). As cavernas se encontram na região sul de Minas Gerais, sendo elas a Gruta do Mandembe (S 21°32'3810" e W 44°47'5730") e a Gruta Serra Grande (S 21°33'3350" e W 44°49'1070"), ambas localizadas no município de Luminárias e a Gruta da Toca (S 21°28'2400" e W 44°40'0200"), localizada no município de Carrancas. As regiões nas quais se inserem, compreendem áreas de vegetação de transição entre os biomas Cerrado e Mata Atlântica, sendo então

caracterizadas como campos limpos com entaves de matas ciliares nos talvegues (onde se inserem as cavernas).

#### Variáveis ambientais

Embora tenham sido obtidos os valores da vazão dos riachos em cada evento amostral, estes não refletem as flutuações da vazão que ocorrem entre os períodos amostrados. Com isso, a fim de se obter valores que refletissem mudanças nos padrões de vazão entre eventos amostrais, utilizou-se os dados de pluviosidade regional (obtidos da Agência Nacional de Águas - ANA). Estes dados foram utilizados como uma inferência indireta às flutuações no regime de vazão para cada riacho. A partir dos dados históricos diários das estações de Luminárias e de Carrancas dos anos de 2013 e 2014, calculou-se a pluviosidade média 30, 15 e 5 dias anteriores aos 11 eventos amostrais em cada caverna em estudo. Além disso, obteve-se a pluviosidade máxima nos 30 dias anteriores a cada evento de coleta.

Os dados de qualidade de água foram mensurados mensalmente em cada um dos rios subterrâneos, antes de se realizar qualquer amostragem biológica ou física de cada riacho. Mediu-se o oxigênio dissolvido, condutividade, pH, turbidez e temperatura, em transectos dispostos ao longo de trechos de 100 metros. Os transectos dispunham-se transversalmente ao longo do eixo longitudinal do rio, a uma distância mínima de 10 metros um do outro. Tais medidas foram realizadas com o auxílio de uma sonda multiparâmetro, HORIBA U-50.

A avaliação dos parâmetros físicos do rio também foi realizada mensalmente ao longo dos 11 transectos por meio de protocolos em campo, modificados a partir da metodologia de Peck et al. (2006), e Hughes & Peck (2008). Nos espaços entre transectos, estão as seções, que totalizaram 10, nas quais foram realizadas: *i*) a caracterização com 10 medidas longitudinais equidistantes da profundidade do talvegue; *ii*) quantificação da presença de



sedimentos finos, além da quantificação visual de barras de canal, remansos, canais laterais, e tipo de canal (poço, fluxo suave, corredeira, cascata ou canal seco); *iii*) determinação da declividade do canal (medida com tubo plástico flexível), e *iv*) sinuosidade (medida com bússola). Foram reportadas, ainda, a presença de pedaços madeira e folhiços no canal.

Em cada um dos onze transectos, mediu-se a largura do canal e, no mesmo transecto, ao longo de cinco pontos equidistantes, mediu-se a profundidade. Foi estimado, visualmente, o tipo de substrato presente (rocha matriz, matacão largo, matacão, bloco, cascalho grosso, cascalho fino, areia, silte, argila, hardpan, madeira, raízes e folhiços). Tais medidas de largura e profundidade foram importantes para se obter a área molhada de cada ponto. A vazão do riacho foi calculada a partir do tempo que um objeto flutuante levava para percorrer determinado trecho (tal medida foi realizada três vezes e posteriormente obteve-se um tempo médio). Ao se determinar a área molhada (A) de cada ponto e a vazão do riacho (Q), foi possível obter a velocidade de correnteza (V) de cada ponto, através da fórmula:  $V = Q/A$ .

Os dados físicos dos rios subterrâneos foram separados em variáveis hidrológicas e de morfologia do canal, da qual vaziam parte: a área molhada, profundidade do canal, velocidade da correnteza, ângulo da margem e declividade. Outro grupo de variáveis, foram as de substrato, das quais faziam parte: porcentagem de substratos finos, porcentagem de rocha, porcentagem de cascalhos, tamanho de substratos e disponibilidade de abrigos para os insetos aquáticos.

#### Coleta de insetos aquáticos

A fim de se realizar o levantamento dos insetos aquáticos, foi feita a amostragem nos mesmos 11 transectos, correspondentes aos de caracterização físico-química do riacho. A coleta dos insetos se deu por meio de três réplicas em cada um dos transectos, realizada com o auxílio de rede de *surber*, esta

possui área amostral equivalente a 400 cm<sup>2</sup>, malha de 250 µm. Os espécimes coletados foram alocados em potes etiquetados (informações da caverna, ponto de coleta e data), contendo álcool 96%. Cada ponto de coleta foi demarcado com fitas, possibilitando que o procedimento de coleta se repetisse mensalmente ao longo de um ano de estudos, nos mesmos pontos amostrais. Somente entre a primeira e segunda coleta, houve uma distância temporal maior, de cerca de dois meses. Com isso, totalizou-se 11 eventos amostrais em cada um dos rios subterrâneos.

Os espécimes coletados foram identificados em laboratório ao menor nível taxonômico possível (sendo a maior parte deles ao nível de gênero), usando um estereomicroscópio (STEMI 2000) e seguindo listas taxonômicas de identificação de espécies (Elson-Harris, 1990; Merritt et al. 2008; Benetti et al. 2003; Olifiers et al. 2004; Salles et al. 2004; Manzo 2005; Michat et al. 2008; Segura et al. 2011; Hamada et al. 2014). Em preparação para as análises, a planilha de dados foi padronizada ao nível de gênero, sendo que foram raros os táxons agrupados em níveis taxonômicos mais elevados.

#### *Distúrbio experimental*

Antes de qualquer teste de defaunação, foi realizada uma coleta em cada uma das cavernas. Com isso, foi possível assegurar que as cavernas do estudo não possuíam populações de organismos endêmicos ou estigóbios compondo a comunidade cavernícola, que poderiam ser impactadas pelo distúrbio provocado. A fim de se causar um distúrbio que levasse à defaunação em parte das comunidades em estudo, de forma que o mesmo não impactasse toda a comunidade associada aos trechos dos riachos localizados à jusante de cada caverna, foram colocadas pastilhas de 200gr de Cloro (HCl), em cada um dos riachos subterrâneos em estudo. O cloro é um composto volátil, principalmente quando exposto a maiores temperaturas. Portanto, o cloro permitia a mortandade dos insetos aquáticos no interior das cavernas, sendo que, ao ser lixiviado para

fora destas, iria se volatilizar naturalmente, evitando assim, maiores impactos nas comunidades situadas à jusante dos riachos em estudo. Cada caverna recebeu uma quantidade de Cloro proporcional à vazão do riacho. Para determinar a quantidade a ser incorporada às cavernas, foram realizados cálculos de proporção, de acordo com a quantidade recomendada para ser colocada em piscinas. Com isso, foram colocadas 4 quilos de cloro na Gruta Mandembe, 6,4 quilos na Gruta Serra Grande e 1,2 quilos na Gruta da Toca. O distúrbio foi causado dois meses após a primeira amostragem nos riachos. As pastilhas de Cloro foram alocadas no sexto ponto de coleta, e permaneceram no local por sete dias consecutivos. Com isso, os seis pontos a jusante do cloro, foram considerados os pontos experimentais e os cinco pontos a montante, foram considerados os pontos controle, que não estavam sob o efeito do cloro (licença SISBIO – nº 37894-2).

#### Análises de dados

##### 1. Esforço de coleta e diversidade das cavernas

Primeiramente, avaliou-se a efetividade do desenho amostral utilizado através de curvas de acumulação de espécies, baseadas no número de amostras em cada uma das cavernas em estudo. As curvas de acumulação foram obtidas utilizando-se os programas ESTIMATES v.9.1 e SIGMAPLOT v. 10.0 (Colwell, 2013).

##### 2. Partição temporal da diversidade-beta e sua relação com dados de pluviosidade

Para determinar a variação na composição de espécies das assembleias de insetos aquáticos, foi calculada a diversidade beta temporal dos três rios subterrâneos. A diversidade beta pode resultar da substituição de espécies (*turnover*) ou da perda ou adição de espécies (aninhamento), sendo possível acessar a contribuição de cada um desses processos através de análises de partição da diversidade beta (Baselga & Orme, 2012). Para determinar os

padrões dessas diferenças temporais nas assembleias de insetos aquáticos cavernícolas por *turnover* e aninhamento, foi utilizada a função BETA.TEMP do pacote BETAPART, através do programa R versão 3.2.4, (R Development Core Team. 2016). Tal pacote utiliza o índice dissimilaridade de “*Sørensen*” para acessar o turnover de espécies, e o índice de “*Jaccard*” para determinar o aninhamento (Baselga & Orme, 2012).

Para investigar o efeito da pluviosidade na diversidade beta temporal das comunidades, foram consideradas como variáveis explanatórias: *i*) pluviosidade média nos 30 dias anteriores ao evento amostral, *ii*) nos 15 dias anteriores, *iii*) nos 5 dias anteriores e *iv*) a pluviosidade máxima dos últimos 30 dias; sendo utilizada a caverna (Mandembe, Serra Grande ou Gruta da Toca) como variável fixa. Antes de realizar as análises, foi testada a normalidade da variável resposta por meio da função SHAPIRO.TESTE do pacote STATS. Em seguida, foi feita análise de correlação entre as variáveis explanatórias por meio da função CHART.CORRELATION pelo método de “*spearman*” do pacote PERFORMANCE ANALYTICS. Utilizou-se a diversidade beta temporal considerando-se cada evento de coleta em cada caverna como uma unidade amostral, tendo sido realizado o GLMM (*Generalised Linear Mixed Models*), utilizando-se a função LMER do pacote LME4, uma vez que a distribuição dos dados foi normal. Em seguida, construímos modelos de GLMM, alternando as variáveis explanatórias correlacionadas. Para determinar quais dos modelos construídos (alternando as variáveis explanatórias correlacionadas), explicaria melhor mudanças da variável resposta, utilizou-se uma abordagem teórica dos dados por meio do critério de AICc (*Akaike Information Criterion of Second Order*), função MODEL.SEL do pacote MUMIN. Foi utilizada a função DREDGE do pacote MUMIN para testar todas as combinações possíveis das variáveis incluídas no modelo global. Para determinar quais das combinações geradas, dentre as variáveis explanatórias, foram as mais importantes na determinação da diversidade beta

temporal, utilizou-se mais uma vez o critério de AICc, função MODEL.SEL do pacote MUMIN. Todas as análises foram conduzidas através do programa R, versão 3.2.4.

### 3. Relações entre mudanças na comunidade e a estabilidade ambiental

Primeiramente, para análises de estabilidade temporal da comunidade, foram retirados os táxons raros (*singletons* e *doubletons*), uma vez que estes podem afetar significativamente as medidas de estabilidade (Cao et al. 1998).

Para avaliar se a estabilidade das comunidades está relacionada à estabilidade ambiental dos rios subterrâneos, utilizou-se a metodologia proposta por Scarsbrook (2002). Primeiramente avaliou-se as mudanças na estabilidade temporal das variáveis ambientais. A similaridade entre os pontos de coleta, ao longo do período amostral, foi determinada, para cada um dos três grupos de variáveis (dados hidrológicos e de morfologia do canal, dados de substrato e dados de qualidade da água), pelo cálculo da distância euclidiana, utilizando-se o programa PRIMER 6.0. Anteriormente ao cálculo, os dados foram relativizados pelo valor máximo de cada variável, que obtiveram valores entre 0 e 1, uma vez que cada variável possui uma unidade amostral diferente. Tais análises permitiram acessar as diferenças ambientais existentes para cada ponto amostral no tempo 1, em relação ao mesmo ponto no tempo 2, e assim sucessivamente, ao longo das 11 coletas em cada uma das três cavernas.

Em seguida, as diferenças temporais entre os pontos em relação à similaridade de fauna foram determinadas por meio da distância de *Bray-curtis*, também foi obtida por meio do programa PRIMER 6.0. A relação entre as mudanças nas condições ambientais (distância euclidiana dos três grupos de variáveis, hidrologia e de morfologia do canal, substrato e qualidade da água) e mudanças na estrutura da comunidade (distância de *Bray-curtis*) foi estimada por meio de análises de correlação de *Spearman*. Tais procedimentos foram realizados por meio do programa STATISTICA 10.0.

#### 4. Experimentação em campo – teste de defaunação

Primeiramente, foi verificado se houve, de fato, a defaunação dos pontos experimentais através de mudanças na riqueza de espécies encontradas antes e pós-distúrbio. Para verificar se tais mudanças ocorreram em função do distúrbio experimental, os dados foram comparados com alterações na riqueza de gêneros nos pontos controle. Em seguida, foram construídos gráficos de dispersão através da função PLOT do pacote GRAPHICS do programa R, versão 3.2.4.

No intuito de avaliar a existência de processos de colonização após o distúrbio de defaunação, foram observadas as diferenças nos padrões de diversidade beta temporal. Uma vez que seria esperado inicialmente que tais processos eliminassem parte da fauna cavernícola, seria de se esperar que os pontos experimentais apresentassem maior “*turnover*”. Com isso, haveria a re-colonização de espécies em detrimento ao aninhamento. Para tal, foram utilizados os mesmos dados obtidos a partir das análises de partição da diversidade beta, em que foram discriminados os valores encontrados nos pontos controle e experimentais. Nestes gráficos, os valores de diversidade foram agrupados de acordo com o tipo de processo envolvido para gerar a diversidade beta (*turnover* ou aninhamento); e também pela data da coleta e localização do ponto de coleta, experimento ou controle.

Para verificar a resiliência ou resistência das comunidades frente ao distúrbio experimental, foram realizadas análises de similaridade dos gêneros encontrados nos diferentes tempos amostrais, em relação à primeira coleta. Tais análises foram realizadas separadamente para as sessões controles e experimentais, para cada caverna em estudo, por meio do índice de *Bray-Curtis*, através do programa PRIMER 6.0. Em seguida, foram construídos gráficos para representar a variação temporal da similaridade da fauna em relação ao primeiro evento amostral.

A fim de verificar se o efeito da defaunação causa uma maior dispersão dos dados nos pontos experimentais (como um indicador da efetividade do distúrbio causado na comunidade), foram realizadas análises de PERMDISP, através do programa PRIMER. Tais diferenças foram avaliadas por meio da dissimilaridade faunística dos pontos controle em relação aos pontos do experimento ao longo do tempo. Para tanto, adotou-se a metodologia proposta por Anderson et al. (2008) que consiste em: *i*) calcular a dissimilaridade entre os pontos ao longo do tempo, utilizando-se o índice de dissimilaridade de *Bray-Curtis*; *ii*) a partir da matriz de dissimilaridade gerada, foi feita uma análise de PCO (*Principal Coordinate Analysis*); *iii*) foram calculados os centroides, determinados a partir das medianas espaciais dos grupos (sendo o fator agrupador, a localização espacial dos pontos), usando todos os eixos do PCO obtidos; *iv*) calculou-se a distância euclidiana de cada ponto em relação ao centróide de seu grupo utilizando-se os eixos do PCO. Estes correspondem à dissimilaridade de cada ponto em relação ao centróide de seu grupo no espaço obtido através do índice de *Bray-Curtis*.

No intuito de se verificar eventuais diferenças nos padrões de dispersão dos dados entre os pontos controle e experimentais, foram construídos gráficos de *box plot*, seguidos de análises de *Mann-Whitney*, para verificar se existem diferenças significativas entre experimento e controle. Tais gráficos e análises foram construídos através do programa STATISTICA 10.0.

## **RESULTADOS**

### *1. Esforço de coleta e diversidade nas cavernas*

Foram coletados um total de 8.068 espécimes de insetos aquáticos, pertencentes a 150 gêneros, 64 famílias e nove ordens, que compreendem Coleoptera, Diptera, Ephemeroptera, Hemiptera, Lepidoptera, Megaloptera, Odonata, Plecoptera, e Trichoptera (ANEXOS 1, 2, 3). Somente na gruta do

Mandembe, foram 5.344 indivíduos e 116 gêneros encontrados ao longo de onze eventos amostrais, sendo esta, a caverna de maior riqueza e abundância. Estes valores representaram cerca de 77,3% do número total de gêneros e 66,2% do total de indivíduos coletados nas três cavernas. Já a gruta Serra Grande e gruta da Toca, apresentaram 83 gêneros cada, valor que corresponde a cerca de 55,3% do total encontrado. Com relação à abundância, na gruta Serra Grande foram encontrados 925 espécimes, e estes representam somente 11,5% do total de indivíduos, enquanto que na gruta da Toca foram observados 1.830 indivíduos, representando 22,7% do total de indivíduos encontrado no trabalho. O número médio de gêneros coletados por campanha foi de 51 na gruta Mandembe, 29,7 para a gruta Serra Grande e 31,8 para a gruta da Toca.

Em todas as cavernas, a ordem mais representativa foi Diptera, a qual totalizou 5.060 indivíduos coletados (cerca de 62,7% do total de organismos). Dentro dessa ordem, os Chironomidae foram os mais ricos e abundantes, com 3.870 indivíduos coletados, sendo que somente esta família representou quase 50% do total de indivíduos capturados. Estes organismos estão distribuídos entre as subfamílias Chironominae, Tanypodinae e Orthoclaadiinae, sendo notável a riqueza encontrada, 52 gêneros, cerca de 34,6% do total de gêneros.

Embora as curvas de acumulação de espécies tenham tendido a uma aparente estabilização, elas não atingiram a assíntota (Figura 1). Na gruta Mandembe foi amostrado cerca de 90,6% da riqueza estimada. Na gruta Serra Grande, cerca de 92,2% e na gruta da Toca 90,2%. As curvas de acumulação de espécies iniciaram a estabilização a partir do momento que o acréscimo de uma amostra representa menos do que uma espécie na riqueza da caverna. Na gruta Mandembe isto ocorreu por volta de 30 amostras coletadas, para a gruta Serra Grande 23 e para a gruta da Toca 25 amostras. Tais dados sugerem que a maior parte da assembleia de insetos aquáticos foi amostrada em cada caverna, embora toda a riqueza existente não tenha sido, de fato, acessada.



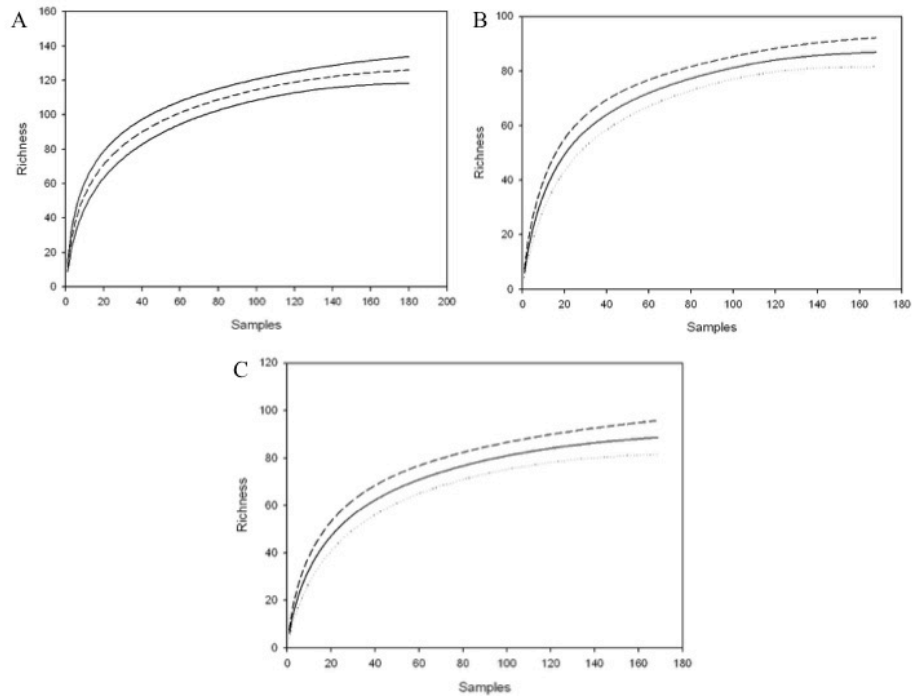


Figura 1: Curva de acumulação de espécies mostrando a riqueza encontrada a medida que se aumenta o número de amostras em A) Gruta do Mandembe; B) Gruta Serra Grande e C) Gruta da Toca.

## 2. Partição temporal da diversidade-beta e suas relações com os dados de pluviosidade

Foi observada uma alta diversidade beta da comunidade ao longo do tempo, sendo que estas foram mais marcadas pelo “*turnover*” de espécies do que pelo aninhamento (Figura 2). Este padrão foi observado nas três cavernas em estudo.

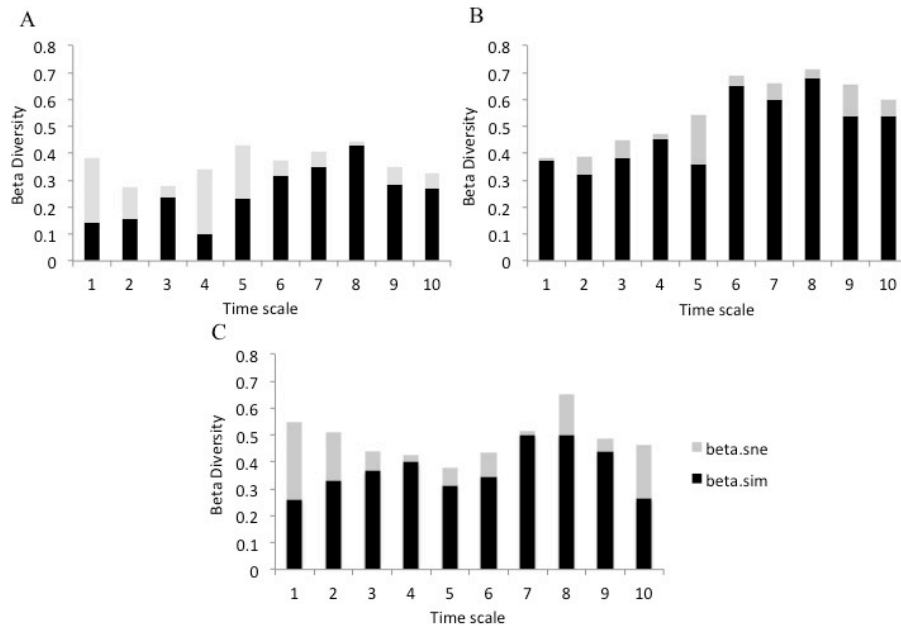


Figura 2: Partição da diversidade beta temporal, onde beta.sne = aninhamento; beta.sim = turnover. (A) Gruta Mandembe, (B) Gruta Serra Grande, (C) Gruta da Toca.

O melhor modelo gerado pelo GLMM mostra que a variação dos dados de diversidade beta temporal, é positivamente relacionada aos dados de pluviosidade diária média nos 30 dias que antecederam os eventos amostrais (Tabela 1). Tal fator é capaz de explicar cerca de 32% da variação dos dados de diversidade beta temporal.

Tabela 1: Resultados dos Modelos Lineares Mistos Generalizados (GLMM) para os efeitos da pluviosidade regional nos valores de diversidade beta temporal. É apresentado somente o melhor modelo explicativo da análise, que é aquele com o maior valor de AICc e menor delta. Os valores apresentados mostram o coeficiente da estimativa, erro padrão, valor de t, e valor de p.

	Estimate	Std. Error	t value	P (>t)
<b>lmer: Beta.total ~ 30.days.pluviosity + (1/cave)</b>				
Intercept	0.41	0.051	8.058	0.001
30.days.pluviosity	0.01	0.005	2.55	0.01

### 3. Relações entre mudanças na comunidade e a estabilidade ambiental

No que diz respeito à variação dos parâmetros ambientais, a gruta Mandembe foi a que apresentou maior estabilidade, embora tenha sido a caverna de maior instabilidade em relação à composição de sua comunidade. Com isso, nenhum dos três grupos de variáveis ambientais (hidráulicas e de morfologia do canal, substrato e de qualidade da água), se correlacionaram significativamente com diferenças na comunidade (*Bray-curtis*) nesta caverna. Dessa forma, as instabilidades apresentadas pela fauna associada à esta caverna, são independentes das instabilidades ambientais do rio subterrâneo.

Por outro lado, tanto para a gruta Serra Grande, quanto para a gruta da Toca o grupo de variáveis ambientais de substrato, se correlacionou significativamente e positivamente com variações da comunidade (Serra Grande:  $R_{Spearman} = 0.24$ ;  $p < 0.05$ ; Gruta da Toca:  $R_{Spearman} = 0.27$ ;  $p < 0.05$ ). Ou seja, as variações do substrato do leito do rio se refletem em maiores dissimilaridades encontradas na comunidade de insetos aquáticos ao longo do tempo (Figura 3). Os outros dois grupos de variáveis (hidráulicas e de morfologia do canal e de qualidade de água), não se correlacionaram com as diferenças na comunidade em ambas as cavernas.

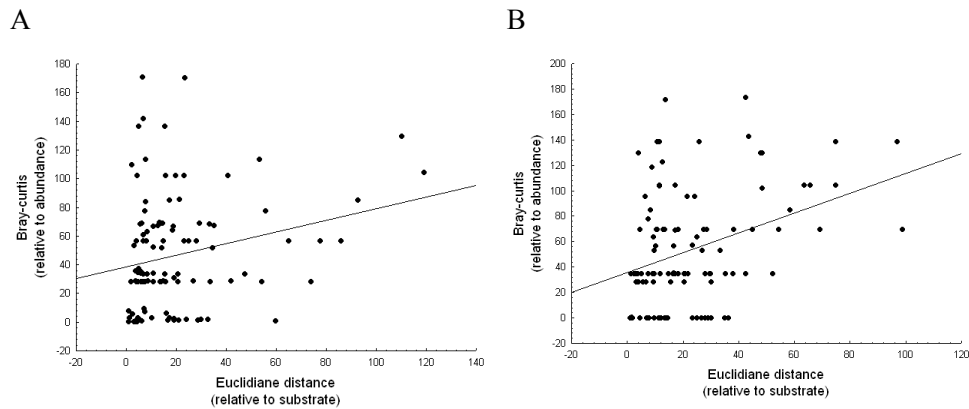


Figura 3: Diferenças mensais em cada ponto, de variáveis de substrato por distância euclidiana em relação a diferenças de similaridades mensais na composição da comunidade em cada ponto por distância de Bray-curtis; em a) relações para a Gruta Serra Grande; em b) relações para a Gruta da Toca.

#### 4. Experimentação em campo – teste de defaunação

Não foram evidenciadas diferenças no padrão de riqueza nos pontos controles e experimentais, comparando-se as amostragens pré e pós-distúrbio (Figura 4). Ainda que tenham sido avistados (em campo), organismos mortos e em decomposição na coleta logo após o distúrbio, houve um incremento na riqueza de gêneros logo após o experimento. No entanto, este mesmo padrão também ocorreu para os grupos controle, com uma progressiva diminuição na riqueza de gêneros ao longo do tempo.

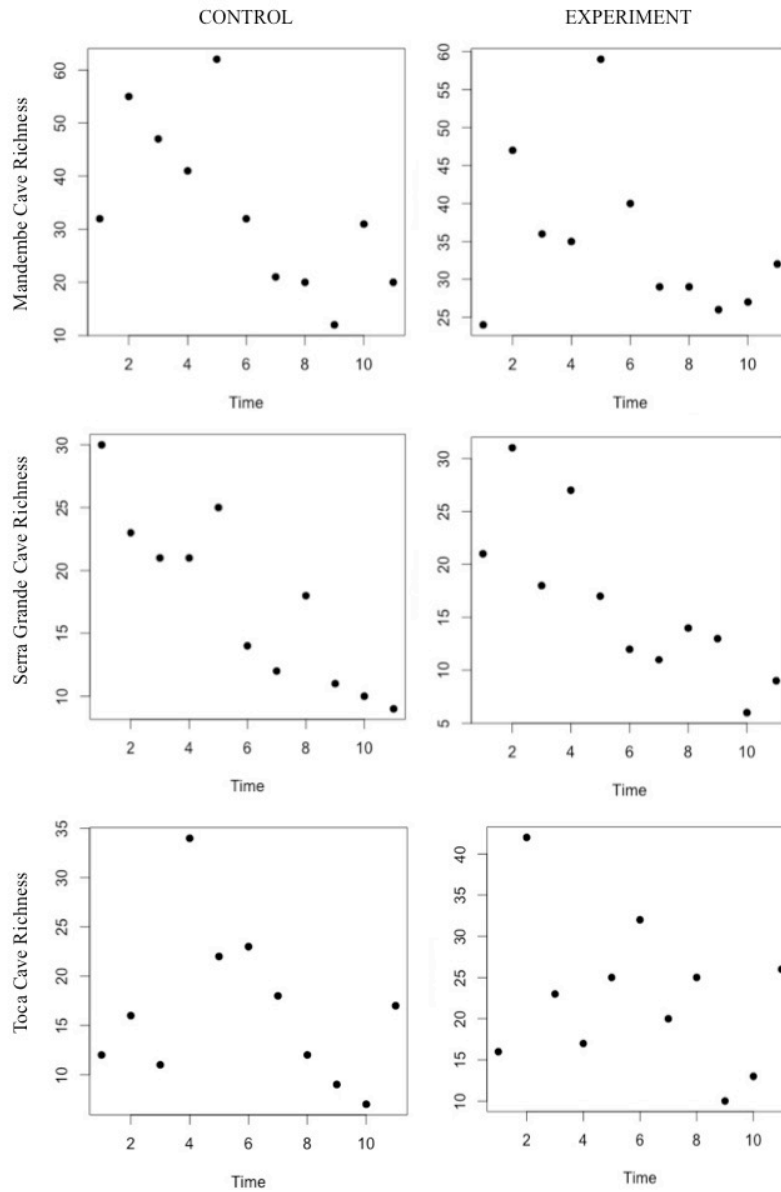


Figura 4: Riqueza de gêneros nos pontos controle e nos pontos experimentais ao longo do período de estudos para as três cavernas. O tempo “1” indica o período pré-distúrbio.

A partição da diversidade indicou claramente a existência de um alto “*turnover*” temporal de espécies nas três cavernas. A substituição de espécies

nesses riachos alogênicos foi muito mais representativa do que a adição ou perda de espécies (Figura 5). Não foram encontradas diferenças significativas de que houve um maior “turnover” ou perda de espécies nos rios subterrâneos, nos pontos que estavam sob o efeito do distúrbio (Figura 5). Além disso, também não foram observados maiores valores de diversidade beta durante o período de maiores vazões (Figura 5).

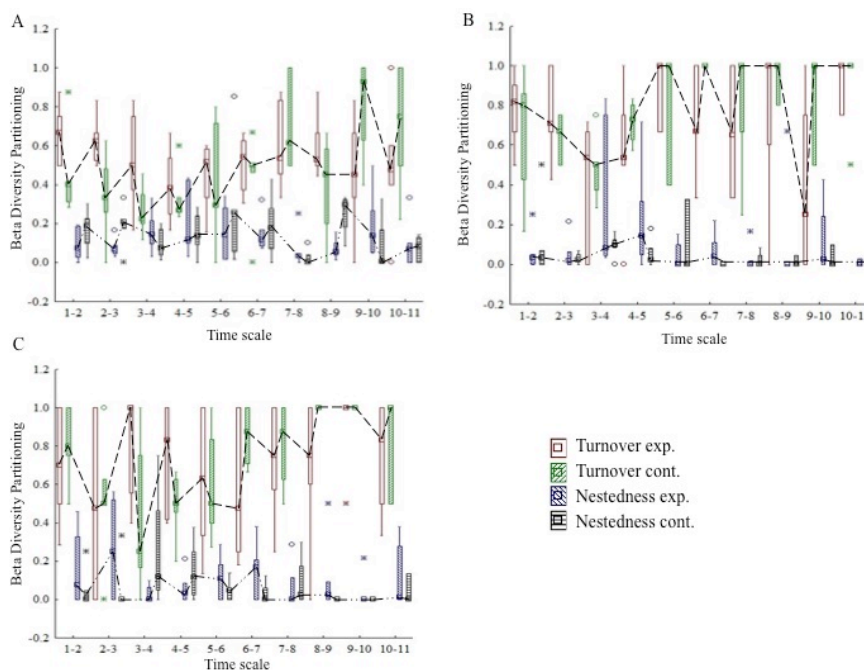


Figura 5: Boxplot mostrando os diferentes tipos de diversidade beta temporal, no qual foram separados pontos controle e experimento em A) Gruta do Mandembe; B) Gruta Serra Grande e C) Gruta da Toca. Turnover exp. representam a variação média dos valores de substituição de espécies nos pontos experimentais. Turnover cont. representam a variação média dos valores de substituição de espécies nos pontos controle. Nestedness exp. representam a variação média dos valores por adição ou perda de espécies nos pontos experimentais. Nestedness cont. representam a variação média dos valores por adição ou perda de espécies nos pontos controle.

Na comparação dos valores de similaridade ao longo do tempo dos pontos controle e dos pontos experimentais, em relação ao primeiro evento amostral, também não foram evidenciadas diferenças marcantes (Figura 6). Contrariamente ao esperado, não ocorreu um nítido aumento da similaridade dos pontos que sofreram distúrbio em relação à primeira amostragem (pré-distúrbio) ao longo do tempo. No entanto, o mesmo padrão foi observado para os pontos controle.

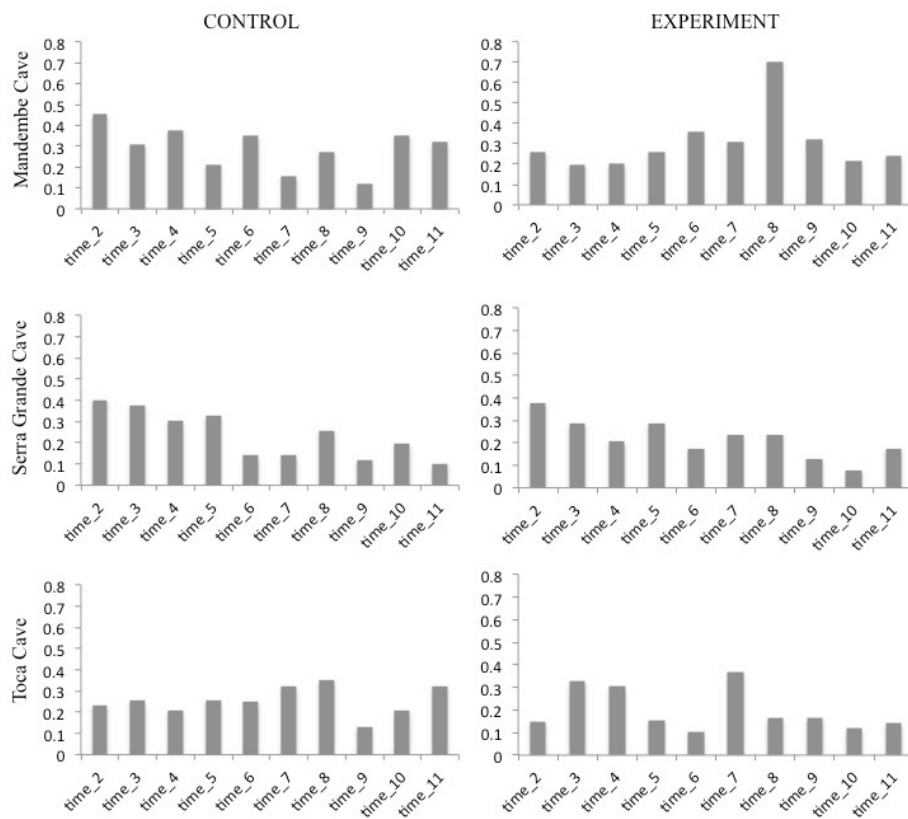


Figura 6: Valores de similaridade de cada evento amostral em relação à primeira coleta para os pontos controle e experimentais em cada caverna.

Com relação à dispersão dos dados de um mesmo ponto ao longo do tempo, também não foram detectadas diferenças significativas entre os pontos

controle e experimentais pelo teste de *Mann-Whitney* (Figura 7). No entanto, ainda que não significativo, os pontos controle de todas as cavernas apresentaram uma média de dispersão dos dados ligeiramente maior do que dos pontos experimentais.

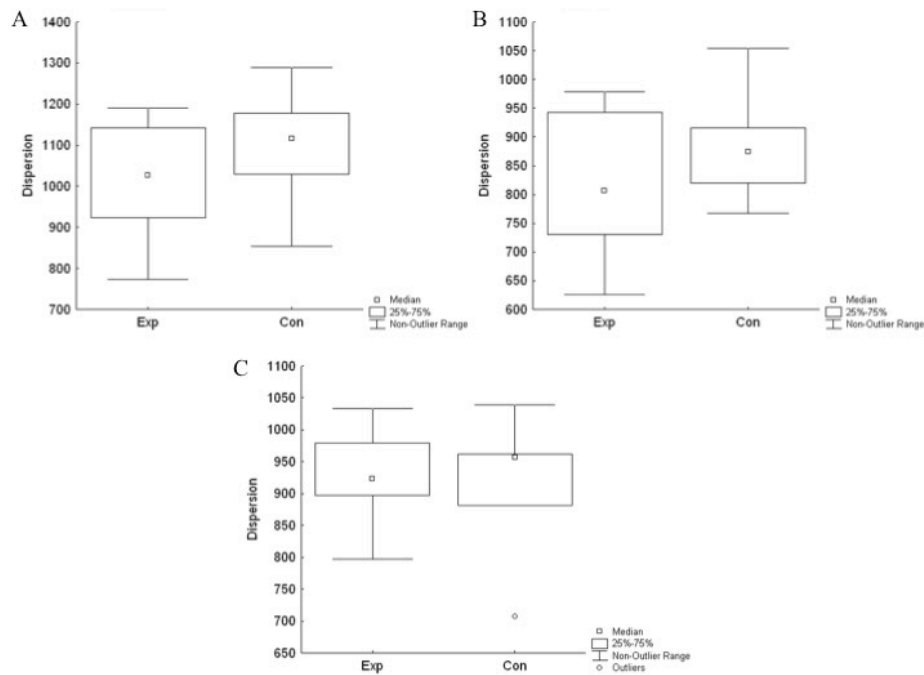


Figura 7: Boxplot dos valores de dispersão dos dados ao longo do tempo para os pontos controle e experimentais.

## DISCUSSÃO

### 1. Esforço de coleta e diversidade nas cavernas

No que se refere à diversidade de insetos aquáticos nas cavernas, nenhum dos organismos coletados foram categorizados como estigóbios (Gibert et al. 1994), ou seja, que vivem exclusivamente no ambiente aquático subterrâneo. Além disso, a grande conexão entre os sistemas de superfície e subterrâneo estudados, muito provavelmente permite que a assembleia de insetos



aquáticos represente apenas uma fração reduzida da comunidade de superfície (Death, 1989), não havendo condições propícias à especiação e formação dessas espécies altamente endêmicas.

Rios alogênicos, especialmente aqueles que percorrem trechos subterrâneos reduzidos, possuem alta influência de variações ambientais do ambiente epígeo (Watson, 2010). Além disso, ao adentrar no ambiente cavernícola, o riacho se encontra em uma situação de maior confinamento com relação às suas margens laterais. Com isso, efeitos de pulsos de inundação são mais intensos (Gundy & White, 2009), desestruturando mais facilmente as comunidades cavernícolas. Essa instabilidade ambiental acaba, muitas vezes, por desfavorecer a evolução de estigóbios no interior dessas cavernas. Estigóbios ocorrem preferencialmente em locais mais estáveis e que apresentam maior isolamento em relação ao ambiente externo. No entanto, ocorrem exceções, especialmente em casos de cavernas muito grandes, nas quais, embora o rio seja alogênico, o grande percurso transcorrido no subterrâneo, e a ocorrência de trechos sifonados, levam à ocorrência de características de rios autogênicos. Um exemplo disso é o sistema Postojna-Planina, onde o rio, embora alogênico, apresenta um grande trecho sifonado e percorre uma grande extensão no subterrâneo. Este sistema possui 48 espécies estigóbias, sendo considerado um dos maiores hotspots de biodiversidade subterrânea do mundo (Culver & Sket, 2000).

A grande abundância de organismos da ordem Diptera, principalmente Chironomidae, também corresponde à uma condição comumente encontrada em ambientes de superfície. Tais organismos são frequentemente diversos e abundantes, havendo ampla gama de sistemas aquáticos aos quais se associam (Ferrington, 2008), incluindo ecossistemas cavernícolas em ambientes neotropicais (Taylor & Ferreira, 2012).

As curvas de acumulação de espécies mostram que os rios subterrâneos foram suficientemente amostrados. Com cerca de 25 a 30 amostras, as curvas iniciam a estabilização, sendo que todas as curvas quase atingiram a assíntota. Uma vez que a amostragem foi suficiente, torna-se possível inferir sobre aspectos de estabilidade e persistência das comunidades subterrâneas nos três rios estudados.

## 2. Partição temporal da diversidade-beta e suas relações com os dados de pluviosidade

A diversidade beta temporal manteve-se alta ao longo de todo o período de estudo, havendo um “*turnover*” e aninhamento de 30 a quase 80% das espécies. Tal variação foi representada principalmente pelo “*turnover*” de espécies, sendo os maiores valores da diversidade relacionados aos períodos de maior vazão.

A predominância do “*turnover*” de espécies em detrimento do aninhamento, sugere que a variação na composição temporal não decorre da homogeneização por dominância de espécies nos pontos amostrais (Baeten et al. 2012). Efeitos de aninhamento indicariam que pontos pobres representassem uma sub-amostra dos mais ricos, em decorrência da perda de espécies ou pela dominância das mais comuns. Por outro lado, o alto “*turnover*” indica a contínua substituição por novas espécies. Isto implica em uma maior dissimilaridade da fauna aquática ao longo do tempo.

O alto “*turnover*” de espécies por efeitos de sazonalidade, são bem conhecidos para sistemas lóticos epígeos, sendo que existem diferenças marcantes na composição de espécies entre verão e inverno devido às diferenças no regime de vazões desses sistemas (Korhonen et al. 2010). No entanto, estudos desta natureza realizados com grupos de invertebrados cavernícolas são escassos, mesmo aqueles que abrangem espécies terrestres (e.p. Ferreira et al.

2005, Tobin et al. 2013, Bento et al. 2016). Estudos envolvendo organismos terrestres de cavernas compreendem a maior parte dos estudos ecológicos de comunidades em regiões neotropicais. De acordo com Bento et al. (2016), diferenças entre períodos seco e chuvoso refletem na riqueza de espécies, abundância e diversidade das comunidades cavernícolas, indicando que existe uma relação entre padrões dos ecossistemas epígeos e hipógeos. Tal padrão ocorre em resposta à flutuações em temperatura e umidade das cavernas, um reflexo atenuado das mudanças climáticas da superfície (Tobin et al. 2013).

No caso das cavernas em estudo, observou-se relação entre os períodos de maior pluviosidade, e conseqüentemente de maior vazão, com os períodos de maior diversidade beta temporal. O mesmo ocorre em sistemas lóticos de superfície, mudanças sazonais nos padrões da comunidade, acabam por elevar a diversidade beta temporal, e decorrem principalmente de flutuações na vazão, que são naturais à estes sistemas aquáticos (Resh et al. 1988). Existem vários modelos, hipóteses e teorias para explicar os padrões de diversidade encontrados na natureza. De acordo com Resh et al. (1988) o modelo que melhor se encaixa ao padrão encontrado em sistemas lóticos de superfície, seria o modelo de “Dynamic Equilibrium”, que foi originalmente proposto por Huston (1979). Este modelo se baseia em interações fora do equilíbrio de populações competidoras, no qual os frequentes eventos de inundações, acabam por desequilibrar a comunidade de macro-invertebrados aquáticos (Reice, 1985).

As altas taxas de diversidade beta temporal em sistemas lóticos, ocorrem em função de mudanças intensas e naturais nas vazões dos rios, sendo que tais mudanças são marcadas entre diferentes estações do ano (Korhonen et al. 2010). Com isso, seria de se esperar que tais variações na vazão, incrementassem a diversidade beta das cavernas. Muitos organismos se dispersam por deriva para o interior de cavernas, havendo maior fluxo em períodos de maior vazão (Death, 1989). Com isso, a comunidade cavernícola nestes rios alogênicos, também está

sujeita ao principal fator estruturador de sistemas lóticos, que são as variações de vazão.

### 3. Relações entre mudanças na comunidade e a estabilidade ambiental

Uma relação comumente relatada para a dinâmica de comunidades aquáticas de sistemas lóticos, é que a estabilidade temporal dessas comunidades está diretamente relacionada à estabilidade de variáveis ambientais do rio (Scarsbrook, 2002). Tal relação entre a estabilidade de comunidades terrestres cavernícolas e variações de fatores ambientais também já foram documentadas (Tobin et al. 2013). Ambientes mais estáveis e isolados dentro de uma mesma caverna, acabam por abrigar comunidades mais estáveis, quando comparados à regiões de entrada, onde existem maiores instabilidades (Tobin et al. 2013).

Somente nas grutas Serra Grande e Toca, foram observadas relações entre a estabilidade do grupo de variáveis de substratos e diferenças na composição da comunidade, sendo a persistência da comunidade mais elevada em períodos em que o substrato permanecia relativamente constante. A diversidade de substratos presentes no leito do rio e o tamanho desses substratos estão geralmente altamente relacionados à composição da comunidade associada (Palmer et al. 2010). Os diferentes tipos de substratos são extremamente importantes para fornecer estruturação ao ambiente. A maior heterogeneidade de substratos, por exemplo, promove maior área superficial de colonização, locais de refúgio e disponibiliza uma maior quantidade ou variedade de nutrientes em locais de recursos limitados. Tais fatores compreendem alguns dos mecanismos pelos quais a heterogeneidade ambiental atua sobre a diversidade de espécies (Palmer et al. 2010). Dessa forma, seria de se esperar que variações no substrato do leito do rio culminasse em variações na estabilidade da comunidade de insetos aquáticos associados. No entanto, isto foi observado para somente duas cavernas do estudo.

Por outro lado, a variação de nenhum dos parâmetros ambientais avaliados, explicou a variação temporal da comunidade de insetos aquáticos na Gruta Mandembe. A organização de uma comunidade, não ocorre somente em função de variações temporais do sistema no qual se insere, mas também em função de suas variações espaciais (Townsend et al. 1997). Em comparação entre as três cavernas em estudo, a Gruta Mandembe é a que apresenta maior declividade, parâmetro que permanece inalterado ao longo do tempo, não permitindo detectar variações ambientais temporais. No entanto, fatores como este, podem ser altamente determinantes da estrutura da comunidade espacialmente, o que aparentemente se reflete na estabilidade dessa comunidade temporalmente.

Excluindo-se os fatores relacionados aos substratos, as variações em parâmetros de qualidade de água, hidrológicos e de morfologia do canal, não foram capazes de explicar as instabilidades encontradas nas comunidades de estudo. A ausência de relação entre a estabilidade da comunidade e mudanças na qualidade da água também foram observadas em estudos de estabilidade e persistência de invertebrados conduzidos em riachos da Nova Zelândia (Scarsbrook, 2002). Segundo o autor, variações da comunidade estão mais intimamente relacionadas às condições de vazão, havendo maior estabilidade das comunidades em locais de condições de vazão mais severas, incluindo alta velocidade de correnteza.

#### 4. Experimentação em campo – teste de defaunação

Embora pela hipótese inicial fosse esperado que as cavernas possuísem um efeito estabilizador sobre as comunidades (Ward & Palmer, 1994; Ferreira & Martins, 1998), foram observadas grandes variações em valores de riqueza, altas taxas de diversidade beta temporal, alta dissimilaridade de fauna ao longo do tempo e grande dispersão dos dados, tanto nos pontos controle quanto nos

experimentais. Com isso, mudanças nos padrões da assembleia de insetos aquáticos decorrentes do distúrbio gerado, não puderam ser detectadas. Neste caso, o “*turnover*” de espécies decorrente de processos naturais foi comparável àquele causado no evento de defaunação gerado experimentalmente. A avaliação de distúrbios experimentais já havia sido testada para comunidades aquáticas sem sucesso (e.p. Long et al. 2011), uma vez que o distúrbio não influenciou significativamente nenhuma das variáveis analisadas.

Dessa forma, frente ao padrão encontrado nos rios subterrâneos em estudo, propõe-se que os riachos cavernícolas alogênicos sejam caracterizados como sistemas hiperdinâmicos. Este termo foi originalmente proposto para ser aplicado em ambientes fragmentados. William (2002) definiu o hiperdinamismo como um aumento na frequência da amplitude da população, comunidade e/ou dinâmicas da paisagem em ambientes fragmentados. Neste sistemas ocorre a aceleração de alguns parâmetros e processos, os quais destacam-se regimes de distúrbio, altas taxas de mortalidade e recrutamento, flutuações populacionais de espécies individuais, extinções e alto “*turnover*” de espécies (William, 2002). No caso do presente estudo, ficou evidente o acentuado regime de extinções e de colonizações de espécies ao longo do tempo. Além da contínua substituição de espécies, existe grande variação no padrão encontrado de espécies raras e dominantes, com grandes amplitudes no número de indivíduos observados ao longo do tempo. Dessa forma, o termo “hiperdinamismo” pode ser muito bem empregado à sistemas lóticos alogênicos cavernícolas, que possuam grande conectividade com o ambiente de superfície.

O hiperdinamismo desses sistemas indica que riachos alogênicos de pequeno porte em cavernas, tendem a apresentar alta resiliência das comunidades. O alto “*turnover*” e o suprimento de nutrientes em sistemas aquáticos, ocorre preferencialmente em locais de maior velocidade de correnteza, característica que aumenta o poder de resiliência do sistema

(Steinman et al. 1991). Portanto, ainda que a alta intensidade das mudanças nas comunidades decorrentes da vazão não permitam inferir sobre resistência, o fato delas retomarem o padrão apresentado pelo grupo controle, indica uma eventual alta resiliência, considerando-se que a condição original seria a hiperdinâmica.

Ainda que tenha sido difícil detectar um padrão temporal bem definido das comunidades, estudos de longo prazo, podem levar à uma maior compreensão da dinâmica que ocorre nestes riachos subterrâneos. No entanto, já é possível ter o indicativo de alguns processos decorrentes de flutuações na vazão, que podem ter influência na conservação e manejo desses sistemas.

O uso turístico de cavernas ocorre amplamente pelo mundo, sendo que cada sistema apresenta suas exigências particulares quanto ao plano de manejo ideal para a conservação da biota cavernícola. Alguns estudos propõem que cavernas que possuem sistemas lóticos e inundações periódicas, apresentam a região de entorno dos cursos d'água, como a área preferencial de ocorrência das rotas turísticas (Cigna & Burri, 2000). De acordo com os autores, tais regiões seriam classificadas como “*áreas de alta energia*”. Devido à dinâmica hídrica desses locais, os impactos decorrentes da visita seriam amenizados pelos pulsos de inundação, que acabariam por minimizar os vestígios do turismo. No entanto, são justamente nestas áreas, que ocorrem os maiores adensamentos populacionais de invertebrados terrestres, que estariam em busca de recursos alimentares, potencialmente aumentando os impactos decorrentes do pisoteamento de fauna. Frente a este cenário, e ao padrão encontrado no presente estudo (hiperdinamismo dos sistemas alogênicos), propõe-se que as rotas turísticas em cavernas com drenagens alogênicas ocorram através dos próprios cursos d'água lóticos em cavernas, desde que não existam espécies estigóbias, que poderiam ser altamente impactadas pelo pisoteamento.

Vale ressaltar que este foi o primeiro estudo que buscou compreender a dinâmica de comunidades aquáticas subterrâneas, frente a um distúrbio

experimental. A partir deste, é de suma importância que se amplie o número de cavernas estudadas, em busca de padrões que sejam mais robustos e amplamente aplicáveis. Seria importante ainda, realizar estudos desse tipo considerando-se rios autogênicos, a fim de compreender se eles estariam sujeitos aos mesmos padrões, investigando ainda, quais as implicações desse hiperdinamismo dos riachos alogênicos para a comunidade cavernícola como um todo. Alguns estudos já mostraram claramente que os frequentes pulsos de inundação são fundamentais para a manutenção de recursos alimentares em muitos sistemas subterrâneos (Souza-Silva et al. 2011). Com isso, tal dinâmica garante a manutenção de populações viáveis no interior de cavernas, sendo fundamental para a preservação das características ambientais e biológicas do ambiente subterrâneo.

#### **AGRADECIMENTOS**

Gostaríamos de agradecer aos integrantes do Centro de Referência em Biologia Subterrânea, pelo auxílio nas coletas de campo. Ao pessoal do laboratório de zoobentos da Universidade Estadual de Maringá, pelo auxílio na identificação dos insetos aquáticos, em especial à Gisele Pinha e Dr. Roger Mormul. Aos professores Dr. Paulo Pompeu, Dr. Júlio Louzada, Dr. Jos Barlow e também à Dra. Lívia Dorneles e Dr. Luiz Magnago pelas sugestões em análises estatísticas. À CAPES pela concessão da bolsa de estudos de T.G. Pellegrini . Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico e Científico (CNPq) (número 304682/2014-4) pela bolsa de pesquisa.

#### **REFERÊNCIAS**

Anderson, M.J., R.N. Gorley & K.R. Clarke, 2008. PERMANOVA+ for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods. Massey University, Albany Campus, Auckland, New Zealand, 214 p.



- Baeten, L., P. Vangansbeke, M. Hermy, G. Peterken, K. Vanhuysse & K. Verheyen, 2012. Distinguishing between turnover and nestedness in the quantification of biotic homogenization. *Biodiversity Conservation*. 21: 1399-1409. DOI 10.1007/s10531-012-0251-0
- Baselga, A. & C.D.L. Orme, 2012. Betapart: an R package for the study of beta diversity. *Methods in Ecology and Evolution*, p. 1-5. doi: 10.1111/j.2041-210X.2012.00224.x
- Benetti, C.J., J.A.R. Cueto & G.L. Fiorentin, 2003. Gêneros de Hydradephaga (Coleoptera: Dytiscidae, Gyrinidae, Haliplidae, Noteridae) citados para o Brasil, com chaves para identificação. *Biota Neotropica*. 3(1) – BN00803012003.
- Bento, D.M., R.L. Ferreira, X. Prous, M. Souza-Silva, B.C. Bellini & A. Vasconcellos 2016. Seasonal variations in cave invertebrate communities in the semi-arid Caatinga, Brazil. *Journal of Cave and Karst Studies* 78: 61-71 doi: 10.4311/2015LSC0111
- Brown, J.H., J.F. Gillooly, A.P. Allen, V.M. Savage & G.B. West, 2004. Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology*. 85(7): 1771-1789.
- Cao, Y., D.D. Williams & N.E. Williams, 1998. How important are rare species in aquatic community ecology and bioassessment? *Limnology and Oceanography* 43: 1403-1409.
- Chainho, P., J.L.Costa, M.L. Chaves, D.M. Dauer & M.J. Costa, 2007. Influence of seasonal variability in benthic invertebrate community structure on the use of biotic indices to assess the ecological status of a Portuguese estuary. *Marine Pollution Bulletin* 54: 1586-1597.
- Cigna, A.A. & E. Burri, 2000. Development, management and economy of show caves. *International Journal of Speleology* 1: 1-27.
- Colwell, R.K., 2013. EstimateS, Version 9.1: Statistical Estimation of Species Richness and Shared Species from Samples (Software and User's Guide).
- Culver, D.C., 1982. *Cave life*. Harvard University Press. Cambridge, MA. 189p.
- Culver, D.C. & B. Sket, 2000. Hotspots of Subterranean Biodiversity in Caves and Wells. *Journal of Cave and Karst Studies* 62: 11-17.
- Death, R.G., 1989. The effect of a cave on benthic invertebrate communities in a South Island stream. *New Zealand Natural Sciences* 16: 67-78.
- Elson-Harris, M.M., 1990. Keys to the immature stages of some Australian Ceratopogonidae (Diptera). *Journal of the Australian Entomological Society* 29: 267-275.
- Ferreira, R.L., 1998. *Ecologia de comunidades cavernícolas associadas a depósitos de guano de morcegos*. 1998. 86 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

- Ferreira, R.L., 2004. Medida da complexidade ecológica e suas aplicações na conservação e manejo de ecossistemas subterrâneos. 161 p. Tese (Doutorado em Ecologia, Conservação e Manejo de Vida Silvestre) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- Ferreira, R.L., X. Prous, S.F. Machado & R.P. Martins, 2005. Population dynamics of *Loxosceles similis* (Moenkhaus, 1898) in a Brazilian dry cave: a new method for evaluation of population size: *Revista Brasileira de Zoociências* 7: 129–141.
- Ferrington Jr, L.C., 2008. Global diversity of non-biting midges (Chironomidae; Insecta-Diptera) in Freshwater. *Hydrobiologia* 595: 447-455. DOI 10.1007/s10750-007-9130-1
- Van Gundy, J.J. & W.B. White, 2009. Sediment flushing in Mystic Cave, West Virginia, USA, in response to the 1985 Potomac Valley flood.- *International Journal of Speleology* 38: 103–109.
- Gibert, J., J.A. Stanford, M.J. Dole-Oliver & J.V. Ward, 1994. Basic Attributes of Groundwater Ecosystems and Prospects. Cap.1, p. 7-40. In: Eds. Gibert J, Danielopol DL & Stanford JA. *Groundwater Ecology*. Academic Press, United States of America. 562pp.
- Hamada, N., J.L. Nessimian & R.B. Querino, 2014. *Insetos Aquáticos na Amazônia brasileira: taxonomia, biologia e ecologia*. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. 724p.
- Hughes, R.M. & D.V. Peck, 2008. Acquiring data for large aquatic resource surveys: the art of compromise among science, logistics, and reality. *Journal of the North American Benthological Society* 27: 837–859. DOI: 10.1899/08-028.1
- Huston, M., 1979. A general hypothesis of species diversity. *The American Naturalist* 113: 81-101.
- Korhonen, J.J., J. Soininen & H. Hillebrand, 2010. A quantitative analysis of temporal turnover in aquatic species assemblages across ecosystems. *Ecology* 91: 508-517.
- Long, Z.T., J.F. Bruno & E. Duffy, 2011. Food chain length and omnivory determine the stability of a marine subtidal food web. *Journal of Animal Ecology* 80: 586-594.
- Manzo, V., 2005. Key to the South American genera of Elmidae (Insecta: Coleoptera) with distributional data. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 40: 201-208.
- Michat, M.C., M. Archangelsky & A.O. Bachmann, 2008. Generic keys for the identification of larval Dytiscidae from Argentina (Coleoptera: Adephaga). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 67: 17-36.
- Miller, T.E., 1996. Geologic and Hydrologic controls on karst and cave development in Belize. *Journal of Cave and Karst Studies* 58: 100-120.

- Merritt, R.W., K.W. Cummins & M.B. Berg, 2008. An Introduction to the Aquatic Insects of North American. 4th edition. Kendal: Hunt Publishing Company. 1158p.
- Olifiers, M.H., L.F.M. Dorvillé, J.L. Nessimian & N. Hamada, 2004. A key to Brazilian genera of Plecoptera (Insecta) based on nymphs *Zootaxa* 651: 1-15.
- Palmer, M.A., H.L. Menninger & E. Bernhardt, 2010. River restoration, habitat heterogeneity and biodiversity: a failure of theory or practice. *Freshwater Biology* 55: 205-222 doi:10.1111/j.1365-2427.2009.02372.x
- Peck, D.V., A.T. Herlihy, B.H. Hill, R.M. Hughes, P.R. Kaufmann, D.J. Klemm, J.M. Lazorchak, F.H. McCormick, S.A. Peterson, P.L. Ringold, T. Magee & M. Cappaert, 2006. Environmental Monitoring and Assessment Program-Surface Waters Western Pilot Study: Field Operations Manual for Wadeable Streams. EPA/620/R-06/003. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Washington, D.C.
- Pellegrini, T.G., L.P. Sales, P. Aguiar & R.L. Ferreira, 2016. Linking spatial scale dependence of land-use descriptors and invertebrate cave community composition. *Subterranean Biology* 18: 17-38 doi: 10.3897/subtbiol.18.8335
- Peterson, C.G. & R.J. Stevenson, 1992. Resistance and resilience of lotic algal communities: importance of disturbance timing and current. *Ecology* 73: 1445-1461.
- R Development Core Team, 2012. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Reice, S.R., 1985. Experimental disturbance and the maintenance of species diversity in a stream community. *Oecologia* 67: 90-97.
- Resh, V.H., A.V. Brown, A.P. Covich, M.E. Gurtz, H.W. Li, G.W. Minshall, S.R. Reice, A.L. Sheldon, J.B. Wallace & R.C. Wissmar, 1988. The role of disturbance in stream ecology. *Journal of the North American Benthological Society* 7: 433 – 455.
- Salles, F.F., E.R. Da-Silva, J.E. Serrão & C.N. Francischetti, 2004. Systematics, Morphology and Physiology. Baetidae (Ephemeroptera) na região sudeste do Brasil: novos registros e chave para os gêneros no estágio ninfal. *Neotropical Entomology* 33: 725-735.
- Scarsbrook, M.R., 2002. Persistence and stability of lotic invertebrate communities in New Zealand. *Freshwater Biology* 47: 417-431.
- Segura, M.O., F. Valente-Neto & A.A. Fonseca-Gessner, 2011. Elmidae (Coleoptera, Byrrhoidea) larvae in the state of São Paulo, Brazil: Identification Key, new records and distribution. *Zookeys* 151: 53-74. doi: 10.3897/zookeys.151.1879

- Souza-Silva, M., R.P. Martins, R.L. Ferreira, 2011. Trophic Dynamics in a Neotropical Limestone Cave. *Subterranean Biology* 9: 127-138 doi: 10.3897/subtbiol.9.2515
- Steinman, A.D., P.J. Mulholland, A.V. Palumbo, T.F. Hum & D.L. DeAngelis, 1991. Resilience of lotic ecosystems to a light-elimination disturbance. *Ecology* 72: 1299- 1313.
- Taylor, E.L.S. & R.L. Ferreira, 2012. Determinants on the structure of an aquatic invertebrate community in a Neotropical limestone cave. *Revista Brasileira de Espeleologia* 2: 1-12.
- Tobin, B.W., Hutchins, B.T., Schwartz, B.F., 2013. Spatial and temporal changes in invertebrate assemblage structure from the entrance to deep-cave zone of a temperate marble cave: *International Journal of Speleology* 42: 203–214.
- Townsend, C.R., S. Doledec & M.R. Scarsbrook, 1997. Species traits in relation to temporal and spatial heterogeneity in streams: a test of habitat template theory. *Freshwater Biology* 37: 367-387.
- Ward, J.V. & M.A. Palmer, 1994. Distribution patterns of interstitial freshwater meiofauna over a range of spatial scales, with emphasis on alluvial river-aquifer systems *Hydrobiologia* 287: 147–156
- Watson, T.N., 2010. The structuring of aquatic macroinvertebrate communities within cave streams. A thesis submitted in partial fulfillment for the degree of Master of Science in Ecology at the University of Canterbury, Christchurch, New Zealand, 111 pp.
- William, L.F., 2002. Hyperdynamism in fragmented habitats. *Journal of Vegetation Science* 13: 595-602.

ANEXO 1: Lista de gêneros encontrados nos pontos experimentais e controle na  
Gruta Mandembe. “Continua”

MANDEMBE CAVE		
TAXON	Control	Experiment
<b>COLEOPTERA</b>		
<b>Dytiscidae</b>		
<i>Bidessonotus</i> spp.	15	0
<i>Bidessonotus</i> spp. – larva	7	0
<i>Desmopachria</i> spp.	5	0
<i>Laccophilus</i> spp.	12	0
<i>Laccophilus</i> spp. – larva	1	0
<b>Elmidae</b>		
<i>Austrolimnius</i> spp.	2	2
<i>Austrolimnius</i> spp. – larva	88	9
<i>Gyrelmis</i> spp.	2	4
<i>Heterelmis</i> spp.	2	0
<i>Heterelmis</i> spp. – larva	1	5
<i>Hexacylloepus</i> spp.	1	0
<i>Hexacylloepus</i> spp. – larva	0	2
<i>Macrelmis</i> spp.	1	2
<i>Macrelmis</i> spp. – larva	145	17
<i>Neoelmis</i> spp.	4	4
<i>Neoelmis</i> spp. - larva	41	11
<i>Phanocerus</i> spp. - larva	6	5
<i>Xenelmis</i> spp.	0	2
<i>Xenelmis</i> spp. - larva	2	1
<b>Gyrinidae</b>		
<i>Gyretes</i> spp.	0	5
<b>DIPTERA</b>		
<b>Ceratopogonidae</b>		
<i>Atrichopogon</i> spp.	7	2
<i>Bezzia</i> spp.	23	20
<i>Culicoides</i> spp.	4	3
<i>Forcipomyia</i> spp.	4	2
<b>Chironomidae</b>		

ANEXO 1: Lista de gêneros encontrados nos pontos experimentais e controle na  
Gruta Mandembe. “Continua”

MANDEMBE CAVE		
TAXON	Control	Experiment
Chironomidae gen. nov.	3	5
<i>Ablabesmyia</i> spp.	29	19
<i>Beardius</i> spp.	10	5
<i>Brundiniella</i> spp.	3	3
<i>Caladomyia</i> spp.	271	187
<i>Chironomus</i> spp.	4	7
<i>Constempellina</i> spp.	13	3
<i>Corynoneura</i> spp.	17	38
<i>Djalmabatista</i> spp.	3	1
<i>Endotribelos</i> spp.	110	51
<i>Fittkauimyia</i> spp.	1	0
<i>Labrundinia</i> spp.	16	7
<i>Larsia</i> spp.	8	4
<i>Limnophyes</i> spp.	0	5
<i>Nanocladius</i> spp.	7	0
<i>Nilothauma</i> spp.	7	2
<i>Onconeura</i> spp.	2	14
<i>Orthocladius</i> spp.	3	0
<i>Parakiefferiella</i> spp.	4	3
<i>Parametriocnemus</i> spp.	34	30
<i>Parapentaneura</i> spp.	1	4
<i>Paratanytarsus</i> spp.	8	11
<i>Paratendipes</i> spp.	2	1
<i>Pentaneura</i> spp.	29	34
<i>Polypedilum</i> spp.	135	29
<i>Rheotanytarsus</i> spp.	8	19
<i>Stempellinella</i> spp.	6	6
<i>Stenochironomus</i> spp.	11	4
<i>Tanytarsus</i> spp.	534	251
<i>Thienemannia</i> spp.	2	8
<i>Thienemanniella</i> spp.	2	3

ANEXO 1: Lista de gêneros encontrados nos pontos experimentais e controle na  
Gruta Mandembe. “Continua”

<b>MANDEMBE CAVE</b>		
<b>TAXON</b>	<b>Control</b>	<b>Experiment</b>
<i>Xestochironomus spp.</i>	2	2
<i>Zavreliella spp.</i>	141	36
<b>Dixidae</b>		
<i>Dixella spp.</i>	0	3
<b>Empididae</b>		
<i>Empididae spp.</i>	4	0
<b>Simulidae</b>		
<i>Simulium spp.</i>	66	737
<b>Tipulidae</b>		
Tipulidae spp.	10	13
<b>EPHEMEROPTERA</b>		
<b>Baetidae</b>		
<i>Americabaetis spp.</i>	0	8
<i>Baetodes spp.</i>	1	6
<i>Cloeodes spp.</i>	7	11
<i>Paracloeodes spp.</i>	0	11
<i>Waltzoyphius spp.</i>	24	32
<i>Zelus spp.</i>	38	40
<b>Leptohyphidae</b>		
<i>Tricorythopsis</i>	0	4
<b>Leptophlebiidae</b>		
<i>Askola spp.</i>	183	103
<i>Hagenulopsis spp.</i>	142	46
<i>Massartella spp.</i>	17	6
<i>Simothraulopsis spp.</i>	246	92
<b>HEMIPTERA</b>		
<b>Naucoridae</b>		
<i>Limnocoris spp.</i>	3	0
<b>Veliidae</b>		
<i>Rhagovelia spp.</i>	6	21
<b>MEGALOPTERA</b>		

ANEXO 1: Lista de gêneros encontrados nos pontos experimentais e controle na  
Gruta Mandembe. “Continua”

MANDEMBE CAVE		
TAXON	Control	Experiment
<b>Corydalidae</b>		
<i>Corydallus spp.</i>	4	7
<b>ODONATA</b>		
<b>Calopterygidae</b>		
<i>Calopterygidae spp.</i>	14	23
<b>Coenagrionidae</b>		
<i>Argia spp.</i>	82	80
<b>Libellulidae</b>		
<i>Dythemis spp.</i>	1	2
<b>Megapodagrionidae</b>		
<i>Heteragrion spp.</i>	3	2
<b>PLECOPTERA</b>		
<b>Gripopterygidae</b>		
<i>Gripopteryx spp.</i>	0	3
<i>Paragripopteryx spp.</i>	6	1
<i>Tupiperla spp.</i>	12	20
<b>Perlidae</b>		
<i>Anacroneuria spp.</i>	0	1
<i>Kempnyia spp.</i>	2	11
<b>TRICHOPTERA</b>		
<b>Calamoceratidae</b>		
<i>Phylloicus spp.</i>	18	5
<b>Helicopsychidae</b>		
<i>Helicopsyche spp.</i>	10	16
<b>Hydrobiosidae</b>		
<i>Atopsyche spp.</i>	2	6
<b>Hydropsychidae</b>		
<i>Macrostemum spp.</i>	4	2
<b>Hydroptilidae</b>		
<i>Alisotrichia spp.</i>	15	71
<i>Neotrichia spp.</i>	53	158



ANEXO 1: Lista de gêneros encontrados nos pontos experimentais e controle na  
Gruta Mandembe. “Conclusão”

MANDEMBE CAVE		
TAXON	Control	Experiment
<i>Oxyethira spp.</i>	5	3
<b>Leptoceridae</b>		
<i>Grumichella spp.</i>	3	7
<i>Nectopsyche spp.</i>	14	10
<i>Notalina spp.</i>	11	2
<i>Oecetis spp.</i>	12	2
<i>Triplectides spp.</i>	2	1
<b>Odontoceridae</b>		
<i>Barypenthus spp.</i>	6	1
<b>Polycentropodidae</b>		
<i>Polycentropus spp.</i>	11	7
<b>Total Abundance</b>	<b>2836</b>	<b>2462</b>

ANEXO 2: Lista de gêneros encontrados nos pontos experimentais e controle na  
Gruta Serra Grande. “Continua”

SERRA GRANDE CAVE		
TAXON	Control	Experiment
<b>COLEOPTERA</b>		
<b>Elmidae</b>		
<i>Austrolimnius</i> spp.	2	2
<i>Austrolimnius</i> spp. - larva	6	13
<i>Gyrelmis</i> spp.	7	3
<i>Heterelmis</i> spp. - larva	24	23
<i>Hexacylloepus</i> spp.	2	2
<i>Hexacylloepus</i> spp. - larva	1	5
<i>Macrelmis</i> spp.	1	1
<i>Macrelmis</i> spp. - larva	1	1
<i>Microcyллоepus</i> spp.	3	0
<i>Microcyллоepus</i> spp. - larva	2	1
<i>Neelmis</i> spp.	6	6
<i>Neelmis</i> spp. - larva	8	2
<i>Xenelmis</i> spp.	1	0
<i>Xenelmis</i> spp. - larva	3	0
<b>DIPTERA</b>		
<b>Ceratopogonidae</b>		
<i>Bezzia</i> spp.	7	3
<b>Chironomidae</b>		
Chironomidae new gen.	15	7
<i>Ablabesmyia</i> spp.	5	2
<i>Caladomyia</i> spp.	25	35
<i>Chironomus</i> spp.	3	4
<i>Constempellina</i> spp.	5	6
<i>Corynoneura</i> spp.	3	5
<i>Endotribelos</i> spp.	27	67
<i>Larsia</i> spp.	1	4
<i>Lopescladius</i> spp.	3	2
<i>Onconeura</i> spp.	1	2
<i>Parametriocnemus</i> spp.	7	6

ANEXO 2: Lista de gêneros encontrados nos pontos experimentais e controle na  
Gruta Serra Grande. “Continua”

SERRA GRANDE CAVE		
TAXON	Control	Experiment
<i>Pentaneura</i> spp.	6	5
<i>Polypedilum</i> spp.	5	17
<i>Rheotanytarsus</i> spp.	8	1
<i>Stenochironomus</i> spp.	4	5
<i>Tanytarsus</i> spp.	28	73
<i>Xestochironomus</i> spp.	0	7
<i>Zavreliella</i> spp.	3	6
<b>Simuliidae</b>		
<i>Simulium</i> spp.	16	12
<b>Tipulidae</b>		
Tipulidae spp.	1	5
<b>EPHEMEROPTERA</b>		
<b>Baetidae</b>		
<i>Americabaetis</i> spp.	5	0
<i>Cloeodes</i> spp.	2	10
<i>Zelus</i> spp.	10	4
<b>Leptophlebiidae</b>		
<i>Askola</i> spp.	57	23
<i>Hagenulopsis</i> spp.	28	8
<i>Simothraulopsis</i> spp.	8	3
<b>MEGALOPTERA</b>		
<b>Corydalidae</b>		
<i>Corydalis</i> spp.	4	9
<b>ODONATA</b>		
<b>Coenagrionidae</b>		
<i>Acanthagrion</i> spp.	1	7
<i>Argia</i> spp.	9	6
<b>PLECOPTERA</b>		
<b>Perlidae</b>		
<i>Anacroneuria</i> spp.	3	1
<i>Kempnyia</i> spp.	4	0

ANEXO 2: Lista de gêneros encontrados nos pontos experimentais e controle na  
Gruta Serra Grande. “Conclusão”

SERRA GRANDE CAVE		
TAXON	Control	Experiment
<b>TRICHOPTERA</b>		
<b>Calamoceratidae</b>		
<i>Phylloicus spp.</i>	6	5
<b>Helicopsychidae</b>		
<i>Helicopsyche spp.</i>	1	2
<b>Hydrobiosidae</b>		
<i>Atopsyche spp.</i>	3	0
<i>Hydrobiosidae</i>		
<i>Atopsyche spp.</i>	3	0
<i>Hydroptilidae</i>		
<i>Alisotrichia spp.</i>	4	6
<i>Neotrichia spp.</i>	19	15
<i>Leptoceridae</i>		
<i>Nectopsyche spp.</i>	7	3
<i>Oecetis spp.</i>	11	2
<i>Polycentropodidae</i>		
<i>Polycentropus spp.</i>	8	13
<b>Total Abundance</b>	<b>430</b>	<b>450</b>

ANEXO 3: Lista de gêneros encontrados nos pontos experimentais e controle na  
Gruta da Toca. “Continua”

TOCA CAVE		
TAXON	Control	Experiment
<b>COLEOPTERA</b>		
<b>Dytiscidae</b>		
<i>Bidessonotus</i> spp.	17	1
<i>Bidessonotus</i> spp. - larva	0	2
<i>Copelatus</i> spp.	4	0
<i>Copelatus</i> spp. - larva	3	5
<i>Laccophilus</i> spp.	4	7
<i>Laccophilus</i> spp. - larva	2	6
<b>Elmidae</b>		
<i>Gyrelmis</i> spp.	3	1
<i>Heterelmis</i> spp.	28	18
<i>Heterelmis</i> spp. - larva	33	66
<i>Hexacylloepus</i> spp.	7	3
<i>Hexacylloepus</i> spp. - larva	22	30
<i>Macrelmis</i> spp.	0	1
<i>Macrelmis</i> spp. - larva	3	0
<i>Neoelmis</i> spp.	1	0
<i>Neoelmis</i> spp. - larva	2	4
<i>Xenelmis</i> spp.	1	5
<i>Xenelmis</i> spp. - larva	0	5
<b>Hydrophilidae</b>		
<i>Hydrobius</i> spp.	0	2
<i>Hydrobius</i> spp. - larva	1	4
<b>Scirtidae</b>		
<i>Scirtes</i> spp. - larva	5	0
<b>DIPTERA</b>		
<b>Ceratopogonidae</b>		
<i>Bezzia</i> spp.	5	7
<i>Forcipomyia</i> spp.	3	11
<b>Chironomidae</b>		
Chironomidae new gen.	2	14

ANEXO 3: Lista de gêneros encontrados nos pontos experimentais e controle na  
Gruta da Toca. “Continua”

<b>TOCA CAVE</b>		
<b>TAXON</b>	<b>Control</b>	<b>Experiment</b>
<i>Ablabesmyia</i> spp.	16	63
<i>Caladomyia</i> spp.	9	161
<i>Chironomus</i> spp.	8	79
<i>Constempellina</i> spp.	7	3
<i>Corynoneura</i> spp.	3	18
<i>Cryptochironomus</i> spp.	0	20
<i>Endotribelos</i> spp.	34	309
<i>Fittkauimyia</i> spp.	6	9
<i>Gymnometriocnemus</i> spp.	3	1
<i>Larsia</i> spp.	6	14
<i>Onconeura</i> spp.	3	3
<i>Parametriocnemus</i> spp.	13	36
<i>Parapentaneura</i> spp.	0	5
<i>Pentaneura</i> spp.	6	14
<i>Polypedilum</i> spp.	13	40
<i>Rheotanytarsus</i> spp.	4	24
<i>Stempellinella</i> spp.	3	1
<i>Stenochironomus</i> spp.	4	8
<i>Tanytarsus</i> spp.	70	157
<i>Zavreliella</i> spp.	3	14
<b>Corethrellidae</b>		
<i>Corethrella</i> spp.	2	5
<b>Dolichopodidae</b>		
Dolichopodidae spp.	5	0
<b>Empididae</b>		
Empididae spp.	1	2
<b>Psychodidae</b>		
<i>Pericoma</i> spp.	0	16
<b>Tabanidae</b>		
Tabanidae spp.	1	122
<b>Tipulidae</b>		

ANEXO 3: Lista de gêneros encontrados nos pontos experimentais e controle na  
Gruta da Toca. “Continua”

<b>TOCA CAVE</b>		
<b>TAXON</b>	<b>Control</b>	<b>Experiment</b>
Tipulidae spp.	1	11
<b>EPHEMEROPTERA</b>		
<b>Baetidae</b>		
<i>Cloeodes</i> spp.	0	12
<i>Waltzoyphius</i> spp.	1	3
<b>HEMIPTERA</b>		
<b>Belostomatidae</b>		
<i>Belostoma</i> spp.	2	1
<b>Pleidae</b>		
<i>Neoplea</i> spp.	3	4
<b>Veliidae</b>		
<i>Rhagovelia</i> spp.	4	10
<b>ODONATA</b>		
<b>Aeshnidae</b>		
<i>Anax</i> spp.	0	6
<b>Coenagrionidae</b>		
<i>Argia</i> spp.	30	35
<b>Corduliidae</b>		
<i>Neocordulia</i> spp.	1	2
<b>Perilestidae</b>		
<i>Perilestes</i> spp.	4	0
<b>PLECOPTERA</b>		
<b>Gripopterygidae</b>		
<i>Tupiperla</i> spp.	1	7
<b>Perlidae</b>		
<i>Anacroneuria</i> spp.	4	5
<b>TRICHOPTERA</b>		
<b>Calamoceratidae</b>		
<i>Phylloicus</i> spp.	17	26
<b>Hydropsychidae</b>		
<i>Leptonema</i> spp.	2	14

ANEXO 3: Lista de gêneros encontrados nos pontos experimentais e controle na  
Gruta da Toca. “Conclusão”

TOCA CAVE		
TAXON	Control	Experiment
<i>Smicridea</i> spp.	1	15
<b>Hydroptilidae</b>		
<i>Alisotrichia</i> spp.	1	13
<b>Leptoceridae</b>		
<i>Oecetis</i> spp.	0	3
<i>Tripletides</i> spp.	1	6
<b>Polycentropodidae</b>		
<i>Polycentropus</i> spp.	2	3
<b>Total Abundance</b>	<b>441</b>	<b>1492</b>



**ARTIGO III**

**RELACIONANDO GRUPOS FUNCIONAIS ALIMENTARES AOS  
COMPONENTES ESPACIAIS E TEMPORAIS DE DIVERSIDADE EM  
COMUNIDADES AQUÁTICAS SUBTERRÂNEAS NEOTROPICAIS**

**Thais Giovannini Pellegrini<sup>1,3</sup>, Lucas Del Bianco Faria<sup>2,3</sup>, Rodrigo Lopes  
Ferreira<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup> CEBS, Centro de Estudos em Biologia Subterrânea - UFLA. E-mail:  
thais.g.pellegrini@gmail.com

<sup>2</sup> Laboratório de Ecologia e Complexidade - UFLA.

<sup>3</sup> Universidade Federal de Lavras. Campus Universitário UFLA – CEP: 37200-  
000. Lavras – MG, Brasil.

O manuscrito foi redigido conforme as normas da revista científica *International  
Journal of Speleology*, ISSN: 0392-6672, (versão preliminar).

## RESUMO

Cavernas são sistemas peculiares que apresentam características importantes do ponto de vista ecológico e evolutivo. No entanto, são sistemas frágeis, sujeitos a impactos severos, muitos dos quais advindos de ações antrópicas. Por isso, faz-se necessário o entendimento de padrões de diversidade, o que auxilia na proposição de medidas adequadas de manejo e conservação. A partir disso, o objetivo principal do presente estudo foi verificar como a diversidade de insetos aquáticos e de grupos funcionais alimentares (GFA), variam temporalmente em função dos componentes da diversidade e da precipitação regional, em três riachos subterrâneos. Os componentes da diversidade variaram significativamente em diferentes escalas espaciais nos rios subterrâneos. De forma geral, a diversidade- $\alpha$  tendeu a ser menos representativa, e a variar menos temporalmente, do que os componentes da diversidade- $\beta$ . Além disso, as variações da diversidade apontaram para uma maior contribuição de  $\beta_2$  à diversidade total de espécies, indicando a importância do pool regional de espécies. Por fim, os valores de diversidade, tanto para a comunidade como um todo, quanto para os coletores-catadores e omnívoros, tenderam a diminuir com o aumento da precipitação regional. As maiores vazões lixiviam alguns organismos, persistindo na caverna, somente aqueles capazes de suportar sua maior intensidade. Dessa forma, períodos de maior vazão, levam à homogeneização das comunidades aquáticas subterrâneas. Por outro lado, a pluviosidade não apresentou relações com os dados de diversidade de predadores, que apresentam maior mobilidade. Tais níveis tróficos superiores, são muito mais susceptíveis à mudanças em função da disponibilidade presas, do que por flutuações na vazão. Com isso, o presente estudo fornece bases para a compreensão dos padrões de diversidade de comunidades de insetos aquáticos subterrâneos, e indica a necessidade da realização de levantamentos faunísticos que contemplem ao menos dois períodos, um de menor e outro de maior vazão. A partir disso, espera-se alcançar dados mais confiáveis do padrão de diversidade dessas comunidades, para a proposição de medidas de manejo e conservação. Além disso, espera-se contribuir para o entendimento da real área de influência do ambiente externo sob a comunidade cavernícola. A relação da pluviosidade com os padrões observados, fornecem um indicativo da dimensão dessa área de influência.

**Palavras-chave:** partição da diversidade, pluviosidade, bentos, invertebrados, caverna.

## INTRODUÇÃO

Cavernas compreendem ambientes pouco atrativos para diversas formas de vida aquática. A ausência permanente de luz, que determina uma frequente dependência do ambiente subterrâneo por recursos alimentares alóctones (Howarth 1983), se torna um fator limitante à colonização por invertebrados aquáticos (Gunn et al. 2000). Com isso, muitos organismos que acessam as cavernas por meio da deriva, acabam colonizando um ambiente pouco favorável ao estabelecimento de populações viáveis. Um dos fatores que facilitam essa dispersão por deriva, é resultado de mudanças na vazão e velocidade da correnteza (Gibbins et al. 2010). Além disso, tanto a composição taxonômica quanto a abundância, são influenciados pelas taxas de vazão do rio (Castro et al. 2013a), sendo fortemente ditados por padrões sazonais (Castro et al. 2013b). Com isso, alguns autores consideram que os efeitos da vazão são tão marcantes sobre a comunidade de um riacho, que deve ser visto como o fator ambiental principal da estruturação de ecossistemas lóticos (Hart & Finelli 1999). A vazão de um riacho é um fator determinante não somente para a dispersão de invertebrados, afetando ainda a forma de aquisição de recursos, uso do habitat e interações ecológicas, tanto de presa-predador, quanto de competição de organismos bentônicos (Hart & Finelli 1999). Com isso, o regime de vazões é um parâmetro importante na dinâmica das comunidades aquáticas. Tal dinâmica pode ser mensurada através de padrões de diversidade, sendo a diversidade de espécies maximizada em um nível intermediário de distúrbio, que pode ser causado por flutuações naturais da vazão (Connel 1978).

Ainda que flutuações da vazão sejam capazes de ditar diversos processos ecológicos e condições biológicas (Hart & Finelli 1999), muitos estudos focaram em tentar compreender padrões da diversidade. Tais padrões são importantes na determinação de medidas que sejam eficientes no manejo e conservação da biodiversidade (Zajac et al. 2013). No entanto, para proposições de manejo e

conservação adequadas, se faz necessário entender padrões de diversidade ecológica no espaço e no tempo, além da compreensão dos fatores que regem esses padrões (Zajac et al. 2013). Nesta perspectiva, alguns estudos concentraram esforços na tentativa de compreender como padrões espaciais se refletem na diversidade  $\alpha$  e  $\beta$ , e como os padrões de diversidade variam entre diferentes grupos taxonômicos e funcionais (e.g. Stendera & Johnson 2005, De Bello et al. 2009, Declerck et al. 2010, Yang et al. 2015). Padrões de diversidade podem refletir a heterogeneidade espacial de um ambiente (Zajac et al. 2013), estando o padrão de distribuição dos organismos intimamente relacionado aos atributos funcionais de cada espécie. Com isso, é de se esperar que tais padrões sejam moldados de acordo com o grupo funcional analisado.

Funções ecológicas podem ser descritas como atributos biológicos que refletem a adaptação das espécies às condições ambientais existentes (Townsend & Hildrew 1994). Um atributo comumente utilizado, é mensurado através de estratégias de alimentação dos organismos, que refletem as adaptações das espécies ao ambiente. Em regiões temperadas, o padrão de distribuição de grupos funcionais alimentares estão diretamente relacionados aos gradientes dos rios (River Continuum Concept – Vannote et al. 1980), sendo que tais padrões também são relatados para regiões neotropicais (Baptista et al. 1998). Com isso, seria de se esperar que diferentes grupos funcionais alimentares apresentassem padrões distintos de diversidade em escala espacial e temporal.

Assumindo a importância dos componentes temporais e espaciais de diversidade para o entendimento de padrões de comunidades, o objetivo principal do presente estudo foi avaliar como os componentes da diversidade de insetos aquáticos variam temporalmente, em função da precipitação regional, em três riachos cavernícolas na região Sul de Minas Gerais, Brasil. Partiu-se da hipótese nula de que os componentes da diversidade dos insetos em escala-específica não apresentariam diferenças significativas em sua contribuição para

a diversidade total, e que não haveria variação significativa em sua contribuição relativa ao longo do tempo em função da pluviosidade. Um objetivo secundário, foi o de verificar se o padrão observado nos componentes da diversidade variam de acordo com o grupo funcional alimentar (GFA). Por fim, avaliou-se se o padrão encontrado para a comunidade em geral é ditado por algum GFA específico.

## **METODOLOGIA**

### Local de estudo

Os dados de composição e abundância de insetos aquáticos foram obtidos em três rios subterrâneos, todos eles localizados em cavernas quartzíticas. Tais cavernas compreendem sistemas de rios de primeira ordem, que percorrem a superfície e depois acessam o ambiente subterrâneo, sendo estes chamados de rios alogênicos (Miller 1996). As cavernas gruta do Mandembe (S 21°32'3810" e W 44°47'5730") e gruta Serra Grande (S 21°33'3350" e W 44°49'1070"), localizam-se no município de Luminárias, enquanto que a gruta da Toca (S 21°28'2400" e W 44°40'0200"), localiza-se no município de Carrancas. Todas elas se inserem na região sul de Minas Gerais e compreendem áreas de vegetação de transição entre os biomas Cerrado e Mata Atlântica, caracterizadas como campos limpos com entaves de matas ciliares nos talvegues (onde se inserem as cavernas).

Embora a vazão tenha sido medida em cada evento amostral, ela não refletia as variações da vazão nos períodos entre amostragens. Dessa forma, seriam ignorados eventos de pulsos de inundação. Por isso, optou-se por utilizar a pluviosidade diária média como indicador da variação da vazão nestes períodos. Os dados pluviométricos foram obtidos da Agência Nacional de Águas (ANA). A partir dos dados históricos diários das estações de Luminárias e de

Carrancas dos anos 2013 e 2014, foi calculada a pluviosidade média diária nos 30 dias anteriores aos 11 eventos amostrais em cada caverna em estudo.

#### Coleta de insetos aquáticos

A coleta dos insetos aquáticos foi realizada ao longo de 11 transectos em cada rio subterrâneo, havendo uma distância mínima de 10 metros entre transectos. A amostragem da fauna se deu por meio da coleta de três réplicas em cada um dos transectos, realizada com o auxílio de rede de *surber*, com área amostral equivalente a 400 cm<sup>2</sup>. Os espécimes coletados foram colocados em potes etiquetados (informações da caverna, ponto de coleta e data), contendo álcool 96%. Cada ponto de coleta foi demarcado com fitas, possibilitando que o procedimento de coleta se repetisse mensalmente ao longo de um ano de estudos, nos mesmos pontos amostrais. Somente entre a primeira e segunda coleta, houve uma distância temporal maior. Com isso, totalizou-se 11 eventos amostrais em cada um dos rios subterrâneos. Vale ressaltar que este estudo fez parte de um projeto maior, no qual um dos objetivos foi o de avaliar mudanças na comunidade em função de um distúrbio experimental. No entanto, tendo em vista que não foram detectadas diferenças significativas em nenhuma das variáveis da comunidade em função do distúrbio, o mesmo foi desconsiderado em todas as análises deste trabalho.

Os espécimes coletados foram identificados em laboratório ao menor nível taxonômico possível (sendo a maior parte deles ao nível de gênero), usando um estereomicroscópio (STEMI 2000) e seguindo listas taxonômicas de identificação de espécies (Elson-Harris 1990, Merritt & Cummins 1996, Benetti et al. 2003, Olifiers et al. 2004, Salles et al. 2004, Manzo 2005, Michat et al. 2008, Segura et al. 2011, Hamada et al. 2014). Em preparação para as análises, a planilha de dados foi padronizada ao nível de gênero, sendo que foram raros os táxons agrupados em níveis taxonômicos mais elevados.

Em seguida, os insetos aquáticos foram classificados de acordo com seu grupo funcional alimentar baseando-se em Merritt & Cummins (1996), Merritt et al. (2005), Baptista et al. (2006), Oliveira & Nessimian (2010). Os dados foram organizados em uma planilha a partir da qual foram retiradas as espécies raras (*singletons* e *doubletons*) (McCune and Grace, 2002). Acrescentar espécies raras poderia falsear resultados dos reais valores de diversidade, uma vez que estas espécies raras poderiam ser acidentais, coletadas meramente ao acaso.

#### Análises de dados

Para acessar a contribuição para a diversidade em cada escala espacial avaliada, foi conduzida a partição aditiva da diversidade considerando-se a comunidade como um todo, e depois separadamente para cada grupo funcional alimentar, também em cada evento amostral, sendo os grupos utilizados aqueles que apresentaram representantes em todos os eventos amostrais, sendo eles: Coletores-Filtradores (CF), Coletores-Catadores (CG), Omnívoros (OM) e Predadores (PR). Além desses, foram encontrados organismos pertencentes aos grupos dos fragmentadores e dos raspadores, no entanto não possuíam abundância representativa de organismos em todos os eventos amostrais. Para tal, foi utilizada a função ADIPART (*Additive Diversity Partitioning and Hierarchical Null Model Testing*), sendo utilizado o índice de riqueza ("RICHNESS"), rodando um total de 10000 simulações, do pacote VEGAN. Os gráficos contendo as proporções de cada um dos elementos da diversidade foram construídos a partir da função GGLOT do pacote GGLOT2. Todas as análises foram conduzidas através do programa R, versão 3.2.4 (R Development Core Team. 2016).

A partição hierárquica da diversidade total das três cavernas em estudo (diversidade- $\gamma$ ), incluiu a diversidade- $\alpha$  local (relativa à média dos transectos coletados) e diversidade- $\beta$  (entre as diferentes localidades), que foi subdividida em  $\beta_1$  (entre transectos) e  $\beta_2$  (entre cavernas). Foi verificado se haviam

diferenças espaciais entre os valores de diversidade por meio de análise de Kruskal-Walis, por meio da função `KRUSKAL.TEST` do pacote `STATS`, através do programa R, versão 3.2.4 (R Development Core Team. 2016).

Para acessar diferenças temporais dos componentes da diversidade em função de variações na pluviosidade, entre cada evento amostral, a partição aditiva obtida para toda a comunidade e para cada grupo funcional alimentar, foram testadas para cada evento amostral separadamente. Para verificar se havia diferenças entre os componentes da diversidade (diversidade- $\alpha$ ,  $\beta_1$  e  $\beta_2$ ), e se a variação dos valores ocorreu em função dos dados de pluviosidade, foram realizadas análises de GLM (*Generalised Linear Models*), utilizando-se a função `GLM` do pacote `STATS` (a normalidade foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk). Para todos os dados não paramétricos, a distribuição dos erros dos dados que melhor se ajustou foi da família *gaussian*. Em seguida foi utilizada a função `DREDGE` do pacote `MUMIN`, para testar todas as combinações possíveis das variáveis incluídas no modelo global. Para determinar quais das variáveis explanatórias foram as mais importantes na determinação da diversidade beta temporal, foi utilizada uma abordagem teórica dos dados por meio do critério de  $AIC_c$  (*Akaike Information Criterion of Second Order*), função `MODEL.SEL` do pacote `MUMIN`. Como a variável diversidade- $\alpha$ , fica “retida” no intercepto, realizou-se uma análise de contraste por meio da função `LSMEANS` do pacote `LSMEANS` no intuito de verificar a influência de cada componente da diversidade. Para verificar o poder explicativo de cada fator explicativo do modelo, foi utilizada a função `ANOVA` do pacote `STATS`. Todas as análises foram conduzidas através do programa R, versão 3.2.4 (R Development Core Team. 2016).

Por fim, nos casos em que a pluviosidade foi relacionada aos valores de diversidade, foram plotados gráficos de *scatterplots* a fim de se verificar qual a relação específica da pluviosidade com cada componente da diversidade



(diversidade- $\alpha$ ,  $\beta_1$  e  $\beta_2$ ). Tais gráficos foram construídos por meio do programa STATISTICA.

## RESULTADOS

### Características gerais da comunidade

Foram encontrados 110 táxons de insetos aquáticos (de um total de mais de 8111 indivíduos), sendo esta, a estimativa da diversidade- $\gamma$  da região ao longo de um ano de estudos. O pool de espécies foi dominado por Diptera (48 taxa), Coleoptera (17 taxa), Trichoptera (16 taxa), Ephemeroptera (11 taxa) e Odonata (8 taxa), sendo que os demais táxons somaram 11 taxa. Os gêneros numericamente mais abundantes foram *Tanytarsus spp.* (1113 sp. - Diptera), *Simulium spp.* (831 sp.- Diptera), *Caladomyia spp.* (688 sp. - Diptera), *Endotribelos spp.* (598 sp. - Diptera), *Askola spp.* (366 sp. - Ephemeroptera) e *Simothraulopsis spp.* (349 sp. - Ephemeroptera). Tais organismos somaram cerca de 48 % do total da abundância de insetos aquáticos coletados (ANEXOS 1, 2 e 3).

Os coletores-filtradores foram o grupo funcional alimentar principal (33.7%), seguido pelos coletores-catadores (20.36%), omnívoros (19.58%), predadores (16.2%), raspadores (5.39%) e fragmentadores (4.77%), em relação à abundância total de indivíduos. Por outro lado, o grupo mais rico foi o de predadores (43 sp.), seguido pelos coletores-catadores (32 sp.), omnívoros (15 sp.) e coletores-filtradores, raspadores e fragmentadores (os três com 7 sp. cada).

### Partição da diversidade

A partição da diversidade realizada para cada evento amostral, mostrou que a diversidade- $\gamma$  permaneceu abaixo do esperado durante todo o estudo, e a contribuição relativa de cada um dos componentes da diversidade não apresentou diferenças marcantes entre os períodos amostrais (Figura 1). A diversidade- $\alpha$  local média permaneceu relativamente constante, sendo que, ao se

avaliar todos elementos da comunidade,  $\alpha$  variou entre 8,25 e 13,72% do total de espécies, e permaneceu significativamente menor do que a esperada randomicamente ao longo de todo o período de estudos. As contribuições relativas dos componentes da diversidade- $\beta$  ( $\beta_1$  e  $\beta_2$ ) para a diversidade- $\gamma$ , apresentaram variações mais marcantes ao longo do período de estudo. As contribuições relativas de  $\beta_1$  variaram entre 36,77 e 45,11%, sendo que mais uma vez os valores apresentados foram significativamente menores do que os esperados randomicamente. Em escala regional (diferenças entre cavernas), os valores de  $\beta_2$  variaram entre 44,44 e 54,49%, e desta vez permaneceram significativamente ( $p < 0.05$ ) maiores do que o esperado randomicamente ao longo de todo o período de estudo. Somente no nono evento amostral (coletas de Fevereiro de 2014), que o valor de  $\beta_2$  observado foi menor do que o esperado randomicamente ( $p > 0.05$ ).

Ao se avaliar cada grupo funcional alimentar separadamente, para os Coletores-Filtradores (CF), a contribuição da diversidade- $\alpha$  local média foi relativamente maior do que para toda a comunidade em conjunto, havendo ainda uma maior variação temporal de sua contribuição relativa à diversidade total, entre 20 e 40,48%. Somente na oitava coleta, (referente ao mês de Janeiro de 2014), os valores de diversidade- $\alpha$  observados para os CF foram maiores do que os esperados. Para todos os demais eventos amostrais, a diversidade- $\alpha$  observada foi significativamente menor do que a esperada. As contribuições relativas dos componentes da diversidade- $\beta$  ( $\beta_1$  e  $\beta_2$ ) para a diversidade- $\gamma$  dos CF, apresentaram diferenças temporais menos marcantes, variando entre 26,19 e 43,33% para os valores de  $\beta_1$ , embora em vários eventos amostrais os valores de  $\beta_1$  tenham sido menores do que o esperado, contrariamente ao resultado encontrado para a comunidade em geral. E os valores de  $\beta_2$  variaram entre 26,66 e 54,16%, que também apresentaram vários valores observados menores do que

o esperado randomicamente, diferentemente do padrão encontrado pra comunidade em geral.

Para os Coletores-Catadores (CG), os valores relativos da diversidade- $\alpha$  local média variaram entre 9,88 e 17,61%, sendo que em um único período (correspondente à décima coleta), a diversidade- $\alpha$  observada foi maior do que a esperada. A contribuição relativa dos componentes da diversidade- $\beta$  ( $\beta_1$  e  $\beta_2$ ) para a diversidade- $\gamma$  apresentaram variações temporais mais evidentes.  $\beta_1$  variou entre 29,17 e 44,59%, sendo os valores observados menores do que o esperado, enquanto que  $\beta_2$  variou entre 39,39 e 54,16%, sendo os valores maiores do que o esperado randomicamente. Somente na décima primeira coleta, relativa ao mês de Abril de 2014, o valor observado foi menor do que o esperado.

Para os Omnívoros (OM), os valores relativos da diversidade- $\alpha$  local média variaram entre 12,58 e 27,27%, e permaneceram significativamente menores do que a esperada ao longo de todo o período de estudos. A contribuição relativa dos componentes da diversidade- $\beta$  ( $\beta_1$  e  $\beta_2$ ) para a diversidade- $\gamma$  apresentaram variações temporais um pouco mais evidentes.  $\beta_1$  variou entre 21,33 e 38,33%, sendo os valores observados menores do que o esperado randomicamente. Somente na nona coleta, relativa ao mês de Fevereiro de 2014, o valor de  $\beta_1$  foi maior do que o esperado.  $\beta_2$  foi o componente que apresentou maior variação temporal, entre 40 e 64,10%, sendo os valores observados maiores do que o esperado. Esse padrão foi diferente somente na nona coleta, onde  $\beta_2$  foi menor do que o esperado.

O mesmo padrão foi observado para os Predadores (PR), que apresentaram valores de diversidade- $\alpha$  local média variando entre 8,63 e 15,38%, a menor variação entre os grupos funcionais alimentares analisados, e permaneceu significativamente menor do que a esperada ao longo de todo o período de estudos. Da mesma foram do padrão observado para os OM, a contribuição relativa dos componentes da diversidade- $\beta$  ( $\beta_1$  e  $\beta_2$ ) para a

diversidade- $\gamma$  apresentaram variações temporais um pouco mais evidentes.  $\beta_1$  variou entre 31,66 e 40,74%, sendo os valores observados menores do que o esperado.  $\beta_2$  variou entre 48,15 e 56,86%, sendo os valores observados maiores do que o esperado randomicamente. Somente na décima coleta, esse padrão foi diferente, quando  $\beta_2$  variou entre observado foi menor do que o esperado.

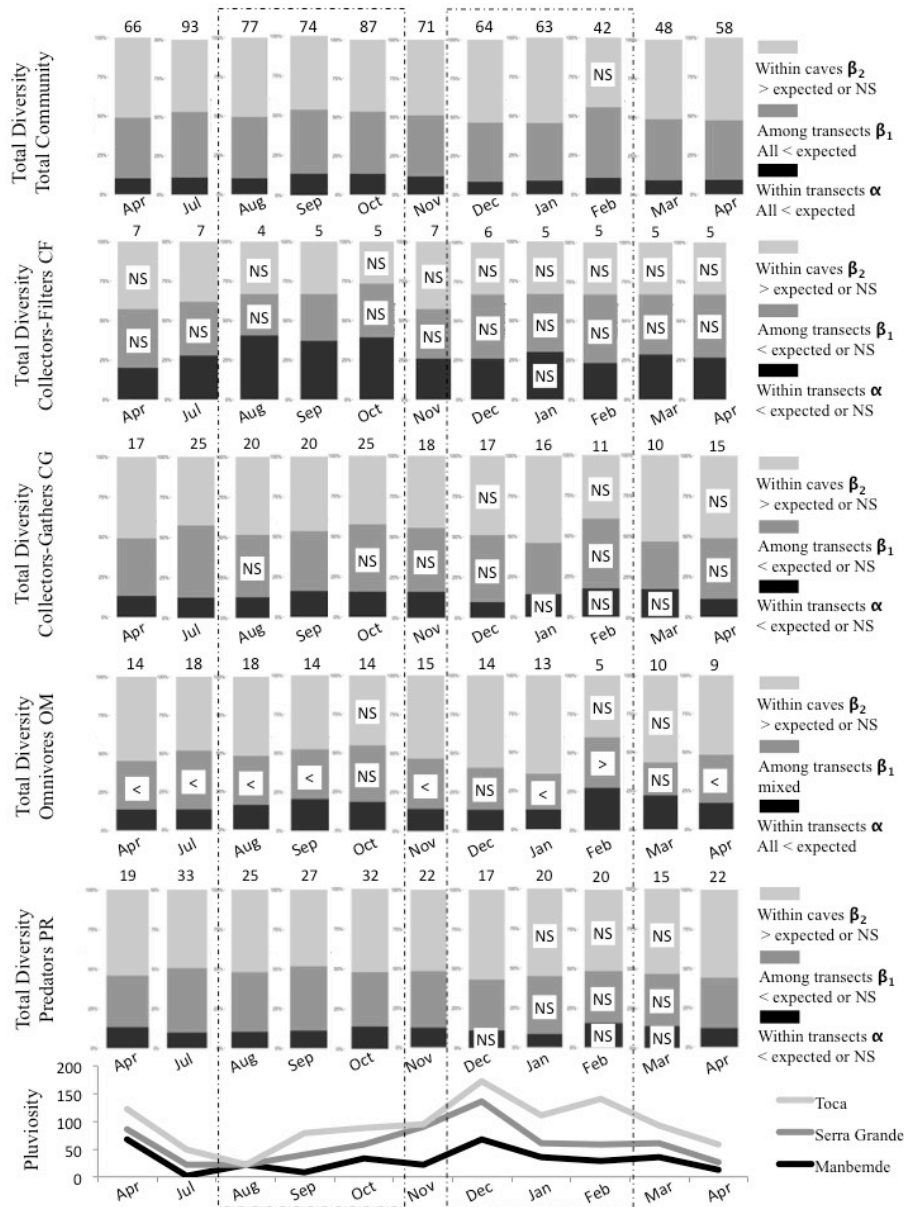


Figura 1: Resultados da partição aditiva da diversidade da riqueza de espécies entre três riachos subterrâneos, realizada para a comunidade como um todo, e para cada grupo funcional alimentar separadamente. Resultados dos testes de randomização são dados à direita da figura “>” indica a contribuição maior do que a esperada randomicamente significativamente ( $p < 0.05$ ) naquela escala; “<” contribuição menor do que a esperada; NS indica o não significativo

( $p > 0.05$ ) do randômico. No topo de cada barra de representação da diversidade, consta a riqueza de gêneros coletada. O último gráfico de linhas representa a variação dos dados da pluviosidade média diária obtidos para cada caverna em estudo. Os retângulos pontilhados representam: o da esquerda quando começam as primeiras chuvas do ano e o da direita o período de maiores pluviosidades na região.

A contribuição média dos componentes da diversidade à riqueza total de espécies de toda a comunidade (Figura 2), foi significativamente diferente entre as escalas espaciais consideradas ( $Mw_{GERAL} = 23,17$ ;  $p = 0,000009$ ). O componente que teve maior contribuição foi  $\beta_2$ . Os coletores-filtradores não apresentaram diferenças significativas entre os componentes da diversidade ( $F_{CF} = 2,338_{ANOSIM}$ ;  $p = 0,114$ ). Todos os demais grupos funcionais alimentares apresentaram diferenças significativas na contribuição média dos componentes da diversidade em relação à riqueza total ao longo do tempo ( $Mw_{CG} = 21,73$ ;  $p = 0,00002$ ;  $Mw_{OM} = 18,79$ ;  $p = 0,00008$ ;  $Mw_{PR} = 23,74$ ;  $p = 0,000007$ ). Em todos os casos onde observou-se diferenças significativas, o componente  $\beta_2$  foi o que apresentou a maior contribuição para a diversidade.

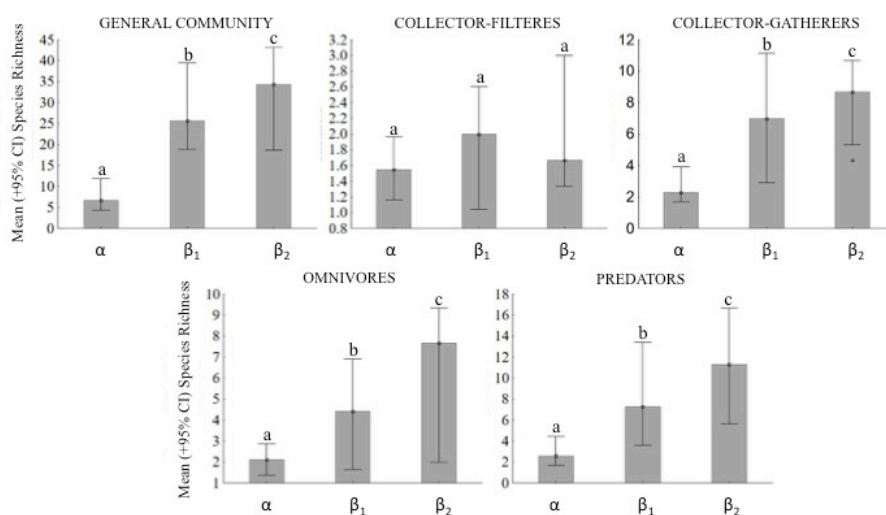


Figura 2: Diferenças temporais na contribuição média (+95% Intervalo de Confiança) de cada elemento da diversidade para a riqueza de espécies nas três cavernas em

estudo. Realizamos teste de ANOVA ou Mann-Whitney para verificar diferenças entre as médias de cada componente da diversidade. As letras minúsculas representam resultados do teste, os componentes da diversidade representados pela mesma letra não apresentaram diferenças significativas ( $p > 0.05$ ).

Além da explicação dada pelos diferentes componentes da diversidade à variação dos dados, os dados da pluviosidade regional compõem um fator explicativo à variação dos valores de diversidade (Tabela 1). O melhor modelo gerado pelo GLM mostra que a variação dos dados de diversidade de toda a comunidade é fortemente relacionada aos componentes da diversidade (diversidade- $\alpha$ ,  $\beta_1$  e  $\beta_2$ ) e também negativamente associada aos dados de pluviosidade. Tais fatores, juntos, são capazes de explicar 99% da variação dos dados (Tabela 1a).

Ao se considerar somente as espécies que fazem parte do GFA de coletores-filtradores, o melhor modelo selecionado foi o modelo nulo, que é capaz de explicar 37% da variação dos dados de diversidade (Tabela 1b). A mesma resposta foi encontrada para os predadores, para os quais o melhor modelo selecionado foi o modelo nulo, no qual nenhuma das variáveis foi capaz de explicar a variação dos dados de diversidade. O modelo nulo é capaz de explicar 39% da variação dos dados de diversidade (Tabela 1e).

O melhor modelo explicativo para os coletores-catadores explicou 90% da variação dos dados de diversidade, sendo influenciado pelo componente da diversidade e negativamente pela pluviosidade (Tabela 1c). O mesmo padrão foi encontrado para os omnívoros, para os quais o melhor modelo explicativo explicou 98% da variação dos dados de diversidade, sendo influenciado pelo componente da diversidade e negativamente pela pluviosidade (Tabela 1d).

Tabela 1: Resultados dos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para os efeitos dos componentes da diversidade (diversidade- $\alpha$ ,  $\beta_1$  e  $\beta_2$ ), e da pluviosidade regional, nos valores de diversidade da comunidade em geral e para cada grupo funcional alimentar, sendo que a família utilizada para todos os modelos foi a Gaussiana. São apresentados somente o melhor modelo explicativo de cada análise, que são aqueles com os maiores valores de AICc

e menores delta. São apresentados ainda os resultados da análise de contraste entre as variáveis categóricas, que são os componentes da diversidade (diversidade- $\alpha$ ,  $\beta_1$  e  $\beta_2$ ). Os valores apresentados mostram o coeficiente da estimativa, erro padrão, porcentagem de explicação de cada variável do modelo, razão de z ou valor de t, e valor de p de cada variável.

	<b>Estimate</b>	<b>Std. Error</b>	<b>Explana tion (%)</b>	<b>z ratio</b>	<b>t value</b>	<b>P (&gt;t)</b>
<b>(a) GLM: General Community ~ Diversity Components (diversity-<math>\alpha</math>, <math>\beta_1</math> e <math>\beta_2</math>) + Pluviosity</b>						
Intercept	12.765	2.08	-	-	6.134	<0.001
$\alpha - \beta_1$	-19.567	2.03		9.62	-	<0.001
$\alpha - \beta_2$	-26.147	2.03	80.85	12.85	-	<0.001
$\beta_1 - \beta_2$	-6.579	2.03		3.23	-	0.0035
Pluviosity	-1.542	0.42	7.46	-	3.651	0.001
<b>(b) GLM: Collector-Filterers ~ Null Model</b>						
Intercept	1.598	0.14	37.5	-	11.258	<0.001
<b>(c) GLM: log(Collector-Gatherers) ~ Diversity Components (diversity-<math>\alpha</math>, <math>\beta_1</math> e <math>\beta_2</math>) + Pluviosity</b>						
Intercept	1.391	0.22	-	-	6.411	<0.001
$\alpha - \beta_1$	-1.014	0.21		4.78	-	<0.001
$\alpha - \beta_2$	-1.228	0.21	51.45	5.79	-	<0.001
$\beta_1 - \beta_2$	-0.214	0.21		1.01	-	0.5719
Pluviosity	-0.117	0.04	18.46	-	2.656	0.0127
<b>(d) GLM: log(Omnivores) ~ Diversity Components (diversity-<math>\alpha</math>, <math>\beta_1</math> e <math>\beta_2</math>) + Pluviosity</b>						
Intercept	1.08	0.15	-	-	7.427	<0.001
$\alpha - \beta_1$	-0.6	0.14		4.22	-	<0.001
$\alpha - \beta_2$	-1.13	0.14	61.24	7.97	-	<0.001
$\beta_1 - \beta_2$	-0.53	0.14		3.75	-	<0.001
Pluviosity	-0.099	0.03	17.71	-	3.357	0.002
<b>(e) GLM: log(Predators) ~ Null Model</b>						
Intercept	0.456	0.07	39.6	-	6.109	<0.001



Nos casos em que a pluviosidade se relacionou aos dados de diversidade, diversidade geral, de coletores-catadores e omnívoros, todos os seus componentes (diversidade- $\alpha$ ,  $\beta_1$  e  $\beta_2$ ), apresentaram relação negativa com os dados de pluviosidade diária média nos trinta dias anteriores às coletas (Figura 3). A partir dos gráficos é possível observar que a influência negativa da pluviosidade sob a variação dos componentes da diversidade é bem mais intensa para os componentes de diversidade  $\beta_1$  e  $\beta_2$ .

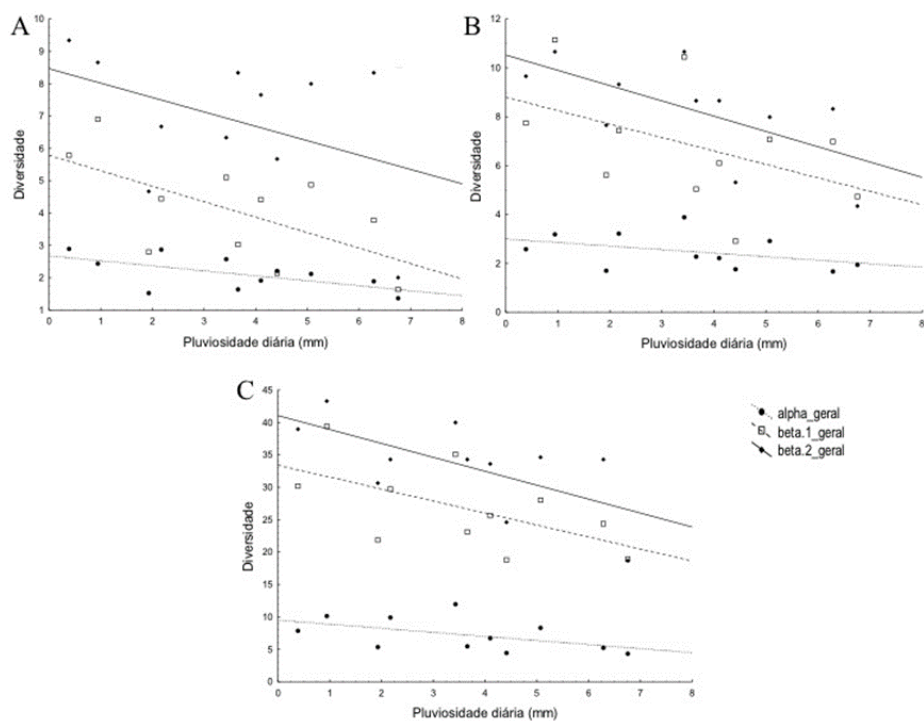


Figura 3: Relações entre a variação de cada componente da diversidade com a variação da pluviosidade média diária. A) Dados de diversidade para a comunidade em geral; B) Dados de diversidade dos coletores-catador; C) Dados de diversidade dos omnívoros.

## DISCUSSÃO

### *Características gerais da comunidade*

Os grupos funcionais alimentares (GFA) mais abundantemente encontrados compreenderam majoritariamente os coletores, tanto catadores quanto filtradores. Ambos os grupos são comumente bem representativos em riachos de cabeceira (Vannote et al. 1980). No entanto, diferentemente do esperado, os fragmentadores apresentaram baixa abundância de indivíduos. Além disso, estudos em regiões temperadas revelaram que esta proporção não se mantém em regiões de baixas latitudes (e.g. Oliveira & Nessimian 2010). Alguns estudos sugerem que existem menos fragmentadores nestas regiões, em função das altas concentrações de compostos tóxicos na vegetação tropical (e.g. Boyero et al. 2009, Wantzen et al. 2002).

Predadores, por sua vez, apresentaram uma proporção de indivíduos ligeiramente maior do que a esperada para rios da região Sudeste do Brasil. Embora rios neotropicais possuam, em sua composição, cerca de 23 % de organismos dessa guilda (Bispo et al. 2007), no sudeste brasileiro essa representatividade cai drasticamente. Estudos mostraram que os valores máximos de abundância obtidos para a região sudeste do Brasil são próximos a 14% em rios de quarta ordem (Silveira et al. 2006), sendo que no presente estudo, foram encontrados valores ligeiramente maiores (cerca de 16%).

Diferenças nas proporções dos grupos funcionais em cavernas, quando comparadas às esperadas no ambiente epígeo, poderiam ser esperadas. As características peculiares desses ambientes acabam por restringir a colonização das cavernas, podendo haver um agrupamento das características funcionais da comunidade (Pipan & Culver 2012). No entanto, Isópodos (Oniscidea) em cavernas brasileiras apresentaram uma maior diversificação de grupos funcionais no ambiente hipógeo (Fernandes et al. 2016), o que segundo os autores, não seria esperado em função das características restritivas das cavernas. No entanto,

muitos dos atributos avaliados por Fernandes e colaboradores (2016) estavam altamente relacionados aos troglomorismos (como a presença de mecanorreceptores característicos, que melhoram estratégias em ambientes úmidos, e orientação no escuro). Assim, ao serem consideradas características ligadas aos troglomorismos, obviamente é de se esperar uma maior diversidade funcional em sistemas subterrâneos. Comunidades aquáticas subterrâneas por sua vez, também podem apresentar uma maior diversificação de grupos funcionais, dada por uma maior diferenciação de nichos (Fišer et al. 2012). É fundamental, no entanto, que estudos que intencionem verificar a diversificação de grupos funcionais entre sistemas epígeos e hipógeos considerem unidades, de fato, comparáveis, excluindo-se, por exemplo, grupos restritos a somente um destes ambientes.

#### Partição da diversidade

O padrão exibido pela comunidade em geral, foi o mesmo apresentado pelos coletores-catadores e omnívoros nos riachos em estudo. Nestes, os maiores valores de pluviosidade foram associados à diminuição de todos os componentes da diversidade. A dispersão à deriva realizada por diversos organismos, pode contribuir para este padrão, uma vez que as maiores vazões facilitam a dispersão (Gibbins et al. 2010). Com isso, podem ocorrer mudanças na distribuição espacial das espécies, sendo que diferentes organismos podem ser carreados para jusante do rio, conseqüentemente, ocorrendo a redução da diversidade- $\alpha$  das cavernas. Outros estudos também demonstraram uma diminuição da riqueza de espécies de invertebrados em função de maiores vazões (e.g. Quinn & Hickey 2010, Bunn & Arthington 2002). Impactos na comunidade aquática em função de aumentos súbitos de vazão, podem resultar em diminuições em até 14% da biota bentônica (Layzer et al. 1989). Seria de se esperar que tal efeito da vazão sob a comunidade cavernícola fosse ainda mais acentuado, dada as características de confinamento do canal dentro dos limites de uma caverna.

Eventos de vazões extremas no ambiente subterrâneo, são capazes de lixiviar toda a massa de sedimentos através da caverna (Gundy & White 2009). Com isso, não somente os sedimentos são transportados e realocados, mas também os organismos que se associam à este ambiente, de uma forma ainda mais intensa do que no riacho de superfície.

Concomitantemente, os componentes da diversidade- $\beta$  também diminuem em relação aos maiores eventos de pluviosidade. Isso indica que a vazão, ao reduzir a riqueza local das cavernas, possibilita a persistência, na comunidade, somente dos organismos mais bem adaptados ao ambiente cavernícola. Com isso, os persistentes se encontram mais homoganeamente distribuídos ao longo do canal subterrâneo, diminuindo, assim, os valores de diversidade- $\beta_1$ . Além disso, tais grupos que permanecem no interior das cavernas, são provavelmente aqueles que possuem algum tipo de pré-adaptação à estes ambientes. Tais adaptações incluem a capacidade de se orientarem na ausência de luz, e hábitos alimentares mais generalistas (Pipan & Culver 2012), havendo uma maior similaridade entre os diferentes riachos subterrâneos em estudo, levando à redução da diversidade- $\beta_2$ . No entanto, caso ocorra o isolamento dessas populações no interior de cavernas, após o estabelecimentos de organismos selecionados por um evento inundaçã, pode ocorrer o aumento da diversidade- $\beta_2$ . Estas populações pré-adaptadas à estes ambientes seriam eventualmente propensas a evoluir nestes ambientes, o que culminaria em populações de estigóbios, restritas ao ambiente subterrâneo. Estigóbios apresentam uma contribuição única à biodiversidade, sendo que seu elevado endemismo possibilita a investigação de questões no âmbito evolutivo, ecológico e conservacionista (Maurice 2009).

Por outro lado, em períodos de menor vazão, ocorre uma reestruturação das comunidades, havendo a colonização da caverna por novos grupos, elevando todos os componentes da diversidade. Ainda que estudos apontem para um

aumento da disponibilidade de matéria orgânica no período de maiores pluviosidades, o que levaria ao aumento na riqueza de espécies, estudos conduzidos em cavernas da região neotropical apontam na direção contrária (Souza-Silva et al. 2011). Segundo os autores, pulsos de inundação no interior de cavernas são responsáveis por remover continuamente recursos orgânicos de seu interior, depauperando não somente os recursos disponíveis, mas também a fauna que se associa a este. A maior competição promovida pela nova composição da comunidade, com maior riqueza de espécies, restringe os nichos dos organismos nas cavernas (Culver 1970). Com isso, aqueles organismos capazes de se estabelecer, acabam por procurar micro-habitats mais favoráveis à sua persistência. Outros estudos apontam, ainda, para uma alta especificidade de alguns organismos por substratos específicos (Oliveira & Nessimian 2010). Entre outros fatores, o tipo de substrato aparece como um importante fator estruturador de comunidades. Estes determinam os locais preferenciais para a alimentação e também locais que ofereçam abrigos aos invertebrados (Palmer et al. 2010). Além dessa diferenciação de nichos, os novos elementos colonizadores, advindos do pool regional de espécies, acabam por promover maiores diferenças entre cavernas, sendo um subconjunto do rio de superfície à montante (Death 1989). Com isso, ocorre a elevação dos valores de diversidade- $\beta_2$  encontrados nos períodos de menor vazão.

Os diferentes padrões apresentados de acordo com o GFA, podem estar ligados às particularidades de alguns grupos. Coletores-filtradores, raspadores e fragmentadores, são mais sensíveis às variações de temperatura, redução de captação de recursos alimentares alóctones e condições mais lânticas (Bogan & Lytle 2007). Tais fatores são altamente relacionados à variações da vazão do rio, e também à variações sazonais. Com isso, seria de se esperar que estes grupos apresentassem maiores relações com a pluviosidade, o que de fato não ocorreu para os coletores-filtradores. Por outro lado, para a comunidade como um todo, a

pluviosidade foi capaz de explicar negativamente somente cerca de 7% da variação nos valores de diversidade, sendo que para os coletores-catadores e omnívoros, o poder de explicação elevou-se para cerca de 18% (Tabela 1). No entanto, embora os coletores-filtradores sejam sensíveis às mudanças na vazão, estes não possuíram relações com os valores de pluviosidade. Para este grupo, o modelo nulo foi o que melhor explicou a variação nos dados de diversidade. Possivelmente, outros parâmetros ecológicos tais como a competição por matéria orgânica particulada fina, que também é consumida por coletores-catadores, conferem outros padrões à este grupo que não o inicialmente esperado.

Outro grupo que apresentou relação com o modelo nulo foi o dos predadores. Outros fatores, que não somente a variação na vazão do rio, foram responsáveis por ditar os padrões exibidos por predadores. Estes organismos são de alta mobilidade, podendo migrar por meio da natação para locais que lhe ofereçam melhores condições de vida, como áreas com maior disponibilidade de alimento (Bogan & Lytle 2007). Os adultos também auxiliam na dispersão ativa, uma vez que voam para locais mais propícios à reprodução (Bogan & Lytle 2007), especialmente em se tratando da diversidade- $\beta_2$ . Organismos adultos podem dispersar para rios próximos, mudando os padrões de distribuição espacial desse GFA, alterando os valores de  $\beta_2$ . O forrageamento de organismos de níveis tróficos superiores, é tido como um mecanismo capaz de flexibilizar teias tróficas, levando inclusive à maior estabilização destas (Eveleigh et al. 2007). Seu efeito estabilizador se torna especialmente interessante em ambientes altamente dinâmicos, como é o caso dos riachos subterrâneos alogênicos em estudo.

Outro grupo que apresentou um padrão diferente do esperado, considerando-se os dados de literatura, foram os coletores-catadores. Estes representam o grupo menos especializado em alimentação (Cummins & Merritt

1996), podendo permanecer em locais independentemente de flutuações na vazão (Bogan & Lytle 2007). Com isso, seria esperado que flutuações nos padrões de diversidade desses organismos fossem menos evidentes. Em contrapartida, nos rios subterrâneos em estudo, a pluviosidade influenciou negativamente a diversidade do grupo. Os períodos de maior vazão foram responsáveis por homogeneizar a distribuição espacial da assembleia dos coletores-catadores. Possivelmente, mudanças relacionadas à outros fatores que não fluruacões na vazão, são responsáveis por diminuir a diversidade de CG durante as maiores vazões. Como por exemplo relações de predação, com a maior mobilidade de predadores, ou competição por recursos alimentares (Bogan & Lytle 2007).

Com base neste trabalho pode-se concluir que organismos pertencentes aos grupos funcionais alimentares de coletores-catadores e de omnívoros representam melhor o padrão geral exibido pela comunidade. As relações apresentadas com a vazão dos riachos em estudo foram as mesmas, sendo que flutuações na vazão são tidas como principal fator estruturador de comunidades aquáticas (Hart & Finelli 1999). Além disso, a partir deste estudo é possível inferir que a realização de levantamentos de fauna aquática cavernícola que contemplem somente uma estação sazonal, poderia levar à políticas públicas errôneas de manejo e conservação de fauna. Os menores valores de  $\beta_2$  observados em períodos de seca, poderiam levar à interpretação errônea de que a preservação de poucos riachos seriam suficientes para a preservação de grande parte da diversidade regional. Sistemas cavernícolas são sensíveis à pequenas mudanças ambientais, e estão sob a constante ameaça de impactos antrópicos, tais como mineração, exploração de recursos hídricos, turismos desordenado, dentre outros (Romero 2009). Com isso, o entendimento dos padrões de diversidade espaciais e temporais exibidos por esses sistemas ameaçados se

tornam emergenciais, para a proposição de ações apropriadas de manejo e conservação da biota cavernícola.

No âmbito da conservação de comunidades cavernícolas, um assunto que vem sendo amplamente tratado pela legislação brasileira é a área de influência das cavernas. Segundo a resolução do CONAMA (2004), esta área compreende: “*os elementos bióticos e abióticos, superficiais e subterrâneos, necessários à manutenção do equilíbrio ecológico e da integridade física do ambiente cavernícola*”. No entanto, determinar qual seria esta área se torna quase impraticável, dado o quadro de grande desconhecimento da ecologia e dinâmica dos ambientes subterrâneos brasileiros. Frente a este cenário, o presente estudo fornece informações para o direcionamento de pesquisas nesta área. Investigar a interferência de fatores externos à caverna, como a pluviosidade, mostra a importância que pode ser dada à toda uma micro-bacia nos padrões de diversidade encontrados. A homogeneização das comunidades pertencentes à diferentes cavernas em função de diferentes vazões, fornecem indícios à real dimensão da área de influência de uma caverna, que pelo presente estudo, transcende as áreas que compreendem apenas uma microbacia.

#### **AGRADECIMENTOS**

Gostaríamos de agradecer aos integrantes do Centro de Referência em Biologia Subterrânea, pelo auxílio nas coletas de campo. Ao pessoal do laboratório de zoobentos da Universidade Estadual de Maringá, pelo auxílio na identificação dos insetos aquáticos, em especial à Gisele Pinha e Dr. Roger Mormul. Ao Dr. Paulo Pompeu, Dr. Luiz Magnago e também à Msc. Laís Maia pelas sugestões em análises estatísticas. À CAPES pela concessão de minha bolsa de estudos.



## REFERÊNCIAS

- Baptista D.F., Buss D.F., Dorvillé L.F.M., Nessimian J.L., 1998 - *O conceito de continuidade de rios é válido para rios de Mata Atlântica no sudeste do Brasil?* In: Nessimian JL, Carvalho AI, eds. *Ecologia de Insetos Aquáticos, Séries Oecologia Brasiliensis*. Rio de Janeiro. Vol5: Insetos Aquáticos, p 209-222.
- Batista D.F., Buss D.F., Dias L.G., Nessimian J.L., Da-Silva E.R., De Moraes Neto A.H.A., De Carvalho S.N., De Oliveira M.A., Rade L.R., 2006 - *Functional Feeding groups of Brazilian Ephemeroptera nymphs: ultrastructure of mouthparts*. *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology*, **42(2)**: 87-96.
- Benetti C.J., Cueto J.A.R. & Fiorentin G.L., 2003 - *Gêneros de Hyadradephaga (Coleoptera: Dytiscidae, Gyridae, Haliplidae, Noteridae) citados para o Brasil, com chaves para identificação*. *Biota Neotropica*, **3(1)**: BN00803012003.
- Bogan M.T. & Lytle D.A., 2007 - *Seasonal flow variation allows “time-sharing” by dispartate aquatic insects communities in montane desert streams*. *Freshwater Biology*, **52**: 290-304. DOI: 10.1111/j.1365-2427.2006.01691.x
- Boyero L., Ramírez A., Dudgeon D., Pearson D.G., 2009 - *Are tropical streams really different?* *Journal of North American Benthological Society*, **28(2)**: 397-403. <http://dx.doi.org/10.1899/08-146.1>
- Bunn S.E. & Arthington A.H., 2002 - *Basic Principles and Ecological Consequences of Altered Flow Regimes for Aquatic Biodiversity*. *Environmental Management*, **30(4)**: 492-507.
- Castro D.M.P., Hugues R.M. & Callisto M., 2013a - *Influence of peak flow changes on the macroinvertebrate drift downstream of a Brazilian hydroelectric dam*. *Braz. J. Biol*, **73(4)**: 774- 782. DOI: 10.1590/S1519-698420130004000013.
- Castro D.M.P., Hugues R.M., Callisto M., 2013b - *Effects of flow fluctuations on the daily and seasonal drift of invertebrates in a tropical river*. *Ann. Limnol. – Int. J. Lim*, **49**: 169-177. DOI: 10.1051/limn/2013051.
- Connell J.H., 1978 - *Diversity in Tropical Rain Forest and Coral Reefs*. *Science*, **199(4335)**: 1302-1310.
- Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA, 2004 - *Resolução nº 347, de 10 de Setembro de 2004*. *Diário Oficial da União, República Federativa do Brasil*, edição 176.
- Crisci-Bispo V.L.C., Bispo P.C., Froehlich C.G., 2007 - *Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera assemblages in two Atlantic Rainforest streams, Southeastern Brazil*. *Revista Brasileira de Zoologia*, **24(2)**: 312-318

- Culver D.C., 1970 - *Analysis of Simple Cave Communities: Niche Separation and Species Packing*. *Ecology*, **51(6)**: 949-958.
- Cummins K.W. & Merritt R.W., 1996 - *Ecology and distribution of aquatic insects*. In: *An Introduction to the Aquatic Insects of North America* (Eds R.W. Merritt & K.W. Cummings), pp. 74–97. Kendall/Hunt, Dubuque.
- De Bello F., Thuiller W., Lepš J., Choler P., Clément J.C., Macek P., Sebastià M.T. & Lavorel S., 2009 - *Partitioning of functional diversity reveals the scale and extent of trait convergence and divergence*. *Journal of Vegetation Science*. **20**: 475–486. DOI: 10.1111/j.1654-1103.2009.01042.x
- Death R.G., 1989 - *The effect of a cave on benthic invertebrate communities in a South Island stream*. *New Zealand Natural Sciences*, **16**: 67-78.
- Declerck S.A.J., Coronel J.S., Legendre P. & Brendonck L., 2010 - *Scale dependency of processes structuring metacommunities of cladocerans in temporary pools of High-Andes wetlands*. *Ecography*, **34**: 296–305.
- Elson-Harris M.M., 1990 - *Keys to the immature stages of some Australian Ceratopogonidae (Diptera)*. *J.Aust. Ent. Soc.*, **29**: 267-275.
- Eveleigh E.S., McCann K.S., McCarthy P.C., Pollock S.J., Lucarotti C.J., Morin B., McDougall G.A., Strongman D.B., Huber J.T., Umbanhowar J., Faria L.D.B., 2007 - *Fluctuations in density of an outbreak species drive diversity cascades in food webs*. *PNAS*. **104(43)**: 16976-16981. Doi/10.1073/pnas.0704301104
- Fernandes C.S., Batalha M.A. & Bichuette M.E., 2016 - *Does the cave environment reduce functional diversity?* *PLoS ONE*, **11(3)**: e0151958. DOI: 10.1371/journal.pone.0151958
- Fišer C., Blejcek A. & Trontelj P., 2012 - *Niche-based mechanisms operating within extreme habitats: a case study of subterranean amphipod communities*. *Biology Letters Community Ecology*, 1-4. DOI: 10.1098/rsbl.2012.0125
- Gibbins C.N., Vericat D. & Batalla R.J., 2010 - *Relations between invertebrate drift and flow velocity in sand-bed and riffle habits and the limits imposed by substrate stability and benthic density*. *The North American Benthological Society*, **29(3)**: 945-958. DOI: 10.1899/09-096.1
- Gibbins C.N., Vericat D. & Batalla R.J., 2010 - *Relations between invertebrate drift and flow velocity in sand-bed and riffle habitats and the limits imposed by substrate stability and benthic density*. *Journal of the North American Benthological Society*, **29(3)**:945-958 DOI: <http://dx.doi.org/10.1899/09-096.1>
- Gundy J.J.V. & White W.B., 2009 - *Sediment flushing in Mystic Cave, West Virginia, USA, in response to the 1985 Potomac Valley flood*. *International Journal of Speleology*, **38(2)**: 103-109.

- Gunn J., Hardwick P. & Wood P.J., 2000 - *The invertebrate community of the Peak-Speedwell cave system, Derbyshire, England – pressures and consideration for conservation management*. Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems, **10**: 353-369.
- Hamada N., Nessimian J.L. & Querino R.B., 2014 - *Insetos Aquáticos na Amazônia brasileira: taxonomia, biologia e ecologia*. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. 724p.
- Howarth F.G., 1983 - *Ecology of cave arthropods*. Annual Review of Entomology, **28**: 365–389.
- Hart D.D., & Finelli C.M., 1999 - *Physical-biological coupling in streams: the pervasive effects of flow on benthic organisms*. Annual Review of Ecology and Systematics, **30**: 363-395.
- Layzer J.B., Nehus T.J., Pennington W., Gore J.A. & Nestler J.M., 1989 - *Seasonal variation in the composition of drift below a peaking hydroelectric project*. Regulated Rivers: Research and Management, **3**: 305–317.
- Manzo V., 2005 - *Key to the South American genera of Elmidae (Insecta: Coleoptera) with distributional data*. Studies on Neotropical Fauna and Environment, **40(3)**: 201-208.
- Maurice L., 2009 - *Groundwater Ecology Literature Review*. British Geological Survey Open Report, OR/09/061. 37pp.
- Merritt R.W., Cummins K.W. & Berg M.B., 2008 - *An Introduction to the Aquatic Insects of North American*. 4th edition. Kendal: Hunt Publishing Company. 1158p.
- Michat M.C., Archangelsky M. & Bachmann A.O., 2008 - *Generic keys for the identification of larval Dytiscidae from Argentina (Coleoptera: Adephaga)*. Rev. Soc. Entomol. Argent., **67(3-4)**: 17-36.
- Olifiers MH, Dorvillé LFM, Nessimian JL & Hamada N (2004) A key to Brazilian genera of Plecoptera (Insecta) based on nymphs. Zootaxa 651: 1-15.
- Oliveira A.L.H. & Nessimian J.L., 2010 - *Spatial distribution and functional feeding groups of aquatic insects communities in Serra da Bocaina streams, southeastern Brazil*. Acta Limnologica Brasiliensis, **22(4)**: 424-441.
- Palmer M.A., Menninger H.L. & Bernhardt E., 2010 - *River restoration, habitat heterogeneity and biodiversity: a failure of theory or practice*. Freshwater Biology, **55(Suppl. 1)**: 205-222. doi:10.1111/j.1365-2427.2009.02372.x
- Pipan T. & Culver D.C., 2012 - *Convergence and divergence in the subterranean realm: a reassessment*. Biological Journal of the Linnean Society, **107**: 1-14.

- Quinn J.M. & Hickey C.W., 1990 - *Magnitude of effects of substrate particle size, recent flooding, and catchment development on benthic invertebrates in 88 New Zealand rivers*. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research, **24(3)**: 411-427, DOI: 10.1080/00288330.1990.9516433
- R Development Core Team, 2012 - *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Romero A., 2009 - *Cave Biology - Life in Darkness*. Published in the United States of America by Cambridge University Press, New York, 215 pp.
- Salles F.F., Da-Silva E.R., Serrão J.E. & Francischetti C.N., 2004 - *Systematics, Morphology and Physiology. Baetidae (Ephemeroptera) na região sudeste do Brasil: novos registros e chave para os gêneros no estágio ninfal*. Neotropical Entomology, **33(5)**: 725-735.
- Silveira M.P., Buss D.F., Nessimian J.L. & Baptista D.F., 2006 - *Spatial and temporal distribution of benthic macroinvertebrates in a southeastern Brazilian river*. Brazilian Journal of Biology, **66(2B)**: 623-632.
- Souza-Silva M., Martins R.P. & Ferreira R.L., 2011 - *Trophic Dynamics in a Neotropical Limestone Cave*. Subterranean Biology, **9**: 127-138.
- Stendera S. & Johnson R., 2005 - *Additive partitioning of aquatic invertebrate species diversity across multiple spatial scales*. Freshwater Biology, **50**: 1360-1375.
- Townsend C.R. & Hildrew A.G., 1994 - *Species traits in relation to a habitat templet for river systems*. Freshwater Biology, **31**: 265-275.
- Vannote R.L., Minshall G.W., Cummins K.W., Sdell J.R. & Cushing C.E., 1979 - *The River Continuum Concept*. Can. J. Fish. Aquat. Sci., **37**: 130-137.
- Zajac R.N., Vozarik J.M. & Gibbons B.R., 2008 - *Spatial and temporal patterns in macrofaunal diversity components relative to sea floor landscape structure*. PLoS ONE, **8(6)**: e65823. DOI:10.1371/journal.pone.0065823
- Wantzen K.M., Wagner R., Suetfeld R. & Junk W.J., 2002 - *How do plant-herbivore interactions of trees influence coarse detritus processing by shredders in aquatic ecosystems of different latitudes?* Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie, **28**: 1-7.
- Yang J., Swenson N.G., Zhang G., Ci X., Cao M., Sha L., Li J., Slik J.W.F. & Lin L., 2015 - *Local-scale Partitioning of Functional and Phylogenetic Beta Diversity in a Tropical Tree Assemblage*. Scientific Reports, **5**:12731 DOI:10.1038/srep12731

**ANEXO 1: Genera list found for each Functional Feeding Group at each sampled cave. “To be continued”**

TAXON	Gruta Mandembe					
	CF	CG	OM	PR	SC	SH
<b>COLEOPTERA</b>						
<b>Dytiscidae</b>						
<i>Bidessonotus</i> spp.	0	0	0	15	0	0
<i>Bidessonotus</i> spp. - larva	0	0	0	7	0	0
<i>Desmopachria</i> spp.	0	0	0	5	0	0
<i>Laccophilus</i> spp.	0	0	0	12	0	0
<i>Laccophilus</i> spp. - larva	0	0	0	1	0	0
<b>Elmidae</b>						
<i>Austrolimnius</i> spp.	0	0	0	0	4	0
<i>Austrolimnius</i> spp. - larva	0	0	0	0	97	0
<i>Gyrelmis</i> spp.	0	6	0	0	0	0
<i>Heterelmis</i> spp.	0	0	2	0	0	0
<i>Heterelmis</i> spp. - larva	0	0	6	0	0	0
<i>Hexacylloepus</i> spp.	0	0	1	0	0	0
<i>Hexacylloepus</i> spp. - larva	0	0	2	0	0	0
<i>Macrelmis</i> spp.	0	0	3	0	0	0
<i>Macrelmis</i> spp. - larva	0	0	162	0	0	0
<i>Neoelmis</i> spp.	0	0	8	0	0	0
<i>Neoelmis</i> spp. - larva	0	0	52	0	0	0
<i>Phanocerus</i> spp. - larva	0	0	0	0	11	0
<i>Xenelmis</i> spp.	0	0	2	0	0	0
<i>Xenelmis</i> spp. - larva	0	0	3	0	0	0
<b>Gyrinidae</b>						
<i>Gyretes</i> spp.	0	0	0	5	0	0
<b>DIPTERA</b>						
<b>Ceratopogonidae</b>						
<i>Atrichopogon</i> spp.	0	9	0	0	0	0
<i>Bezzia</i> spp.	0	0	0	43	0	0
<i>Culicoides</i> spp.	0	0	0	7	0	0
<i>Forcipomyia</i> spp.	0	6	0	0	0	0
<b>Chironomidae</b>						

**ANEXO 1:** Genera list found for each Functional Feeding Group at each sampled cave. “To be continued”

TAXON	Gruta Mandembe					
	CF	CG	OM	PR	SC	SH
Chironomidae new gen.	0	8	0	0	0	0
<i>Ablabesmyia</i> spp.	0	0	0	48	0	0
<i>Beardius</i> spp.	0	15	0	0	0	0
<i>Brundiniella</i> spp.	0	0	0	6	0	0
<i>Caladomyia</i> spp.	458	0	0	0	0	0
<i>Chironomus</i> spp.	0	11	0	0	0	0
<i>Constempellina</i> spp.	0	16	0	0	0	0
<i>Corynoneura</i> spp.	0	55	0	0	0	0
<i>Djalmabatista</i> spp.	0	0	0	4	0	0
<i>Endotribelos</i> spp.	0	161	0	0	0	0
<i>Fittkauimyia</i> spp.	0	0	0	1	0	0
<i>Labrundinia</i> spp.	0	0	0	23	0	0
<i>Larsia</i> spp.	0	0	0	12	0	0
<i>Limnophyes</i> spp.	0	5	0	0	0	0
<i>Nanocladius</i> spp.	0	7	0	0	0	0
<i>Nilothauma</i> spp.	0	9	0	0	0	0
<i>Onconeura</i> spp.	0	16	0	0	0	0
<i>Orthocladus</i> spp.	0	3	0	0	0	0
<i>Parakiefferiella</i> spp.	0	7	0	0	0	0
<i>Parametriocnemus</i> spp.	0	64	0	0	0	0
<i>Parapentaneura</i> spp.	0	0	0	5	0	0
<i>Paratanytarsus</i> spp.	0	19	0	0	0	0
<i>Paratendipes</i> spp.	0	3	0	0	0	0
<i>Pentaneura</i> spp.	0	0	0	63	0	0
<i>Polypedilum</i> spp.	0	0	0	0	0	164
<i>Rheotanytarsus</i> spp.	27	0	0	0	0	0
<i>Stempellinella</i> spp.	0	12	0	0	0	0
<i>Stenochironomus</i> spp.	0	0	0	0	0	15
<i>Tanytarsus</i> spp.	785	0	0	0	0	0
<i>Thienemannia</i> spp.	0	10	0	0	0	0
<i>Thienemanniella</i> spp.	0	5	0	0	0	0

**ANEXO 1:** Genera list found for each Functional Feeding Group at each sampled cave. “To be continued”

TAXON	Gruta Mandembe					
	CF	CG	OM	PR	SC	SH
<i>Xestochironomus</i> spp.	0	0	4	0	0	0
<i>Zavreliella</i> spp.	0	177	0	0	0	0
<b>Dixidae</b>						
<i>Dixella</i> spp.	0	3	0	0	0	0
<b>Empididae</b>						
Empididae spp.	0	0	0	4	0	0
<b>Simulidae</b>						
<i>Simulium</i> spp.	803	0	0	0	0	0
<b>Tipulidae</b>						
Tipulidae spp.	0	0	0	23	0	0
<b>EPHEMEROPTERA</b>						
<b>Baetidae</b>						
<i>Americabaetis</i> spp.	0	8	0	0	0	0
<i>Baetodes</i> spp.	0	0	0	0	7	0
<i>Cloeodes</i> spp.	0	18	0	0	0	0
<i>Paracloeodes</i> spp.	0	0	0	0	11	0
<i>Waltzophius</i> spp.	0	56	0	0	0	0
<i>Zelus</i> spp.	0	78	0	0	0	0
<b>Leptohiphidae</b>						
<i>Tricorythopsis</i> spp.	0	4	0	0	0	0
<b>Leptophlebiidae</b>						
<i>Askola</i> spp.	0	0	286	0	0	0
<i>Hagenulopsis</i> spp.	0	0	188	0	0	0
<i>Massartella</i> spp.	0	0	23	0	0	0
<i>Simothraulopsis</i> spp.	0	0	338	0	0	0
<b>HEMIPTERA</b>						
<b>Naucoridae</b>						
<i>Limnocoris</i> spp.	0	0	0	3	0	0
<b>Veliidae</b>						
<i>Rhagovelia</i> spp.	0	0	0	27	0	0
<b>MEGALOPTERA</b>						

**ANEXO 1: Genera list found for each Functional Feeding Group at Mandembe cave. “Conclusion”**

TAXON	Gruta Mandembe					
	CF	CG	OM	PR	SC	SH
<b>Corydalidae</b>						
<i>Corydalus</i> spp.	0	0	0	11	0	0
<b>ODONATA</b>						
<b>Calopterygidae</b>						
Calopterygidae spp.	0	0	0	37	0	0
<b>Coenagrionidae</b>						
<i>Argia</i> spp.	0	0	0	162	0	0
<b>Libellulidae</b>						
<i>Dythemis</i> spp.	0	0	0	3	0	0
<b>Megapodagrionidae</b>						
<i>Heteragrion</i> spp.	0	0	0	5	0	0
<b>PLECOPTERA</b>						
<b>Gripopterygidae</b>						
<i>Gripopteryx</i> spp.	0	0	3	0	0	0
<i>Paragripopteryx</i> spp.	0	0	7	0	0	0
<i>Tupiperla</i> spp.	0	32	0	0	0	0
<b>Perlidae</b>						
<i>Anacroneuria</i> spp.	0	0	0	1	0	0
<i>Kempnyia</i> spp.	0	0	0	13	0	0
<b>TRICHOPTERA</b>						
<b>Calamoceratidae</b>						
<i>Phylloicus</i> spp.	0	0	0	0	0	23
<b>Helicopsychidae</b>						
<i>Helicopsyche</i> spp.	0	0	0	0	26	0
<b>Hydrobiosidae</b>						
<i>Atopsyche</i> spp.	0	0	0	8	0	0
<b>Hydropsychidae</b>						
<i>Macrostemum</i> spp.	6	0	0	0	0	0
<b>Hydroptilidae</b>						
<i>Alisotrichia</i> spp.	0	0	0	86	0	0
<i>Neotrichia</i> spp.	0	0	0	0	211	0
<i>Oxyethira</i> spp.	0	0	8	0	0	0



**ANEXO 1:** Genera list found for each Functional Feeding Group at Mandembe cave. “Conclusion”

TAXON	Gruta Mandembe					
	CF	CG	OM	PR	SC	SH
<b>Leptoceridae</b>						
<i>Grumichella</i> spp.	0	0	0	0	10	0
<i>Nectopsyche</i> spp.	0	0	24	0	0	0
<i>Notalina</i> spp.	0	0	0	0	0	13
<i>Oecetis</i> spp.	0	0	0	14	0	0
<i>Triplectides</i> spp.	0	0	0	0	0	3
<b>Odontoceridae</b>						
<i>Barypenthus</i> spp.	0	0	0	0	0	7
<b>Polycentropodidae</b>						
<i>Polycentropus</i> spp.	0	0	0	18	0	0
<b>Total Abundance</b>	<b>2079</b>	<b>823</b>	<b>1122</b>	<b>672</b>	<b>377</b>	<b>225</b>

**ANEXO 2: Genera list found for each Functional Feeding Group at Serra Grande Cave. “To be continued”**

TAXON	Gruta Serra Grande					
	CF	CG	OM	PR	SC	SH
<b>COLEOPTERA</b>						
<b>Elmidae</b>						
<i>Austrolimnius</i> spp.	0	0	0	0	4	0
<i>Austrolimnius</i> spp. - larva	0	0	0	0	19	0
<i>Gyrelmis</i> spp.	0	10	0	0	0	0
<i>Heterelmis</i> spp. - larva	0	0	47	0	0	0
<i>Hexacylloepus</i> spp.	0	0	4	0	0	0
<i>Hexacylloepus</i> spp. - larva	0	0	6	0	0	0
<i>Macrelmis</i> spp.	0	0	2	0	0	0
<i>Macrelmis</i> spp. - larva	0	0	2	0	0	0
<i>Microcyllloepus</i> spp.	0	0	3	0	0	0
<i>Microcyllloepus</i> spp. - larva	0	0	3	0	0	0
<i>Neoelmis</i> spp.	0	0	12	0	0	0
<i>Neoelmis</i> spp. - larva	0	0	10	0	0	0
<i>Xenelmis</i> spp.	0	0	1	0	0	0
<i>Xenelmis</i> spp. - larva	0	0	3	0	0	0
<b>DIPTERA</b>						
<b>Ceratopogonidae</b>						
<i>Bezzia</i> spp.	0	0	0	10	0	0
<b>Chironomidae</b>						
Chironomidae new gen.	0	22	0	0	0	0
<i>Ablabesmyia</i> spp.	0	0	0	7	0	0
<i>Caladomyia</i> spp.	60	0	0	0	0	0
<i>Chironomus</i> spp.	0	7	0	0	0	0
<i>Constempellina</i> spp.	0	11	0	0	0	0
<i>Corynoneura</i> spp.	0	8	0	0	0	0
<i>Endotribelos</i> spp.	0	94	0	0	0	0
<i>Larsia</i> spp.	0	0	0	5	0	0
<i>Lopescladius</i> spp.	0	5	0	0	0	0
<i>Onconeura</i> spp.	0	3	0	0	0	0
<i>Parametricnemus</i> spp.	0	13	0	0	0	0

**ANEXO 2:** Genera list found for each Functional Feeding Group at Serra Grande Cave. “To be continued”

TAXON	Gruta Serra Grande					
	CF	CG	OM	PR	SC	SH
<i>Pentaneura</i> spp.	0	0	0	11	0	0
<i>Polypedilum</i> spp.	0	0	0	0	0	22
<i>Rheotanytarsus</i> spp.	9	0	0	0	0	0
<i>Stenochironomus</i> spp.	0	0	0	0	0	9
<i>Tanytarsus</i> spp.	101	0	0	0	0	0
<i>Xestochironomus</i> spp.	0	0	7	0	0	0
<i>Zavreliella</i> spp.	0	9	0	0	0	0
<b>Simuliidae</b>						
<i>Simulium</i> spp.	28	0	0	0	0	0
<b>Tipulidae</b>						
Tipulidae spp.	0	0	0	6	0	0
<b>EPHEMEROPTERA</b>						
<b>Baetidae</b>						
<i>Americabaetis</i> spp.	0	5	0	0	0	0
<i>Cloeodes</i> spp.	0	12	0	0	0	0
<i>Zelus</i> spp.	0	14	0	0	0	0
<b>Leptophlebiidae</b>						
<i>Askola</i> spp.	0	0	80	0	0	0
<i>Hagenulopsis</i> spp.	0	0	36	0	0	0
<i>Simothraulopsis</i> spp.	0	0	11	0	0	0
<b>MEGALOPTERA</b>						
<b>Corydalidae</b>						
<i>Corydalis</i> spp.	0	0	0	13	0	0
<b>ODONATA</b>						
<b>Coenagrionidae</b>						
<i>Acanthagrion</i> spp.	0	0	0	8	0	0
<i>Argia</i> spp.	0	0	0	15	0	0
<b>PLECOPTERA</b>						
<b>Perlidae</b>						

**ANEXO 2: Genera list found for each Functional Feeding Group at Serra Grande cave. “Conclusion”**

TAXON	Gruta Serra Grande					
	CF	CG	OM	PR	SC	SH
<i>Anacroneuria</i> spp.	0	0	0	4	0	0
<i>Kempnyia</i> spp.	0	0	0	4	0	0
<b>TRICHOPTERA</b>						
<b>Calamoceratidae</b>						
<i>Phylloicus</i> spp.	0	0	0	0	0	11
<b>Helicopsychidae</b>						
<i>Helicopsyche</i> spp.	0	0	0	0	3	0
<b>Hydrobiosidae</b>						
<i>Atopsyche</i> spp.	0	0	0	3	0	0
<b>Hydroptilidae</b>						
<i>Alisotrichia</i> spp.	0	0	0	10	0	0
<i>Neotrichia</i> spp.	0	0	0	0	34	0
<b>Leptoceridae</b>						
<i>Nectopsyche</i> spp.	0	0	10	0	0	0
<i>Oecetis</i> spp.	0	0	0	13	0	0
<b>Polycentropodidae</b>						
<i>Polycentropus</i> spp.	0	0	0	21	0	0
<b>Total Abundance</b>	<b>198</b>	<b>213</b>	<b>237</b>	<b>130</b>	<b>60</b>	<b>42</b>

## ANEXO 3: Genera list found for each Functional Feeding Group at Toca cave.

“To be continued”

TAXON	Gruta da Toca				
	CF	CG	OM	PR	SH
<b>COLEOPTERA</b>					
<b>Dytiscidae</b>					
<i>Bidessonotus</i> spp.	0	0	0	18	0
<i>Bidessonotus</i> spp. - larva	0	0	0	2	0
<i>Copelatus</i> spp.	0	0	0	4	0
<i>Copelatus</i> spp. - larva	0	0	0	8	0
<i>Laccophilus</i> spp.	0	0	0	11	0
<i>Laccophilus</i> spp. - larva	0	0	0	8	0
<b>Elmidae</b>					
<i>Gyrelmis</i> spp.	0	4	0	0	0
<i>Heterelmis</i> spp.	0	0	46	0	0
<i>Heterelmis</i> spp. - larva	0	0	99	0	0
<i>Hexacylloepus</i> spp.	0	0	10	0	0
<i>Hexacylloepus</i> spp. - larva	0	0	52	0	0
<i>Macrelmis</i> spp.	0	0	1	0	0
<i>Macrelmis</i> spp. - larva	0	0	3	0	0
<i>Neoelmis</i> spp.	0	0	1	0	0
<i>Neoelmis</i> spp. - larva	0	0	6	0	0
<i>Xenelmis</i> spp.	0	0	6	0	0
<i>Xenelmis</i> spp. - larva	0	0	5	0	0
<b>Hydrophilidae</b>					
<i>Hydrobius</i> spp.	0	0	0	2	0
<i>Hydrobius</i> spp. - larva	0	0	0	5	0
<b>Scirtidae</b>					
<i>Scirtes</i> spp. - larva	0	0	0	0	5
<b>DIPTERA</b>					
<b>Ceratopogonidae</b>					
<i>Bezzia</i> spp.	0	0	0	12	0
<i>Forcipomyia</i> spp.	0	14	0	0	0
<b>Chironomidae</b>					
Chironomidae new gen.	0	16	0	0	0

**ANEXO 3:** Genera list found for each Functional Feeding Group at Toca cave.

“To be continued”

TAXON	Gruta da Toca				
	CF	CG	OM	PR	SH
<i>Ablabesmyia</i> spp.	0	0	0	79	0
<i>Caladomyia</i> spp.	170	0	0	0	0
<i>Chironomus</i> spp.	0	87	0	0	0
<i>Constempellina</i> spp.	0	10	0	0	0
<i>Corynoneura</i> spp.	0	21	0	0	0
<i>Cryptochironomus</i> spp.	0	0	0	20	0
<i>Endotribelos</i> spp.	0	343	0	0	0
<i>Fittkauimyia</i> spp.	0	0	0	15	0
<i>Gymnometriocnemus</i> spp.	0	4	0	0	0
<i>Larsia</i> spp.	0	0	0	20	0
<i>Onconeura</i> spp.	0	6	0	0	0
<i>Parametriocnemus</i> spp.	0	49	0	0	0
<i>Parapentaneura</i> spp.	0	0	0	5	0
<i>Pentaneura</i> spp.	0	0	0	20	0
<i>Polypedilum</i> spp.	0	0	0	0	53
<i>Rheotanytarsus</i> spp.	28	0	0	0	0
<i>Stempellinella</i> spp.	0	4	0	0	0
<i>Stenochironomus</i> spp.	0	0	0	0	12
<i>Tanytarsus</i> spp.	227	0	0	0	0
<i>Zavreliella</i> spp.	0	17	0	0	0
<b>Corethrellidae</b>					
<i>Corethrella</i> spp.	0	0	0	7	0
<b>Dolichopodidae</b>					
<i>Dolichopodidae</i> spp.	0	0	0	5	0
<b>Empididae</b>					
<i>Empididae</i> spp.	0	0	0	3	0
<b>Psychodidae</b>					
<i>Pericoma</i> spp.	0	16	0	0	0
<b>Tabanidae</b>					
Tabanidae spp.	0	0	0	123	0
<b>Tipulidae</b>					

## ANEXO 3: Genera list found for each Functional Feeding Group at Toca cave.

“To be continue”

TAXON	Gruta da Toca				
	CF	CG	OM	PR	SH
Tipulidae spp.	0	0	0	12	0
<b>EPHEMEROPTERA</b>					
<b>Baetidae</b>					
<i>Cloeodes</i> spp.	0	12	0	0	0
<i>Waltzoyphius</i> spp.	0	4	0	0	0
<b>HEMIPTERA</b>					
<b>Belostomatidae</b>					
<i>Belostoma</i> spp.	0	0	0	3	0
<b>Pleidae</b>					
<i>Neoplea</i> spp.	0	0	0	7	0
<b>Veliidae</b>					
<i>Rhagovelia</i> spp.	0	0	0	14	0
<b>ODONATA</b>					
<b>Aeshnidae</b>					
<i>Anax</i> spp.	0	0	0	6	0
<b>Coenagrionidae</b>					
<i>Argia</i> spp.	0	0	0	65	0
<b>Corduliidae</b>					
<i>Neocordulia</i> spp.	0	0	0	3	0
<b>Perilestidae</b>					
<i>Perilestes</i> spp.	0	0	0	4	0
<b>PLECOPTERA</b>					
<b>Gripopterygidae</b>					
<i>Tupiperla</i> spp.	0	8	0	0	0
<b>Perlidae</b>					
<i>Anacroneuria</i> spp.	0	0	0	9	0
<b>TRICHOPTERA</b>					
<b>Calamoceratidae</b>					
<i>Phylloicus</i> spp.	0	0	0	0	43
<b>Hydropsychidae</b>					
<i>Leptonema</i> spp.	16	0	0	0	0

**ANEXO 3:** Genera list found for each Functional Feeding Group at Toca cave.

“Conclusion”

TAXON	Gruta da Toca				
	CF	CG	OM	PR	SH
<i>Smicridea</i> spp.	16	0	0	0	0
<b>Hydroptilidae</b>					
<i>Alisotrichia</i> spp.	0	0	0	14	0
<b>Leptoceridae</b>					
<i>Oecetis</i> spp.	0	0	0	3	0
<i>Triplectides</i> spp.	0	0	0	0	7
<b>Polycentropodidae</b>					
<i>Polycentropus</i> spp.	0	0	0	5	0
<b>Total Abundance</b>	<b>457</b>	<b>615</b>	<b>229</b>	<b>512</b>	<b>120</b>