



**VANESSA MENDES MARTINS**

**BIODIVERSIDADE ENTERRADA: NICHO AMBIENTAL,  
FUNCIONAL E AMEAÇAS A ISÓPODES TROGLÓBIOS**

**LAVRAS-MG**

**2021**

**VANESSA MENDES MARTINS**

**BIODIVERSIDADE ENTERRADA: NICHOS AMBIENTAIS, FUNCIONAIS E  
AMEAÇAS A ISÓPODES TROGLÓBIOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, área de concentração em Levantamento e descrição da biodiversidade e sua relação com o ambiente, para a obtenção do título de Doutora.

Prof. Dr. Rodrigo Lopes Ferreira  
Orientador

**LAVRAS-MG**

**2021**

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

Martins, Vanessa Mendes.

Biodiversidade enterrada: nicho ambiental, funcional e ameaças  
a isópodes troglóbios / Vanessa Mendes Martins. - 2021.

94 p. : il.

Orientador(a): Rodrigo Lopes Ferreira.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Isópodes. 2. Cavernas. 3. Conservação. I. Ferreira, Rodrigo  
Lopes. II. Título.

**VANESSA MENDES MARTINS**

**BIODIVERSIDADE ENTERRADA: NICHOS AMBIENTAIS, FUNCIONAIS E  
AMEAÇAS A ISÓPODES TROGLÓBIOS**

**BURIED BIODIVERSITY: ENVIRONMENTAL AND FUNCTIONAL NICHE, AND  
THREATS TO TROGLOBITIC ISOPODS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, área de concentração em Levantamento e descrição da biodiversidade e sua relação com o ambiente, para a obtenção do título de Doutora.

APROVADA em 11 de outubro de 2021.

Dr. Diego de Medeiros Bento ICMBio

Dr. Júlio Neil Cassa Louzada UFLA

Dra. Lívia Dorneles Audino BioData

Dra. Letícia Maria Vieira UFLA

Prof. Dr. Rodrigo Lopes Ferreira  
Orientador

**LAVRAS-MG**

**2021**

## AGRADECIMENTOS

Durante a trajetória que culmina neste texto tive a oportunidade de conviver com pessoas que me possibilitaram inúmeras experiências. Destaco aqui a relevância daqueles que me ensinaram importantes lições. Dentre estas gostaria de agradecer, primeiramente, àquelas que o universo acadêmico colocou no meu caminho.

Ao Gilson pela ajuda desde o mestrado e pelas conversas amistosas. À Thaís (Sassanha), cuja amizade foi imprescindível nos momentos difíceis, por sempre ter me ajudado tirando dúvidas, lendo meu projeto de doutorado e me ouvindo com generosidade. À Maysa, cujas conversas me proporcionaram momentos de descontração e amizade. Ao Rodrigo Souza (Pirilo) que me proporcionou momentos de riso solto, durante os cafezinhos, e em outras trocas profundas sobre a vida. Ao Deyvison, cuja alegria contagiava o ambiente e me fazia refletir sobre diversos temas até então desconhecidos por mim. À Barbara, cuja amizade me fez muito bem, cujas trocas sobre filmes e política me faziam lembrar que existem pessoas que compartilham da mesma visão de mundo que eu. À Roberta e Laís pela amizade e momentos de descontração. À Ana Clara, por quem tenho muita admiração, pelo carinho e amizade. À Marina pelas conversas amistosas e pelas reflexões diante à vida. À Giovanna pela ajuda e generosidade em ensinar e tirar minhas inúmeras dúvidas sobre caracteres morfológicos dos Styloniscidae. Ao Rodrigo pela orientação e por ter possibilitado crescimento profissional e pessoal durante esses anos, bem como por ter me possibilitado conhecer o mundo fantástico das cavernas. À Rafaela pela coorientação no capítulo 2 e pela atenção a mim despendida. Ao Mauro pela parceria, ajuda e paciência em me ensinar sobre métodos de análise da paisagem, cuja ajuda foi fundamental para que conseguisse concluir uma etapa da tese. Ao Marconi pelos anos de convivência e amizade. À Luana, Laís da Glória e Isabela pela ajuda em campo. À Alessandra pelo carinho, disponibilidade em ajudar e pelas caronas. Aos demais colegas de laboratório, com os quais compartilhei esses anos de convivência. Ao Rosney (Coelho) pelos momentos de descontração e por ceder sua casa para nossas idas à Pains. Às meninas e meninos da limpeza, especialmente à Marcela e Léia, por deixar o ambiente limpo e agradável de frequentar e pelos momentos de prosa. À Ellen pela gentileza em sanar minhas dúvidas com atenção e presteza. À Universidade Federal de Lavras e aos professores da Ecologia, pelos conhecimentos compartilhados que me permitiram crescimento profissional. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida, que possibilitou dedicação nestes 4 anos.

Por fim, as pessoas do meu ciclo íntimo, fundamentais para a pessoa que sou hoje, cujos ensinamentos me fizeram orgulhar da família e amigos que tenho, especialmente nas situações difíceis. Pessoas que, sem dúvida alguma, foram imprescindíveis para que eu seguisse na busca de aprimoramento profissional de forma ética e de acordo com os princípios em que acredito. À minha mãe, Maria, e ao meu pai, Ricardo, por me impulsionarem a correr atrás dos meus sonhos, por nunca julgarem minha ausência e serem exemplos de retidão moral. À minha irmã, Daniela, pessoa pela qual tenho profunda admiração, pelo incentivo e carinho. Aos meus tios que sempre me incentivaram e foram exemplos para que eu estudasse e corresse atrás dos meus sonhos, independente dos percalços que eu pudesse encontrar. Ao meu companheiro, Alex, que esteve ao meu lado e me tolerou nos momentos difíceis me dando força para seguir em frente, cujo amor e carinho me tornaram mais forte. Às minhas amigas Eliana, Michele e Danielle pela amizade e momentos compartilhados à distância, mas fundamentais para que eu seguisse nessa jornada.

A todos meu muito obrigada!!!

“Só é útil o conhecimento que nos torna melhores.”

Sócrates

## Resumo

Recentemente houve o aumento no número de novas espécies de isópodas (Oniscidea) troglóbios, contudo, o conhecimento sobre a ecologia e ameaças a esses organismos é incipiente. Logo, é difícil traçar medidas adequadas à conservação dessa fauna, rara e sensível, visto que as informações se limitam tão somente às cavernas de ocorrências e às características taxonômicas. Diante disso, avaliamos a mudança da paisagem através de imagens de satélite dos anos 1984 e 2009 em 14 ottobacias, a fim de identificarmos as ameaças a que as espécies de *Spelunconiscus* troglóbios estão sujeitas na região de Arcos-Pains-Doresópolis. Avaliamos também os processos minerários cadastrados no Departamento Nacional de Produção Mineral para identificarmos os possíveis impactos a que as ottobacias estarão sujeitas a médio e longo prazo. Além disso, categorizamos as ottobacias no que concerne aos impactos a fim de identificarmos as áreas que demandam mais esforços para conservação. Embora a cobertura vegetal tenha aumentado em 11 ottobacias também houve o crescimento de atividades antrópicas. Contudo, essas foram mais proeminentes à montante e, portanto, com maior potencial negativo para as espécies troglóbios. Os processos minerários cadastrados demonstram que a região se encontra sob forte pressão minerária, haja vista os processos de requerimento e concessão de lavra nas áreas estudadas. Além disso, realizamos uma análise do nicho funcional de 12 espécies de Styloniscidae para verificarmos se o filtro ambiental e a filogenia determinam os atributos funcionais, bem como se esses se relacionam ao micro-habitat de ocorrência das espécies. Embora os resultados não tenham demonstrado relação do filtro ambiental e filogenia na determinação do tipo de micro-habitat e do atributo expresso pelas espécies, foi possível observar que aquelas que ocorrem em micro-habitats ambientalmente mais variáveis apresentaram maior volume funcional. Por fim, buscamos identificar quais variáveis ambientais influenciam a abundância de espécies do gênero *Spelunconiscus* (Oniscidea), além de verificar se elas demonstram sobreposição do nicho ambiental entre si. Dentre as variáveis analisadas somente o oxigênio dissolvido e a distância da área de recarga da represa de travertino teve influência na abundância, além de não termos observado sobreposição do nicho entre as espécies. Os dados gerados, embora incipientes, jogam luz em processos que estruturam as comunidades de isópodas troglóbios, bem como destaca a necessidade de investimentos para conservação das áreas de ocorrência das espécies, visto que elas estão sob forte pressão antrópica.

**Palavras-chaves:** Oniscidae. Styloniscidae. Atributos funcionais. Nicho funcional. Impactos ambientais.



## Abstract

Recently, there has been an increase in the number of troglobitic isopod (Oniscidea) new species. However, the knowledge about the ecology and threats to these organisms is incipient. Therefore, it is difficult to outline adequate measures for the conservation of this rare and sensitive fauna, since information is limited to caves of known occurrence and to the taxonomic characteristics. Accordingly, we evaluated the landscape change through satellite images from the years 1984 and 2009 at 14 ottobasins, in order to identify the threats to which *Spelunconiscus* troglobitic species are subject in the region of Arcos-Pains-Doresópolis. We also evaluated the mining processes registered with the National Department of Mineral Production to identify the possible impacts that the ottobasins will be subject to in medium and long term. In addition, we categorized the ottobasins in terms of impacts, in order to identify the areas that demand the most conservation efforts. Although vegetation cover has increased in 11 ottobasins, anthropic activities also increased. These, however, were more prominent upstream, posing a greater negative potential for troglobitic species. The mining processes registered show that the region is under strong mining pressure, given the application processes and mining concessions in the studied areas. Moreover, we performed a functional niche analysis of 12 Styloniscidae species to verify whether the environmental filter and phylogeny determine the functional attributes, as well as whether these are related to the microhabitats of species occurrence. Although the results have not shown a relationship from the environmental filter and phylogeny in determining the type of microhabitat and the attribute expressed by the species, it was possible to observe that those that occur in more environmentally variable microhabitats had greater functional volume. Finally, we sought to identify which environmental variables influence the genus *Spelunconiscus* (Oniscidea) species abundance, in addition to verifying whether they demonstrate environmental niche overlap. Among the variables analyzed, only dissolved oxygen and the distance from the travertine dams' recharge area had an influence on species abundance. Furthermore, niche overlap between species was not observed. The generated data, although incipient, shed light on processes that structure the troglobitic isopod communities, as well as highlight the need for investments to conserve the species' occurrence areas, as they are under strong anthropogenic pressure.

**Keywords:** Oniscidae. Styloniscidae. Functional attributes. Functional niche. Environmental impacts.

## SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE .....	8
1 INTRODUÇÃO GERAL .....	9
2 CONCLUSÃO.....	11
REFERÊNCIAS .....	13
SEGUNDA PARTE .....	15
Artigo 1- A buried umbrella: historical changes in the landscape surrounding the habitats of threatened troglotic isopods in Brazil.....	16
1. Introduction .....	18
2. Methodology.....	19
3. Results .....	24
4. Discussion.....	35
6. Acknowledgements .....	39
7. Author contributions statement .....	39
8. References .....	39
Supplementary material 1 .....	46
Supplementary material 2 .....	47
Supplementary material 3 .....	49
Supplementary material 4.....	50
Artigo 2- Desvendando o nicho funcional em isópodes de cavernas neotropicais: um estudo de caso .....	52
Introdução.....	54
Materiais e métodos.....	55
Resultados.....	61
Discussão .....	63
Agradecimentos .....	67
Referências .....	67
Material suplementar 1 .....	72
Material suplementar 2 .....	75
Artigo 3- Escolhendo um lar na escuridão: características do habitat que determinam a abundância de isópodes troglóbios na região Neotropical .....	76
Introdução.....	78
Materiais e métodos.....	79

Resultados.....	82
Discussão.....	83
Agradecimentos.....	86
Referências.....	87
Material suplementar 1.....	90

## **PRIMEIRA PARTE**

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Os isópodes terrestres, subordem Oniscidea, são popularmente conhecidos como tatuzinhos de jardim e ocorrem em uma gama de ambientes, que vão desde áreas litorâneas, de altitude, desérticas a subterrâneas (SCHMIDT, 2002). É um dos grupos com maior número de espécies cavernícolas, muitas das quais são estritamente subterrâneas (SFENTHOURAKIS & TAITI, 2015). Dos Oniscidea a família Styloniscidae apresenta a maior proporção de espécies troglóbias no Brasil. Contudo, são escassas as informações sobre a biologia e ecologia dessas espécies, visto que a grande maioria dos trabalhos é restrita às descrições taxonômicas. A despeito da falta de informações sobre o grupo a riqueza taxonômica tem se mostrado grande, mesmo diante das restrições do ambiente cavernícola. O gênero *Spelunconiscus*, por exemplo, apresenta apenas uma espécie descrita (CAMPOS-FILHO, ARAUJO & TAITI, 2014) até o momento. Contudo, a província espeleológica de Arcos-Pains-Doresópolis apresenta uma diversidade de espécies troglóbias ainda por ser descrita. Dentre essas, somam-se 17 novas espécies desse gênero que se encontram em descrição. Isso destaca a necessidade de investimentos em estudos, especialmente quando se considera as peculiaridades e nível de ameaça dos ambientes subterrâneos.

O domínio subterrâneo é composto por inúmeros tipos de habitats cujas principais características são: ausência de luz, oligotrofia e baixa variabilidade ambiental quando comparada à superfície (CULVER; PIPAN, 2013). As pressões ambientais influenciam fortemente a comunidade cavernícola, além de determinarem o tipo de organismo nele encontrado. As comunidades subterrâneas englobam espécies em distintos graus de adaptação ao ambiente cavernícola (CULVER; PIPAN, 2013). Mesmo sendo ambientalmente extremas, as cavernas, mantêm enorme potencial de diversificação por meio da diferenciação de nicho entre espécies (FIŠER; BLEJEC; TRONTELJ, 2012). Portanto, em escala global o ecossistema subterrâneo, embora menos estudado, apresenta alta biodiversidade (GIBERT; DEHARVENG, 2002).

Dentre as inúmeras peculiaridades do ambiente cavernícola destaca-se a elevada umidade como uma variável ambiental que favoreceu a colonização dos Oniscideas no habitat subterrâneo. A umidade também exerce influência na distribuição e abundância dessas espécies (WARBURG & LINSENAIR, 1984). Além disso, a colonização do ambiente cavernícola pode ocorrer concomitantemente com um fenômeno evolutivo denominado mudança adaptativa, no qual os indivíduos mudam o comportamento para explorar um novo habitat e/ou recurso trófico, que por fim culmina na expansão do nicho ecológico das espécies

(HOWARTH; HOCH, 2005). Como proposto por Hutchinson (1957), o nicho é o espaço n-dimensional no qual as espécies conseguem viver e reproduzir. O nicho é um dos mecanismos que promove a coexistência entre espécies morfológicamente semelhantes, por meio, por exemplo, da diferenciação do uso do micro-habitat ocupado (TRONTELJ; BLEJEC; FIŠER, 2012). O sucesso na colonização em um novo ambiente depende das características dos organismos, que quando inadequadas impossibilitam a persistência, esse fenômeno é conhecido como filtro ambiental (KRAFT et al., 2015). O filtro ambiental age na seleção dos atributos funcionais, que aumentam a sobrevivência em um dado ambiente, e pode gerar agrupamento fenotípico (KRAFT et al., 2015). Os atributos funcionais são propriedades mensuráveis dos organismos que se relacionam ao *fitness* (MCGILL et al., 2006) e refletem dimensões do nicho.

O ambiente além de selecionar atributos funcionais é capaz de influenciar na expressão desses. A plasticidade fenotípica é a capacidade de um único genótipo produzir distintos fenótipos em função da variação ambiental (PIGLIUCCI; MURREN; SCHLICHTING, 2006). A plasticidade permite ao organismo lidar com a imprevisibilidade ambiental por meio da alteração fenotípica, a fim de melhor se adequar às condições ambientais (THIBERT-PLANTE; HENDRY, 2010). Ela é de suma importância à adaptação durante a colonização e alterações em decorrência de eventos estocásticos ou advindos de atividades antrópicas.

As atividades antrópicas encontradas em paisagens cársticas, regiões com alta densidade de cavernas, causam severos impactos ao ambiente subterrâneo em função da solubilidade das rochas que a compõem. Os principais impactos identificados nessas paisagens são o desmatamento, a agricultura, a urbanização, a extração de águas subterrâneas e a mineração. Os impactos dessas atividades vão desde o aumento da sedimentação nos corpos aquáticos à perda de biodiversidade (VANBEYNEN, 2011). A fauna cavernícola é altamente adaptada e frágil (BEYNEN; TOWNSEND, 2005) e, portanto, está mais susceptível aos impactos advindos dessas atividades. A mineração em áreas cársticas leva à extração da rocha, solo e vegetação, isso por sua vez interrompe os processos que produzem e mantêm o carste (GILLIESON, 1996), afetando a geomorfologia local. A substituição da vegetação no entorno das cavernas também é frequentemente observada e certamente reduz a heterogeneidade ambiental (ROLO; RIVEST; LORENTE, 2016), favorece a sedimentação no subterrâneo e reduz o aporte trófico. Tais alterações têm severas implicações à conservação de espécies subterrâneas, principalmente quando se consideram as peculiaridades da fauna cavernícola, especialmente as espécies troglóbias. Diante disso, no presente estudo analisamos o nicho ambiental, funcional e os impactos a que espécies de isópodes troglóbios da família

Styloniscidae estão sujeitas. Escolhemos esse grupo de espécies como modelo em função da: *i*) escassez de informações no que concerne à biologia e ecologia do grupo, cujos dados gerados serão de suma importância à conservação das mesmas; *ii*) carência de informações sobre os mecanismos que modelam a morfologia e o nicho funcional de troglóbios e *iii*) limitada área de vida, tornando-as mais sujeitas aos impactos de origem antrópica. A tese é dividida em três capítulos, sendo o primeiro um estudo sobre a evolução do uso e ocupação do solo em áreas adjacentes às cavernas, a fim de identificar as principais ameaças a que *Spelunconiscus* troglóbios estão sujeitos. O segundo capítulo busca identificar se os atributos morfológicos têm relação ao tipo de micro-habitat ocupado pelas espécies e se esses são determinados filogeneticamente ou pelo filtro ambiental. Por fim, o terceiro trata sobre o nicho ambiental de espécies de *Spelunconiscus*, de ocorrência restrita às cavernas localizadas nas cidades de Pains.

## 2 CONCLUSÃO

As áreas adjacentes às cavernas na qual espécies de *Spelunconiscus*, de modo geral, apresentaram aumento na cobertura vegetal. Contudo, sofreram com perdas de cobertura florestal nas porções à montante das cavernas. A mineração e urbanização foram atividades antrópicas de maior expressão e maior potencial poluidor e destruidor. As alterações causadas pela mineração, a médio e longo prazo podem levar as espécies à extinção, especialmente as troglóbias, uma vez que nas áreas analisadas há processos de concessão e requerimento de lavra na Agência Nacional de Mineração. Isso significa que empreendedores possuem interesse em explorar as áreas adjacentes às cavernas, que se mineradas sofrerão impactos irreversíveis que afetarão a diversidade subterrânea.

O filtro ambiental e a relação filogenética não são capazes de determinar os atributos funcionais das espécies com relação ao tipo de micro-habitats em que ocorrem. Contudo, observamos que as espécies sujeitas a maior variação ambiental (poça e represas de travertino) apresentam maior plasticidade fenotípica, característica que fornece mecanismos fisiológicos e morfológicos que favorecem a sobrevivência em ambientes variáveis. Esse mecanismo, muito provavelmente, é importante para evolução de espécies em ambiente cavernícola, diante disso, merece estudos que busquem elucidar a relevância da plasticidade fenotípica na especiação e colonização do subterrâneo.

A abundância das espécies de *Spelunconiscus* foi afetada pelo oxigênio dissolvido e pela distância da recarga. A relação entre o oxigênio dissolvido e a abundância se deve ao fato dessas espécies retirarem oxigênio da água por meio da estrutura denominada sistema condutor de

água, localizada no pereópodo 7, que permite o transporte de oxigênio aos pleópodos e trocas gasosas. A influência da distância da recarga na abundância corrobora a hipótese de que as espécies de *Spelunconiscus* ocorrem prioritariamente no epicarste, compartimento localizado entre o solo e a rocha, cujos canais permanecem preenchidos por água de percolação. Além disso, não houve sobreposição de nicho entre as espécies analisadas embora pertençam ao mesmo gênero.



## REFERÊNCIAS

- CAMPOS-FILHO, I.S.; ARAUJO, P.B.; BICHUETTE, M.E.; TRAJANO, E.; TAITI, S. **Terrestrial isopods (Crustacea: Isopoda: Oniscidea) from Brazilian caves**. *Zoological Journal of the Linnean Society*, v.172, n. 2, p.360-425, 2014.
- CULVER, D. C.; PIPAN, T. **Subterranean Ecosystems**. *In*: LEVIN, S. A. *Encyclopedia of Biodiversity*. 2nd ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2013. p. 49-62.
- FIŠER, C.; BLEJEC, A.; TRONTELJ, P. **Niche-based mechanisms operating within extreme habitats: a case study of subterranean amphipod communities**. *Biology Letters*, v. 8, n. 4, p. 578-581, 2012.
- GIBERT, J.; DEHARVENG, L. **Subterranean Ecosystems: A Truncated Functional Biodiversity**. *BioScience*, v. 52, n. 6, p. 473-481, 2002.
- GILLIESON, D. **Caves: processes, development and management**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2009.
- HOWARTH, F. G.; HOCH, H. **Adaptive shifts**. *In*: CULVER, D.C.; WHITE, W. B. *Encyclopedia of caves*. Burlington, Elsevier Academic Press. 2005. p. 17-24
- HUTCHINSON, G. E. **Concluding remarks Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, v. 22, p. 415–427, 1957.
- KRAFT, N. J.; ADLER, P. B.; GODOY, O.; JAMES, E. C.; FULLER, S.; LEVINE, J. M. **Community assembly, coexistence and the environmental filtering metaphor**. *Functional ecology*, v. 29, n. 5, p. 592-599, 2015.
- MCGILL, B. J.; ENQUIST, B. J.; WEIHER, E.; WESTOBY, M. **Rebuilding community ecology from functional traits**. *Trends in ecology & evolution*, v. 21, n. 4, p. 178-185, 2006.
- PIGLIUCCI, M.; MURREN, C. J.; SCHLICHTING, C. D. **Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation**. *Journal of Experimental Biology*, v. 209, n.12, p. 2362-2367, 2006.
- ROLO, V., et al. **Taxonomic and functional diversity in Mediterranean pastures: insights on the biodiversity-productivity trade-off**. *Journal Applied Ecology*, v. 53, n. 5, p. 1575-1584, 2016.
- SCHMIDT, C. **Contribution to the phylogenetic system of the Crinocheta (Crustacea, Isopoda). Part 1. (Olibrinidae to Scyphaidae s. str.)**. *Zoologische Reihe. Mitteilungen aus dem Museum für Naturkunde*, n. 78, p. 275–352, 2002.
- SFENTHOURAKIS, S.; TAITI, S. **Patterns of taxonomic diversity among terrestrial isopods**. *ZooKeys*, n.515, p. 13, 2015.
- THIBERT-PLANTE, X.; HENDRY, A. P. **The consequences of phenotypic plasticity for ecological speciation**. *Journal of evolutionary biology*, v. 24, n. 2, p. 326-342, 2011.

TRONTELJ, P.; BLEJEC, A.; FIŠER, C. **Ecomorphological convergence of cave communities.** *Evolution: International Journal of Organic Evolution*, v. 66, n. 12, p. 3852-3865, 2012.

WARBURG, M. R.; LINSENMAIR, K. E.; BERCOVITZ, K. **The effect of climate on the distribution and abundance of isopods.** *Symposia of the Zoological Society of London*, v. 53, p. 339–367, 1984.

**SEGUNDA PARTE**

**Artigo 1- A buried umbrella:** historical changes in the landscape surrounding the habitats of threatened troglobitic isopods in Brazil

Artigo submetido e redigido sob as normas do periódico Journal of Environmental Management, ISSN: 2667-0100 (versão preliminar).

**A buried umbrella:** historical changes in the landscape surrounding the habitats of threatened troglobitic isopods in Brazil

Vanessa Mendes Martins<sup>\*A</sup>, Mauro Gomes<sup>B</sup>, Rodrigo Lopes Ferreira<sup>A</sup>

A. Center of Studies in Subterranean Biology, Department of Ecology and Conservation, Federal University of Lavras, Lavras - Brazil.

B. National Center for Research and Conservation of Caves (ICMBio/CECAV), Nova Lima - Brazil.

\*Corresponding author.

E-mail addresses: vanessa.belbelita@gmail.com (V.M.Martins).

**Abstract**

Impacts in karst environments strongly affect species restricted to subterranean habitats (troglobites), since such impacts are generally transmitted to subterranean compartments. Considering the habitat specificity of these species and the degree of alteration of the epigeal environments, we seek to identify the possible impacts and pressures on 17 troglobitic isopods species of *Spelunconiscus* endemic to the speleological province of Arcos-Pains-Doresópolis, in southeastern Brazil. We evaluated the temporal changes on the landscape surrounding the caves where the species occur. Therefore, we delimited 14 areas using the Ottobasin methodology, which were analyzed with the aid of Landsat satellite images from the years 1984 and 2019, in order to generate the land use and occupation maps. We also performed the ranking of the ottobasins considering the impacts degree, in order to delimit conservation and management efforts. Of the 14 studied areas, 11 showed an increase in native vegetation cover. However, there was also an increase in mining, agriculture and forestry. The impacting activities were higher intense in the upstream areas of the ottobasins (related to the caves' position), whose influence is usually higher on the subterranean environment. The most threatened ottobasin is that of the Eden cave, as it is under intense anthropic pressure and presents the highest diversity of endemic troglobites. Investments in the protection and conservation of the five most impacted ottobasins will conserve 60.5% of the troglobitic species on the 14 ottobasins and 46% of the province's troglobitic species. On the other hand, if all the 14 ottobasins be protected, 76% of all troglobitic species from the province will be preserved.

**Key words:** land use, *Spelunconiscus*, mining, cave, umbrella species.

## 1. Introduction

Karst areas comprise around 20% of the land surface and include formations such as dolines, blind valleys, sinkholes and caves (Ford and Williams, 2007; Goldscheider et al., 2020). They are characterized by the high solubility of rocks and drainages that often have subterranean flows (Jennings, 1971). Thus, these areas are more vulnerable if considered the geological attributes that enable a direct hydrological relationship between the surface and underground ecosystems (Gutiérrez et al., 2014).

Due to anthropogenic activities, changes and pollutants can be transmitted through rock, often reaching areas far from the generating site. Such dissemination occurs through hydrological processes that operate underground and is, therefore, less visible and difficult to detect directly. Thus, when the impact is perceived, the changes are usually at an advanced stage (Ford and Williams, 2007). The main changes in karst landscapes occur due to changes in land use caused most often by urbanization, mining, deforestation, forestry, agriculture and livestock (van Beynen, 2012). All these activities impose severe environmental changes that, in turn, negatively affect local fauna and flora.

When pollutants are carried to the underground environment, there is likely to be a change in the richness and composition of the community therein because caves are considered fragile ecosystems and often harbor endangered species that are many times endemic to a single cave (Culver and Pipan, 2019). Such changes are especially worrisome because cave fauna play a key role in ecosystem services, including the maintenance of water quality and the support of groundwater-dependent ecosystems, such as rivers and springs. In addition, groundwater organisms live in resource-poor and stable environments and are thus highly sensitive to environmental changes and anthropogenic impacts (Griebler and Avramov, 2014). According to Griebler et al. (2010), these characteristics make them promising bioindicators that can potentially be used by decision makers because they allow assessing the conservation status of a given environment.

The Arcos-Pains-Doresópolis (APD) speleological province, in Brazil, represents the region with the highest density of caves in South America, totaling 2.503 registered caves (CECAV, 2021), although this number is underestimated, as many areas in the region remain non-prospected. Despite its outstanding relevance in the speleological context of the continent, the region is target of several anthropogenic impacts, as the mineral extraction of limestone, the lime and cement industry, the exploitation of groundwater for industrial use and human supply, the expansion of agricultural and pasture areas (with consequent suppression of natural

vegetation), solid waste disposal sites, graveyards and other waste disposal sites (Cavalcanti et al., 2012). Although the region has a high richness of troglobitic species (those exclusively found in subterranean environments), many of them have not yet been described (Zampaulo, 2010). Unfortunately, the biological diversity and the speleological importance of the area did not prevent the numerous threats resulting from the strong anthropogenic impacts aforementioned.

Amongst the several cave-restricted species occurring in the area, isopods of the genus *Spelunconiscus* (Styloniscidae) can be considered good models for preserving the subterranean diversity of the region. Species from this genus are groundwater-dependent organisms with restricted distribution, making them extremely susceptible to anthropogenic impacts. In addition, the area of occurrence of these species (17 caves) includes 76% of the troglobitic species of the APD speleological province. Therefore, it is possible to use these species as *umbrella species* because by conserving them, a large number of co-occurring species are protected (Roberge and Angelstam, 2004). According to Lambeck (1997), the main premise behind the concept of *umbrella species* is that the needs of demanding species comprise the needs of less demanding species.

Therewith, the present study aims to evaluate the temporal changes of land use and occupation in areas surrounding caves presenting *Spelunconiscus* species populations at the APD speleological province. Additionally, we present a ranking of conservation priorities, considering the potentially impacting land use in each cave surroundings. The analysis presented herein will enable the comprehension on the conservation status of the caves surroundings, which may reflect on the cave ecosystems condition. Furthermore, they will help support decision-making and measures that enable the management and conservation of the cave-restricted species of this important karst region, most of each, certainly threatened.

## **2. Methodology**

### *2.1 Study area*

The São Francisco River basin comprises a region where approximately 40% of the caves in the Brazilian territory are found (ICMBIO, 2020). The study area is located in the subbasin of tributaries of the Upper São Francisco River in the state of Minas Gerais, where approximately 54% of the cavities in the São Francisco basin are concentrated (Cavalcanti et al., 2012), and covers part of the municipalities of Pains, Arcos, Doresópolis, Piumhi, Formiga and Córrego Fundo (Figure 1).

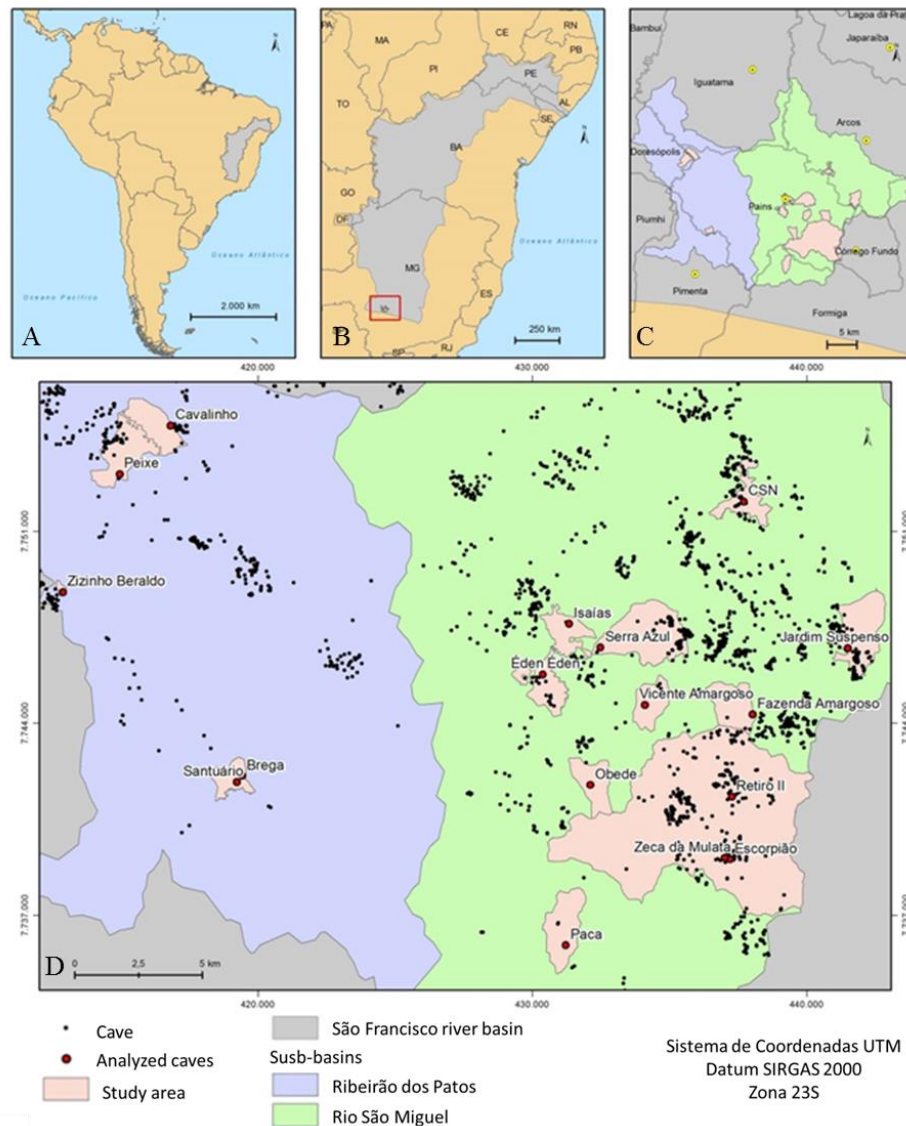


Figure 1. A and B) Location of the São Francisco River basin in Brazil and Minas Gerais. C) São Miguel and Ribeirão dos Patos river basins and ottobasins studied. D) Location of the ottobasins and distribution of the caves in the speleological province.

The caves included in this study are those in which populations of *Spelunconiscus* (Fig. 2) are found in province. They are all located in the São Miguel and Ribeirão dos Patos basins (Fig. 1), tributaries of the right bank of the São Francisco River, where well-developed karst relief at both the endokarst and exokarst levels is found. The analyzed region comprises 14 areas adjacent to 17 caves (Tab. 1) that are inserted in a karst landscape, whose geomorphological compartmentalization includes fluvial plains, limestone outcrops, mountain ranges and varied plateaus (Martins and Rodrigues, 2016). The hydrographic networks in which they are inserted are not very dense due to direct infiltration in limestone fissures and karst absorption features, such as sinkholes (Menegasse et al., 2002). The typical vegetation cover in the region is the “Cerrado” (Brazilian savannah), characterized by a gradation ranging from



shrub-free grasslands ('campo limpo') to denser and taller forest formations (deciduous and semideciduous seasonal forests) found at the bases of rocky outcrops (Melo et al., 2013; Menegasse et al., 2002).

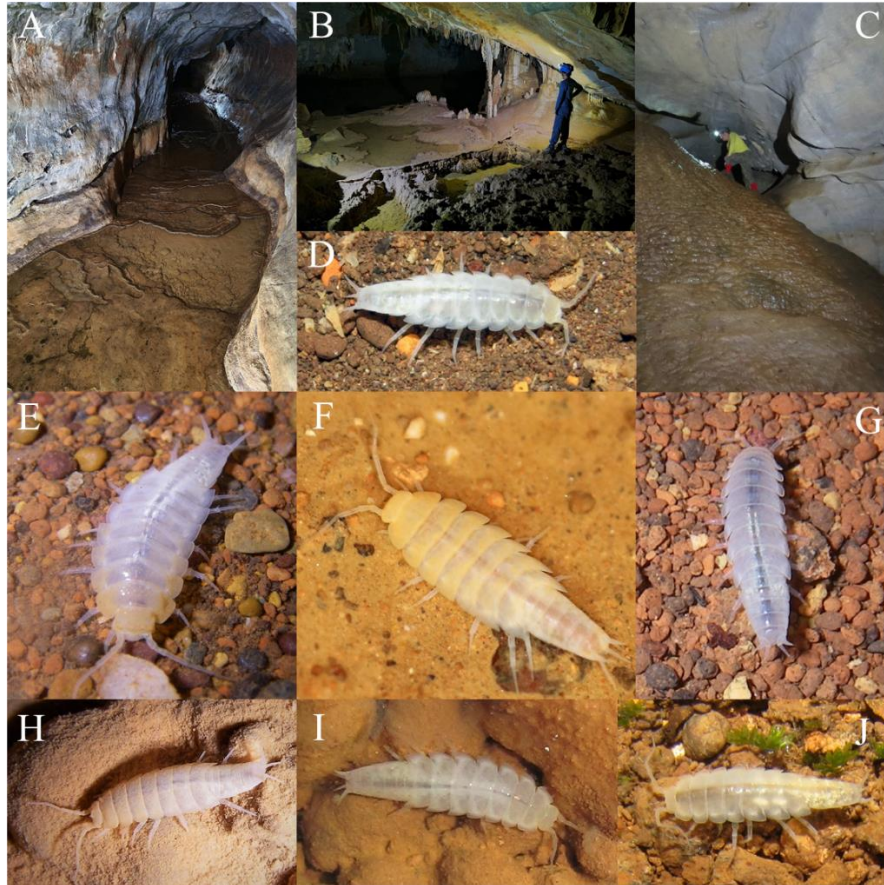


Figure 2. Some species of *Spelunconiscus* (Isopoda: Styloniscidae) found in the studies caves: A) Microhabitat of *Spelunconiscus* sp. in Escorpião cave; B) Microhabitat of *Spelunconiscus* sp. in Santuário cave; C) Microhabitat of *Spelunconiscus* sp. in Brega cave; D-J) distinct species of *Spelunconiscus* sp found in the area.

Table 1: Identification of caves included in the study scope (Coordinates in UTM, SIRGAS 2000, zone 23S).

Caves	City	Northing	Easting	Altitude
Brega	Pains	7.742.085,45	419.430,29	708
Cavalinho	Pains	7.754.876,86	416.815,09	685
CSN	Pains	7.752.103,98	437.710,90	767
Éden	Pains	7.745.795,84	430.384,86	709
Escorpião Cave	Pains	7.739.035,21	437.201,49	822

Fazenda Amargoso	Pains	7.744.337,48	438.023,17	847
Isaías	Pains	7.747.642,72	431.343,92	732
Jardim Suspenso	Arcos	7.746.755,30	441.493,06	896
Obede	Pains	7.741.757,69	432.113,22	726
Paca	Formiga	7.735.908,73	431.226,45	772
Peixe	Doresópolis	7.753.107,21	414.964,09	697
Retiro II	Pains	7.741.330,33	437.265,47	811
Santuário	Pains	7.741.861,92	419.225,91	702
Serra Azul	Pains	7.746.776,91	432.481,47	771
Vicente Amargoso	Pains	7.744.684,42	434.101,05	794
Zeca da Mulata	Pains	7.739.088,95	437.009,98	837
Zizinho Beraldo	Pains	7.748.796,42	412.889,16	680

### *2.1.2 Delimitation of the surrounding areas*

To consider the interaction between the ecological attributes of the area surrounding the caves, we chose to use ottobasins (Luiz and Faria, 2013) to define this perimeter as an alternative to the 250-meter buffer provided for in the current Brazilian speleological legislation (CONAMA, 2004). Because more than one cave is in the same ottobasin, there were cases of the same surrounding region housing two or three cavities, as was the case for the Santuário - Brega and Retiro II - Zeca da Mulata - Escorpião groupings.

We chose ottobasins based on the overlap of the coordinates of the caves (Table 1) in a vector database provided by the Minas Gerais Institute of Water Management (IGAM, 2019). The polygons chosen were subdivided in a GIS environment to consider only the slope where the caves were located. For ottobasins that did not have active surface drainage allowing the division and choice of the slope where the cave is located, the entire ottobasin area was considered the study area. To consider the impacts of anthropogenic activities in the caves' surroundings, we also included urbanization and mining areas that intersected with the polygons of the ottobasins and that were upstream of the cave.

### *2.1.3 Changes in the landscape*

The analysis of the landscape surrounding the caves was performed in a GIS environment following the methodology of Gomes et al. (2019), adapted to the objectives of

this study. To prepare the vegetation cover and land use maps, Landsat orbit-point 219-074 images were used, obtained by the sensors Thematic Mapper - TM (passage on 06/13/1984) and Operational Land Imager - OLI (passage on 08/01/2019). The legend adopted for these maps was based on the Technical Manual of Land Use of the IBGE (IBGE, 2013) and considered the following classes: Water, Urban Areas, Mining Areas, Cropland-Pastureland, Forestry, Forestland and Grassland. Image classification was performed in Spring (INPE, 2001) through supervised classification by region growth using the Bhattacharya classifier with a 99% acceptance threshold. The postclassification step was performed in ArcGIS, where after converting the raster format to a vector format, the maps were validated through field checks, high-resolution images (Google, 2013) and orthoimages.

To test the reliability of the land use and vegetation cover map, we calculated the kappa index. For this purpose, we generated 40 random points for each ottobasin in ArcGIS, whose points were validated through data collected in the field and by consulting Google Earth. With this information, we generated a confusion matrix, with which we calculated the kappa coefficient. The index can be calculated with the following formula:

$$K = \frac{n \sum_{i=1}^c x_{ii} - \sum_{i=1}^c x_{i+} x_{+i}}{n^2 - \sum_{i=1}^c x_{ii}}$$

where  $K$  is an estimate of the kappa coefficient;  $x_{ii}$  is the value in row  $i$  and column  $i$ ;  $x_{i+}$  is the sum of row  $i$ ;  $x_{+i}$  is the sum of column  $i$  of the confusion matrix;  $n$  is the total number of samples; and  $c$  is the total number of classes (Congalton and Green, 2019)

To assess the changes in the landscape relative to the cave position in relief (downstream - upstream), we used Alos Palsar radar images (JAXA/METI, 2011) processed in ArcGIS using the surface/contour tool, with which we constructed the contour lines used in the compartmentalization of the areas. For greater accuracy, Alos Palsar images were combined with the vegetation cover and land use maps using the ArcGIS Zonal Statistics tool, thus enabling the extraction of statistical data relative to the position (pixel by pixel) that each class on the map occupied in the landscape. Subsequently, we extracted landscape metrics with the aid of the V-Late 2.0 beta extension (Vector-based Landscape Analysis Tools). We used metrics for the number of patches (NP), class area (CA), average class size (ACS), standard deviation of the patch size (SDPS) and mean shape index (MSI).

To evaluate the changes of vegetation cover in the period from 1984 to 2019, we calculated the annual deforestation rate based on the proposal developed by de Barros Ferraz et al. (2009). We calculated the index by applying the following formula:

$$ADRR = \left( \frac{MF_n}{MF_1} \right)^{1/(Y_n - Y_1)} - 1$$

where  $MF_n$  is the size of the mature forest class at time  $n$  (ha);  $MF_1$  is the size of the mature forest class at time 1;  $Y_n$  is the final year; and  $Y_1$  is the initial year, whose unit is % year<sup>-1</sup>.

To measure impacts that may occur due to mining, an activity with strong negative and irreversible impacts on caves (Brazil, 2008), we performed a spatial analysis based on the overlap of the mining processes registered in the National Mining Agency- NMA (ANM, 2021) with the study areas.

#### 2.1.4 Ranking conservation efforts

In order to categorize the ottobasins regarding the conservation priorities of the subterranean biodiversity, we classified the areas considering the potentially impacting land use (Tab.2), using the Van Beynen index (2005) as a reference. For this purpose, we classified the impacts considering their percentage of occupation in each ottobasin. In addition, we gave different impacts weights to the upstream impacts due to their greater influence on the subterranean habitats located downstream.

Table. 2. Indicators used to classify the potentially impacting land use and occupation of the ottobasins.

Land use and occupation Indicator	Classes of use				Upstream impact		
	3	2	1	0	3	2	1
% of area occupied by mining	>66%	34–66%	1–33%	None	>20%	10-20%	1-10%
% of area occupied by urbanization	>66%	34–66%	1–33%	None	>20%	10-20%	1-10%
% of area occupied by agriculture and livestock	>66%	34–66%	1–33%	None	>20%	10-20%	1-10%
% of area occupied by forestry	>66%	34–66%	1–33%	None	>20%	10-20%	1-10%

### 3. Results

Along the analyzed period, in general, there was a reduction in areas used for agricultural activities and an increase in areas occupied by forest, mining, forestry and urbanization (Table 3). The areas with the most relevant changes in terms of negative impacts were Jardim Suspenso and Retiro II-Zeca da Mulata-Escorpião, where mining and forestry increased (supplementary material 1). The land use maps allowed the identification of changes in the different classes of land use and vegetation cover from 1984 to 2019 (Figure 3-7). Zizinho Beraldo, CSN and Fazenda Amargoso areas showed reduction in forest regeneration; however,

in the other areas, this class increased. Negative upstream changes were more evident than downstream (supplementary material 2).

The annual deforestation rate was highest in Fazenda Amargoso, followed by CSN and Zizinho Beraldo (Table 4). The ottobasins in Fazenda Amargoso, CSN and Zizinho Beraldo had, respectively, established areas for forestry, mining and cropland/pastureland as the main causes of deforestation. According to Figueiredo and Vieira (2007), the reliability of the generated maps, calculated by the Kappa index, were considered excellent ( $0.8 < k \leq 1.0$ ) or very good ( $0.6 < k \leq 0.8$ ) (supplementary material 3).

Through the landscape metrics, considering the patches of natural origin, there was a reduction in the number of plant fragments in most of the ottobasins (Table 5) whose negative metrics changes were more evident upstream than downstream (supplementary material 4).

Table 3. Changes of land use and vegetation cover in the ottobasins in which caves are present.

1984														
	Ziz	JdS	VcA	SnB	Cav	Pex	Obd	CSN	RZE	SeA	Isa	Edn	FzA	Pca
Forest	42.33%	32.98%	23.72%	29.54%	25.58%	43.50%	44.60%	64.94%	26.55%	17.57%	6.39%	33.82%	35.77%	33.50%
Crop-livestock	57.67%	63.49%	74.06%	70.46%	74.42%	46.37%	55.40%	18.38%	71.36%	82.16%	44.73%	57.26%	63.37%	66.50%
Mining		3.53%						16.68%	0.72%			8.92%	0.86%	
Urban											48.88%			
Water						5.01%			0.19%	0.27%				
Forestry			2.22%						1.18%					
Natural grasslands						5.12%								
2019														
Forest	41.29%	<b>34.54%</b>	<b>27.29%</b>	<b>35.94%</b>	<b>25.71%</b>	<b>45.66%</b>	<b>57.62%</b>	57.25%	<b>41.42%</b>	<b>32.88%</b>	<b>14.75%</b>	<b>51.80%</b>	<b>31.32%</b>	<b>42.24%</b>
Crop-livestock	<b>58.71%</b>	37.07%	71.69%	64.06%	71.07%	<b>46.56%</b>	40%	17.47%	47.41%	58.00%	17.07%	27.21%	49.18%	57.76%
Mining		<b>20.10%</b>			<b>2.63%</b>			<b>25.28%</b>	<b>1.44%</b>	<b>1.78%</b>		7.53%	<b>1.27%</b>	
Urban											<b>68.18%</b>	<b>12.85%</b>		
Water		<b>0.22%</b>				4.07%			<b>0.22%</b>	<b>0.97%</b>				
Forestry		<b>8.07%</b>	1.01%		<b>0.59%</b>	<b>3.15%</b>	<b>2.38%</b>		<b>9.26%</b>	<b>6.37%</b>		<b>0.61%</b>	<b>18.24%</b>	
Natural grasslands						0.57%			<b>0.24%</b>					

Legend: Ziz: Zizinho Beraldo, Jds: Jardim Suspenso, VcA: Vicente Amargoso, SnB: Santuário e Brega, Cav: Cavalinho; Pex: Peixe; Obd: Obede; CSN: Companhia Siderúrgica Nacional; RZE: Retiro II-Zeca da Mulata-Escorpião; SeA: Serra Azul; Isa: Isaías; Edn: Éden; FzA: Fazenda Amargoso and Pca: Paca. Values in red indicate land uses that increased compared to 1984.

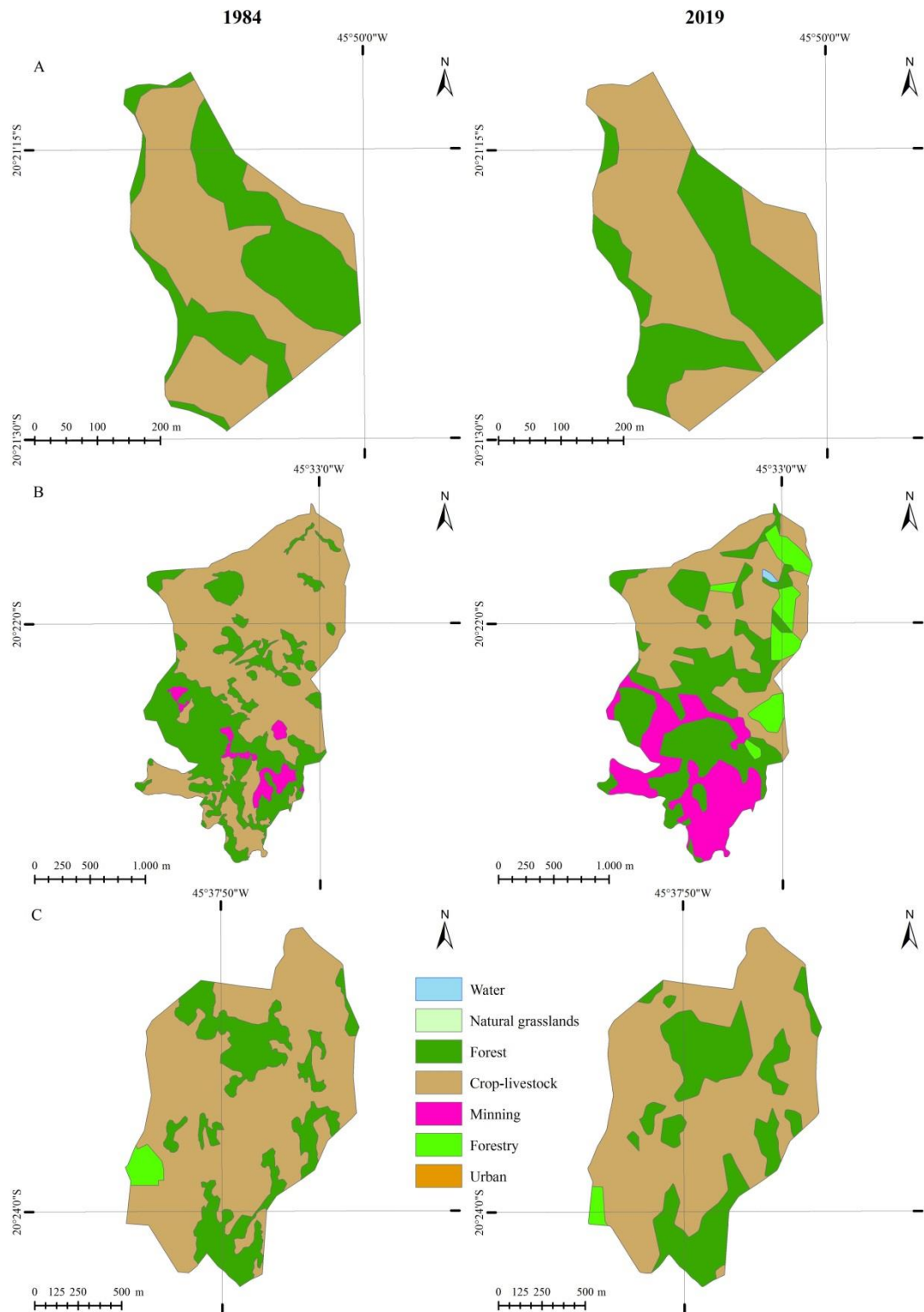


Figure 3. Land use maps of 1984 and 2019 of the ottobasins. A) Zizinho. B) Jardim Suspenso. C) Vicente Amargoso.

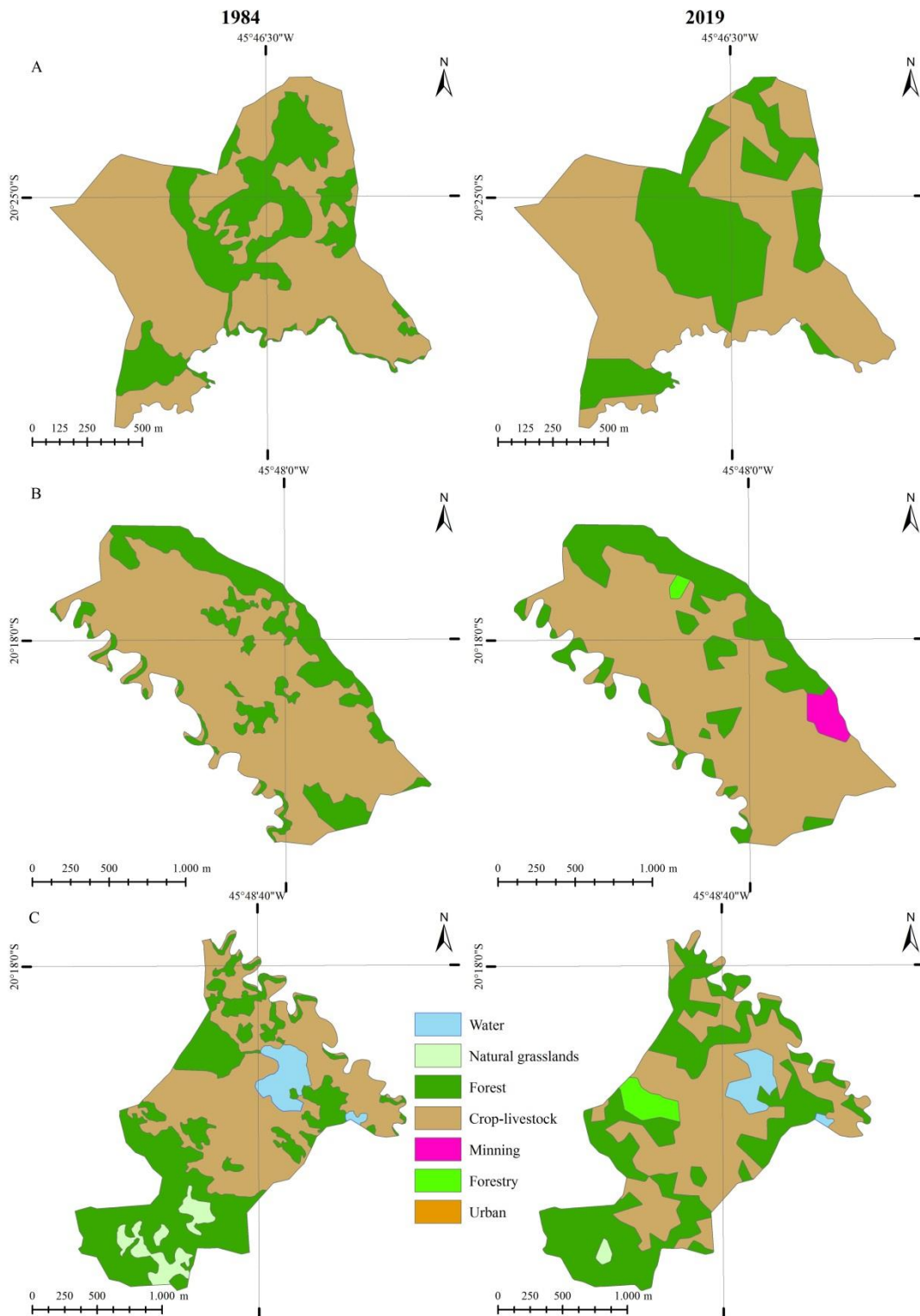


Figure 4. Land use maps of 1984 and 2019 of the ottobasins. A) Santuário-Brega. B) Cavalinho. C) Peixe.



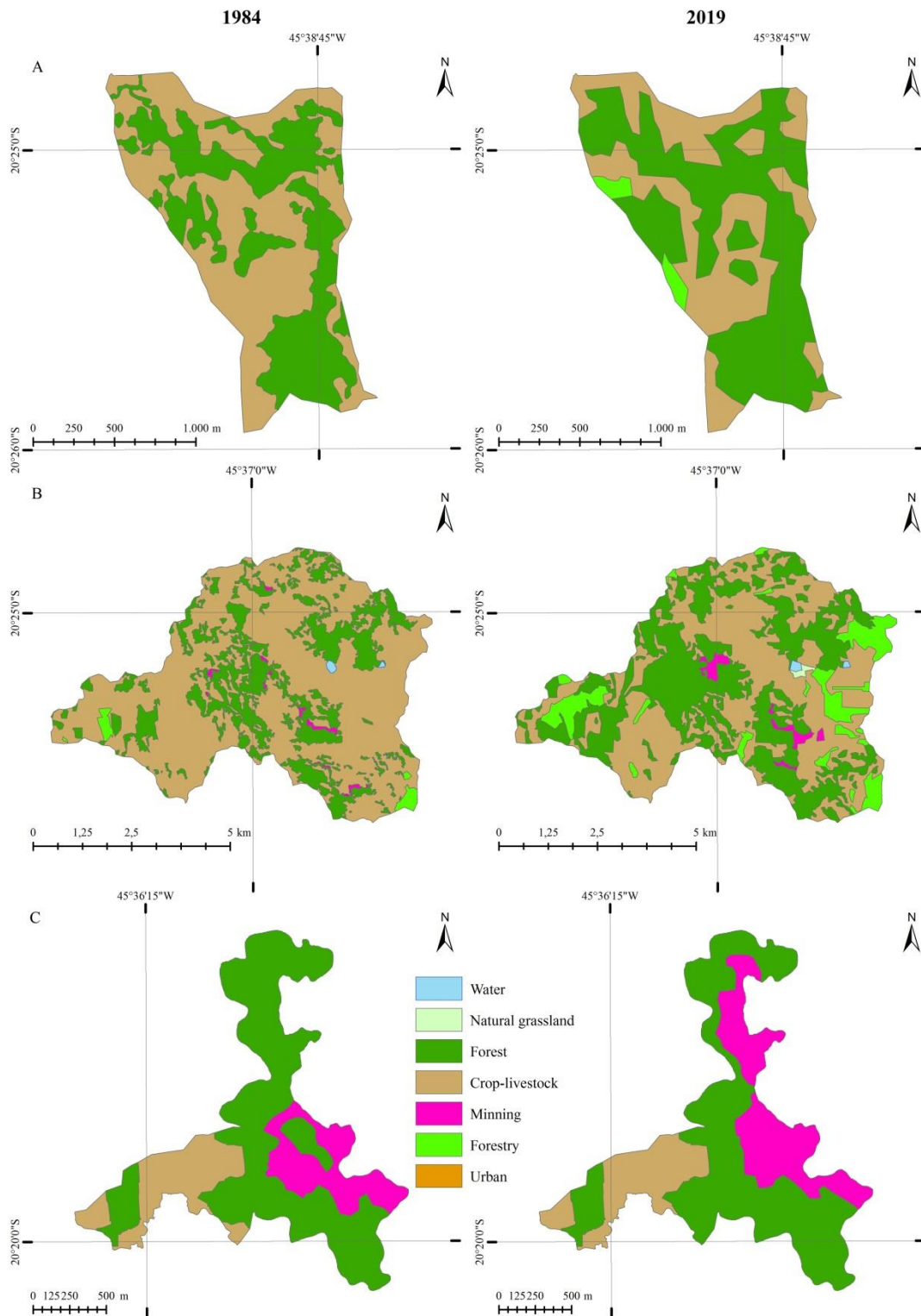


Figure 5. Land use maps of 1984 and 2019 of the ottobasins. A) Obede. B) Retiro II-Zeca da Mulata-Escorpião. C) CSN.

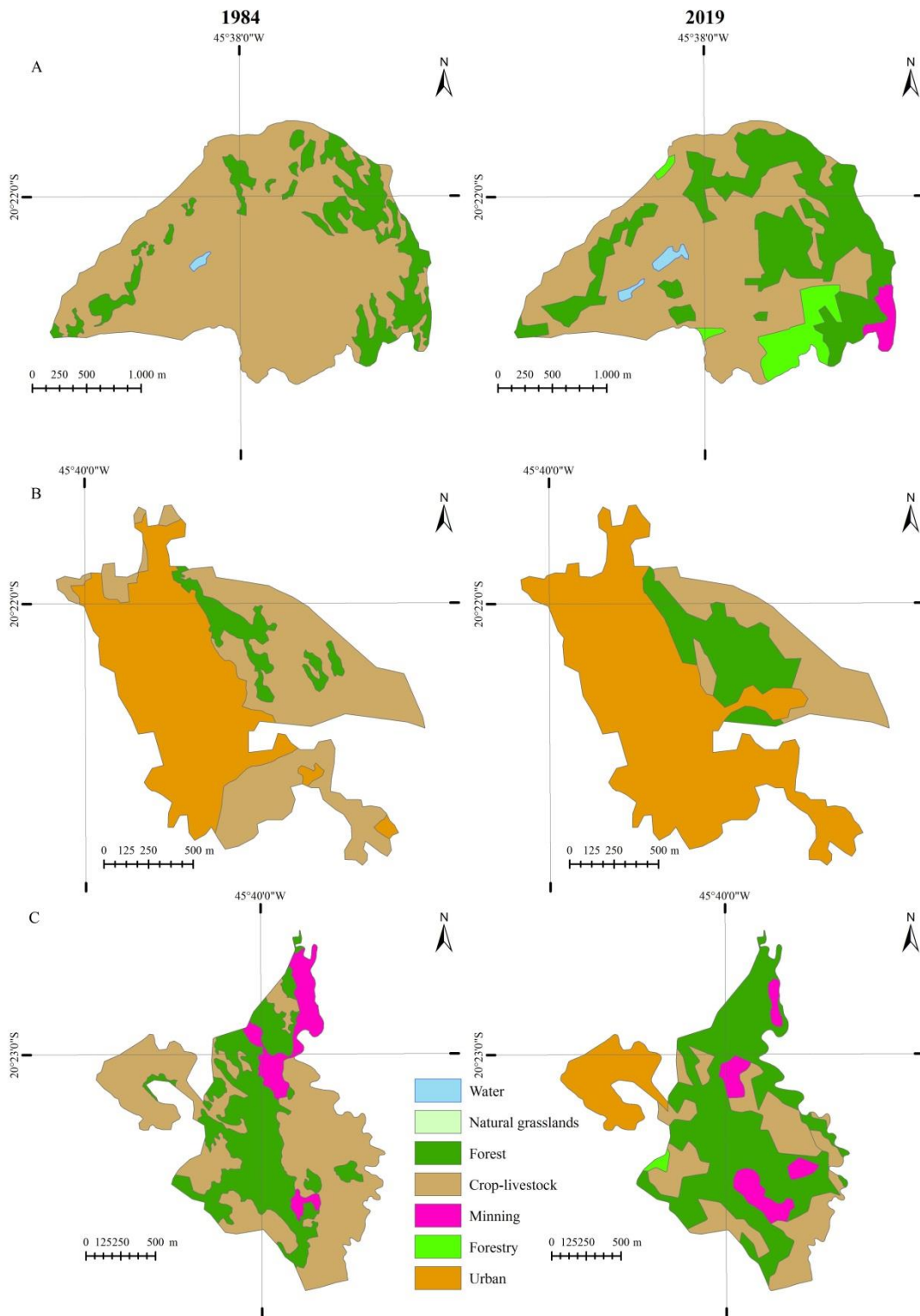


Figure 6. Land use maps of 1984 and 2019 of the ottobasins. A) Serra Azul. B) Isaías. C) Éden

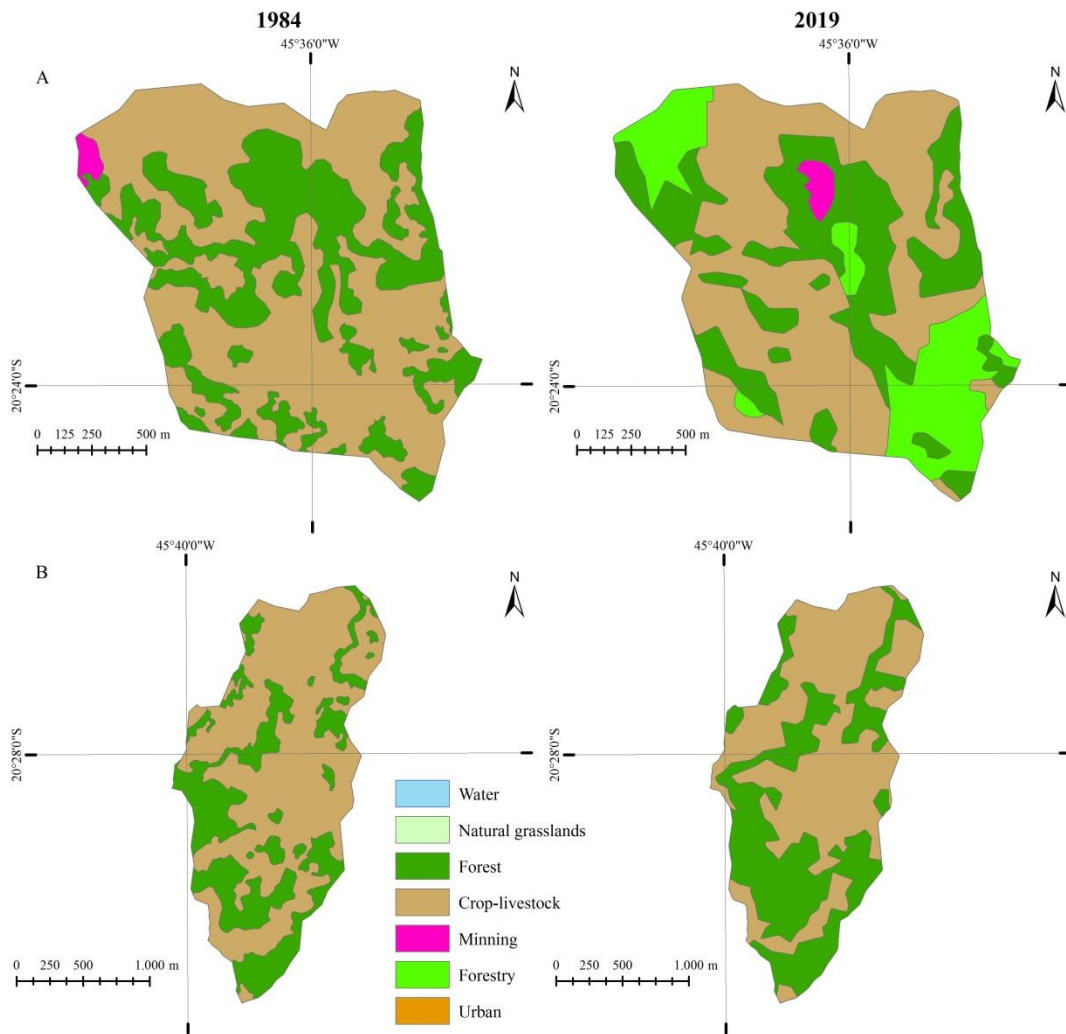


Figure 7. Land use maps of 1984 and 2019 of the ottobasins. A) Fazenda Amargoso. B) Paca.

Table 4. Annual deforestation/regeneration rate (ADRR) (% year<sup>-1</sup>) for ottobasins.

Cave	TAD/R
Zizinho Beraldo	Ziz -0.072%
Jardim Suspenso	JdS 0.132%
Vicente Amargoso	VcA 0.402%
Santuário e Braga	SnB 0.563%
Cavalinho	Cav 0.014%
Peixe	Pex 0.138%
Obede	Obd 0.735%
CSN	CSN -0.359%
Retiro II-Zeca da Mulata-Escorpião	RZE 1.262%
Serra Azul	SeA 1.808%
Isaías	Isa 2.419%
Éden	Edn 1.220%
Fazenda Amargoso	FzA -0.379
Paca	Pca 0.665%

Table 5. Landscape metrics for the ottobasins generated for the upstream portion of the cavities.

Ottobasins	Year	Classes	NP	CA	ACS	MSDC	TCA	ICA	MSI
Cavalinho	1984	Forest	3	37605.85	12535.28	11960.7	20219.58	53.77	1.574
	2019	Forest	1	29206.66	29206.66	0	16901.11	57.87	2.122
CSN	1984	Forest	2	958582.8	479291.4	422705	850974.7	88.77	2.126
	2019	Forest	1	803321.8	803321.8	0	706804.7	87.99	3.07
Éden	1984	Forest	5	458900.2	91780.05	168869	359268.5	78.29	2.025
	2019	Forest	1	456373	456373	0	383603.9	84.05	3.066
Fazenda Amargoso	1984	Forest	12	108721.3	9060.11	10012.1	62149.2	57.16	1.58
	2019	Forest	9	61200.15	6800.02	5694.19	35824.05	58.54	1.507
Isaías	1984	Forest	4	23391.29	5847.82	5382.48	10761.49	46.01	1.47
	2019	Forest	2	105224.4	52612.2	42183.3	82209.18	78.13	1.599
Jardim Suspenso	1984	Forest	6	383659.5	63943.25	116313	280815.7	73.19	1.798
	2019	Forest	7	243571.4	34795.91	39211.3	183212.1	75.22	1.458
Obede	1984	Forest	7	646392.4	92341.77	127842	524001.1	81.07	1.818
	2019	Forest	4	845780.4	211445.1	320472	735959.2	87.02	1.631
Paca	1984	Forest	10	507015.2	50701.52	51436.1	385376.6	76.01	1.783
	2019	Forest	7	600652.4	85807.48	97709.8	484950.2	80.74	1.617
Peixe	1984	Campo	1	17359.41	17359.41	0	9813.42	56.53	1.717
		Forest	11	216198.6	19654.42	28981.9	159427.7	73.74	1.392
	2019	Forest	9	193637.1	21515.23	15326.5	137881.6	71.21	1.315
Retiro II Zeca da Mulata	1984	Forest	57	4528165	79441.49	245896	3603618	79.58	1.84
	2019	Forest	20	5903742	295187.1	628576	5092374	86.26	1.977
Serra Azul	1984	Forest	11	752250.5	68386.41	95478.7	567340.1	75.42	1.867
	2019	Forest	9	1464797	162755.2	437551	1269985	88.05	1.559
Santuário-Brega	1984	Forest	6	306604.1	51100.69	79464.4	217560.9	70.96	1.923
	2019	Forest	4	335053.2	83763.3	76773.6	266189.7	79.45	1.81
Vicente Amargoso	1984	Forest	7	238322.2	34046.02	44708.8	157629.8	66.14	1.95
	2019	Forest	8	281535.3	35191.91	49593.5	216925.9	77.05	1.388
Zizinho	1984	Forest	1	21357.08	21357.08	0	16017.35	75	1.096
	2019	Forest	1	19714.35	19714.35	0	14151.4	71.78	1.196

NP: number of patches. CA: class area (m<sup>2</sup>). ACS: average class size; MSDC: mean standard deviation of the class; TCA: total central area of the class; ICA: index in % of the central area of the class; MSI: mean shape index.

Based on the mining processes registered in the DNPM, all the analyzed areas have at least part of the land requested for a mining concession (Figure 8). Jardim Suspenso, Cavalinho, Peixe, CSN, Retiro II-Zeca da Mulata-Escorpião, Serra Azul and Fazenda Amargoso are

already mining concessions, thus presenting quarries. Therefore, in the medium term and long term, these areas may be severely impacted by mining.

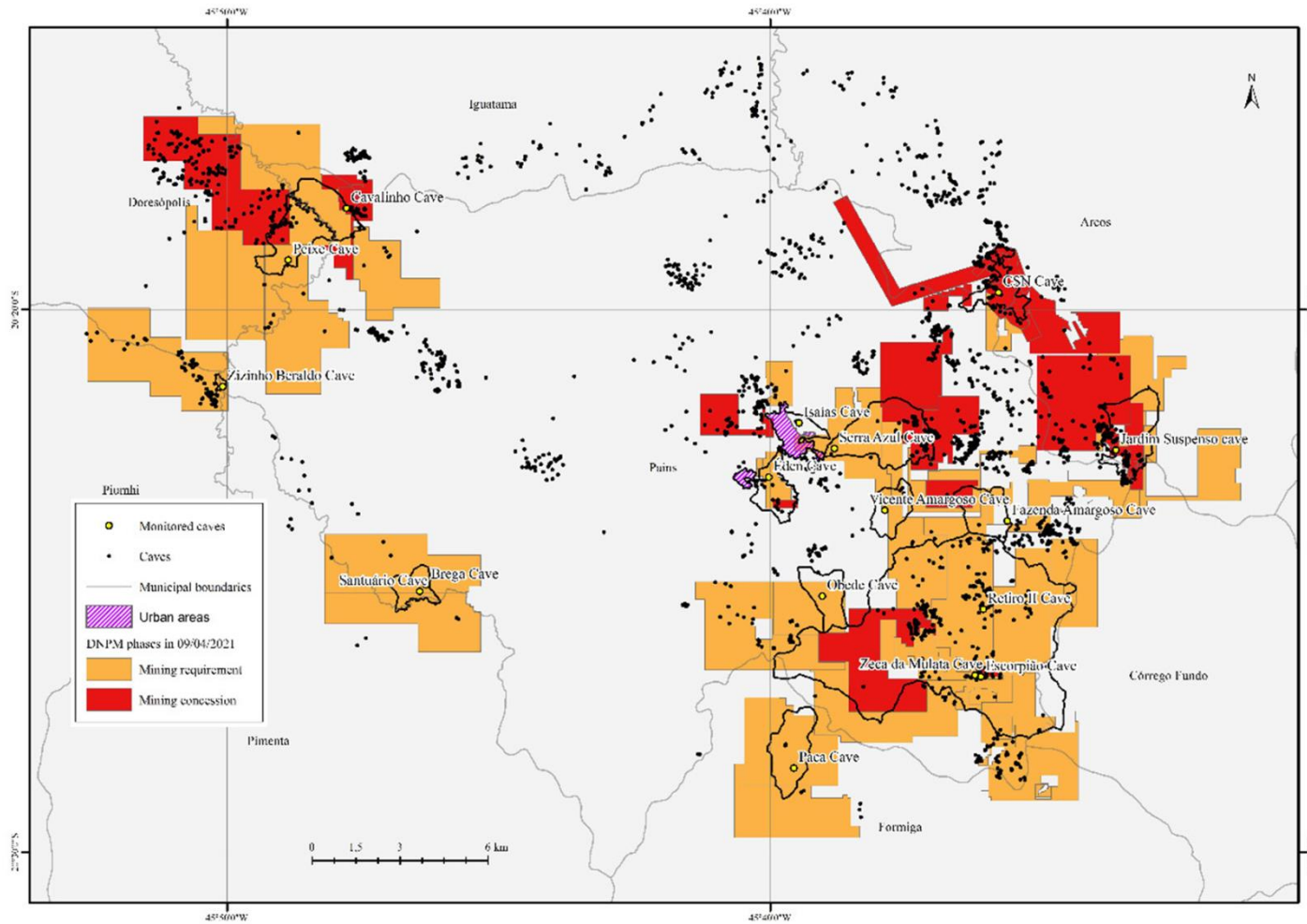
Considering the impacts on the ottobasins presenting caves with *Spelunconiscus* species, the most threatened ottobasin is where the Éden cave is located, which the cave is presenting the highest richness of troglobitic species in the province (Tab.6). The five caves considered as priorities by the ranking present, together, 60.5% and 46% of the troglobitic richness of the analyzed ottobasins and of the whole province respectively.

Table 6. Ranking of ottobasins in terms of impacts.

<b>Ottobasins</b>	<b>Score</b>	<b>Troglobites S</b>	<b>Endemic troglobites</b>
Éden cave	12	15	10
Fazenda Amargoso cave	10	3	1
Cavalinho cave	9	6	1
Serra Azul cave	9	4	1
Isaías cave	9	3	1
Vicente Amargoso cave	8	3	2
Jardim Suspenso cave	7	1	1
Obede cave	7	1	1
Retiro II & Zeca da Mulata caves	6	8	4
Peixe cave	6	2	1
CSN cave	5	1	1
Paca cave	5	2	1
Santuário & Brega caves	5	7	2
Zizinho cave	5	4	1

S: Richness

Figure 8. Ottobasins and the process phases in the National Mining Agency (NMA).



#### 4. Discussion

Of the 14 areas analyzed, there was an increase in mining, urban area, forestry and cropland/pastureland in several ottobasins. Of these, three (Zizinho, CSN and Fazenda Amargoso) showed a reduction in the area occupied by forests across the 35 years studied (Table 1). It is important to highlight that an increase in native vegetation cover has numerous benefits, given the importance of microclimate, light penetration, airflow, energy input and water infiltration in the cave environment (Urich, 2002). Therefore, a reduction in the forested areas on the aforementioned regions can potentially be leading to a reduction in the habitat quality for the cave-restricted species that occur there.

The area designated for agriculture-livestock in the Zizinho Beraldo ottobasin increased by 1.04%, and although this increase was not very significant, it caused changes in the landscape. The main impacts of livestock farming include the conversion of native vegetation, the chemical alteration of soil and percolation water, erosion, increased sedimentation and the use of agrochemicals (Urich, 2002). Agriculture in karst landscapes has strong implications for soil, water and biodiversity (Coxon, 2011). Erosion leads to increased sedimentation within cavities (e.g. Gillieson and Thurgate, 1999) as well as in the epikarst (Hardwick and Gunn, 1990). The use of pesticides and fertilizers in agriculture is frequent, and these chemicals reach the underground through percolation; depending on the concentration, they can be lethal to fauna (Di Marzio et al., 2009). Fertilizers are very likely the cause of the high concentration of potassium ions ( $K^+$ ) in the groundwater of the APD province, as identified by Lucon et al. (2018). Reboleira et al. (2013) verify mortality in different subterranean crustacean species of values ranging from 0.28 mg / L to 17.99 mg / L of potassium salts in groundwater in Europe. High concentrations of this ion are of particular concern for *Spelunocniscus* species, given their dependence on water, especially percolation water, which are certainly the main carriers of ions from surface habitats.

Mining, in turn, increased in the Jardim Suspenso (16.57%), CSN (8.6%), Cavalinho (2.63%), Serra Azul (1.78%), Retiro-II-Zeca da Mulata-Escorpião (1.03%) and Fazenda Amargoso (0.41%) ottobasins. In karst regions, mining has negative ecological and geomorphological impacts. Mining can change the physicochemical attributes of water, which in turn leads to the deterioration of macroinvertebrate community structure (Miliša et al., 2010). Among the hydrochemical changes resulting from mining activities, high levels of cadmium were identified by Lucon et al. (2020), in ground and surface waters of the APD province. The

authors identified cadmium values in groundwater from 0.001 µg/L to 15.63 µg / L, considering that the reference value for human consumption is 5 µg/L. Mebane et al. (2012) identified toxicity of this metal with values of 16 µg/L in Ephemeroptera, as well as for salmonids with even lower values. Therefore, it is likely that the observed values of cadmium in groundwater for the region may be already causing damages to the subterranean fauna. Little is known, however, of the extent of the impact of such changes on cave-restricted species, whose habitat ranges are restricted and who are, therefore, more susceptible to extinction. *Spelunconiscus* species are amphibious and commonly found in travertine dams; therefore, it is likely that physicochemical changes in water may affect the biology and behavior of these species and lead to population declines. Furthermore, it is important to highlight that most of the *Spelunconiscus* species migrate to the epikarst during dry periods, when the travertine pools dry out in many caves where they occur. However, it is unknown the extent of their habitat in such compartments. Hence, even in those cases where the macrocave is not directly affected by a given mining activity, the associated epikarst compartments connected to it may be impacted by such activities, thus, potentially affecting those populations.

In addition to mining, another negative impact identified in the ottobasins was the increase in urban occupation of 19.3% in Isaías and 12.85% in Éden areas. Urban expansion in karst areas leads to increased pollution and therefore has negative effects on the ecosystem and groundwater quality (De Waele and Follesa, 2004). The attributes of some studied caves, according to decree no. 6.640/2008- occurrence of rare troglobites- (Brazil, 2008), pose them as caves of maximum relevance; therefore, they cannot be subjected to irreversible impacts. Legislation addresses impacts that are easily measurable; however, little is known about the medium- and long-term impacts of pollution on fauna caused by sewage infiltration and of soil impermeabilization caused by urban expansion. The negative relationship between sewage pollution in groundwater and stygobitic richness has been demonstrated by several authors (e.g., Malard et al., 1996; Simon and Buikema, 1997).

In addition to the aforementioned impacts having a strong influence on the water cycle, forestry increases surface runoff in a proportion equivalent to previous losses by evaporation. This leads to increased kinetic energy that favors soil organic matter erosion and leaching (Urich, 2002). Therefore, all these impacts act concomitantly and synergistically, potentiating damage to cave communities. In addition, *Eucalyptus* sp. monocultures reduce the amount of organic matter that enters water bodies (e.g., Abelha and Graça, 1999; Molinero and Pozo, 2004). According to the pedological characteristics, *Eucalyptus* sp. can, in the short term, increase or even reduce the amount of organic carbon available in the soil (Montero and Deletti,



2017). However, in the long term, there will certainly be a decline in organic matter (Dean et al., 2017). As a consequence, changes in the quality of trophic resources carried underground modify the population parameters of the communities (e.g., Schneider et al., 2011). In addition, the amount of trophic resources is especially important for troglobitic species, whose reduction can trigger population declines (Humphreys, 1991). Although, in general, there was an increase in the area occupied by forests in the studied otobasins, in seven areas (Zizinho, Jardim Suspenso, Santuário-Brega, Peixe, Cavalinho, CSN and Fazenda Amargoso), the upstream portions showed reductions as a consequence of an increase in anthropogenic land uses. Areas located upstream of caves exert a greater influence on the underground ecosystem and its biota because environmental damage in karst landscapes rapidly spreads throughout the system, potentiating the impact on downstream portions (Urich, 2002). Karst landscapes are especially subject to impacts due to the nature of their own creation, i.e., the dissolution of rocks (van Beynen, 2011).

Deforestation leads to an increased sedimentation rate, higher water turbidity, a change in the nutrient infiltration rate, and increased flood pulses in a cave environment (Urich, 2002; Ford and Williams, 2007; Gilli, 2011). The vegetation cover of adjacent areas is of paramount importance to underground fauna because cave organisms are highly dependent on external trophic contributions due to the lack of primary producers (Gibert and Deharveng, 2002). Therefore, the likely reduction in the supply of trophic resources resulting from deforestation may enhance the competitive interactions between species. The consequences of these changes in the species *Spelunconiscus* and other troglobitic species are still unknown; however, they have a low population density and are more prone to extinction. All the changes mentioned simplify the landscape and trigger negative impacts because environmental heterogeneity is an important driver of biodiversity (Shmida and Wilson, 1985) and an important factor that explains the composition of cave communities (Pellegrini et al., 2016).

Landscape metrics quantitatively summarize the changes in the feature structure (McGarigal, 2014). Therefore, there was a worsening in the metrics for the soil cover classes of nonanthropogenic origin. Notably, the upstream metrics changed more clearly and negatively than did the downstream metrics (supplementary material 4). This finding demonstrates that the portions upstream of the caves were under more pressured by anthropogenic activities, which in turn potentiated the impact of these activities on the ecosystem and cave fauna. The reduction in the number of forest patches, as well as the area occupied by them, reduces the availability of trophic resources for cave fauna. In addition, forested areas play an important role in the infiltration and percolation of water and organic matter. The MSI reflects the complexity of the

patch configuration, and values close to one represent a more circular shape. This metric is correlated with the edge effect, i.e., the more irregular the shape of a fragment, the greater are the adverse effects on the biotic and abiotic attributes. Fragmentation favors the emergence of the edge effect and comprises areas subject to environmental conditions that contrast those of the interior of the forest, whose main change occurs in the microclimate (Davies-Colley et al., 2000). Riutta et al. (2016) demonstrated that the edge effect reduces soil moisture, which negatively affects the foraging activity of edaphic fauna.

Pressure and change of anthropogenic origin can be enhanced by future changes. Based on the processes registered in the National Mining Agency for ottobasins (Figure 2), the long-term scenario will not be favorable for the conservation of cave species. Mining alters geomorphological and ecological attributes and, therefore, causes numerous cascade effects in karst ecosystems. Mining is invariably accompanied by plant suppression, rock removal, increased sedimentation in aquatic bodies and increased particulate matter in the air. These alterations trigger changes in the supply of organic matter and reduce habitat availability, which certainly have negative impacts on cave fauna.

The ranking of the ottobasins regarding their impacts identified areas and caves that are most threatened and, therefore, need greater investments for conservation. Among all ottobasins, the one where the Eden cave is located is the most worrisome regarding the impacts and vulnerability of troglobitic and endemic species. The protection of the seven most threatened ottobasins is capable of conserving 52% (26 species) of all the troglobitic known to the province. The ideal scenario, however, would be to reduce impacts on the 14 ottobasins, as they shelter 17 endemic species of *Spelunconiscus* (not described) and a substantial percentage (76%) of the exclusively subterranean species in the region. Although the analyzed ottobasins (with 17 caves) shelter all this diversity of troglobites, the province comprises more than 2.500 registered caves. Therefore, biodiversity indicators such as *Spelunconiscus* species are of paramount importance in the selection of priority areas for conservation, being excellent candidates for umbrella species (Stoch, et al., 2009). The use of *Spelunconiscus* species as an umbrella is, therefore, an important tool for the conservation of regional subterranean biodiversity. Although such species have a restricted area of life, they are sensitive and co-occur with a range of troglobitic, troglophilic and troglonexic species, so that their conservation ends up leading to the preservation of a much larger number of species.

#### 4.1 Conclusion

The results allowed us to identify important sources of impacts on the landscape. Thus, the current situation of cave species within the region studied is not favorable to long-term

persistence. It is likely, therefore, that some species would become extinct, considering their sensitivity and restricted home range. In contrast, measures aimed at the conservation of these otobasins would allow the conservation of more than half of the troglobitic species of the speleological province, in addition to troglaphiles and troglaxenes. However, studies are needed to measure the influence of these changes on cave fauna to understand the changes triggered in organisms and thus generate appropriate mitigation and conservation measures.

## 6. Acknowledgements

We thank all the members of the Center of Studies on Subterranean Biology (CEBS/UFLA) for helping in the field trips and observations of specimens. VMM and MG are grateful for the help of Darcy dos Santos and Tiago Silva in the field. RLF is grateful to the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq grant no. 308334/2018-3). VMM is grateful to the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001.

## 7. Author contributions statement

**V.M.M.:** conceptualization, methodology, writing - original draft and visualization. **M.G.:** conceptualization, methodology and formal analysis, **R.L.F.:** conceptualization; methodology, writing – review & editing and supervision.

## 8. References

- Abelho, M., Graça, M. A. S. 1996. Effects of eucalyptus afforestation on leaf litter dynamics and macroinvertebrate community structure of streams in Central Portugal. *Hydrobiologia*, 324(3), 195-204. <https://doi.org/10.1007/BF00016391>
- ANM. 2021. Sistema de Informações Geográficas da Mineração - SIGMINE. <http://www.anm.gov.br/assuntos/ao-minerador/sigmine>.
- Brazil. 2008. Decreto nº 6.640 de 07 de novembro de 2008. Brasília.
- Cavalcanti, L. F., Lima, M. F., Medeiros, R. C. S., Meguerditchian, I. 2012. Plano de ação nacional para a conservação do patrimônio espeleológico nas áreas cársticas da bacia do rio São

Francisco. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, Instituto Chico Mendes, 140.

CECAV. 2021. Cadastro Nacional de Informações Espeleológicas. <https://www.icmbio.gov.br/cecav/canie.html>.

CONAMA. 2004. Conselho Nacional do Meio Ambiente - Ministério do Meio Ambiente. Resolução no 347, de 10 de setembro de 2004. Brasília, DF.

Congalton, R. G., & Green, K. (2019). *Assessing the accuracy of remotely sensed data: principles and practices*. CRC press.

Coxon, C. 2011. Agriculture and karst. In *Karst management* (pp. 103-138). Springer, Dordrecht.

Culver, D. C., & Pipan, T. 2019. *The biology of caves and other subterranean habitats*. Oxford University Press.

Davies-Colley, R. J., Payne, G. W., Van Elswijk, M. 2000. Microclimate gradients across a forest edge. *New Zealand Journal of Ecology*, 111-121.

de Barros Ferraz, S. F., Vettorazzi, C. A., & Theobald, D. M. 2009. Using indicators of deforestation and land-use dynamics to support conservation strategies: a case study of central Rondônia, Brazil. *Forest Ecology and Management*, 257(7), 1586-1595. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.01.013>

De Waele, J., & Follesa, R. 2003. Human impact on karst: the example of Lusaka (Zambia). *International Journal of Speleology*, 32(1), 5. <http://dx.doi.org/10.5038/1827-806X.32.1.5>

Dean, C., Kirkpatrick, J. B., & Friedland, A. J. 2017. Conventional intensive logging promotes loss of organic carbon from the mineral soil. *Global Change Biology*, 23(1), 1-11. <https://doi.org/10.1111/gcb.13387>

Di Marzio, W. D., Castaldo, D., Pantani, C., Di Cioccio, A., Di Lorenzo, T., Sáenz, M. E., Galassi, D. M. P. 2009. Relative sensitivity of hyporheic copepods to chemicals. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 82(4), 488-491.

Figueiredo, G. C., Vieira, C. A. O. 2007. Estudo do comportamento dos índices de Exatidão Global, Kappa e Tau, comumente usados para avaliar a classificação de imagens do sensoriamento remoto. Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, 13, 5755-5762.

Ford, D., Williams, P. 2007. Karst hydrogeology and geomorphology. London, England: Wiley.

Gibert, J., Deharveng, L. 2002. Subterranean Ecosystems: A Truncated Functional Biodiversity: This article emphasizes the truncated nature of subterranean biodiversity at both the bottom (no primary producers) and the top (very few strict predators) of food webs and discusses the implications of this truncation both from functional and evolutionary perspectives. *BioScience*, 52(6), 473-481. [https://doi.org/10.1641/0006-568\(2002\)052\[0473:SEATFB\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-568(2002)052[0473:SEATFB]2.0.CO;2)

Gilli, E., & Fandel, C. (2011). *Karstology: Karst, Caves and Springs*. CRC Press.

Gillieson, D., & Thurgate, M. 1999. Karst and agriculture in Australia. *International Journal of Speleology*, 28(1), 11. <http://dx.doi.org/10.5038/1827-806X.28.1.11>

Goldscheider, N., Chen, Z., Auler, A. S., Bakalowicz, M., Broda, S., Drew, D., ... Veni, G. 2020. Global distribution of carbonate rocks and karst water resources. *Hydrogeology Journal*, 28(5), 1661-1677. <https://doi.org/10.1007/s10040-020-02139-5>

Gomes, M., Ferreira, R. L., & de Azevedo Ruchkys, Ú. 2019. Landscape evolution in ferruginous geosystems of the Iron Quadrangle, Brazil: a speleological approach in a biodiversity hotspot. *SN Applied Sciences*, 1(9), 1-13. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1139-3>

Google. 2013. Google Earth.

Griebler, C., Avramov, M. 2014. Groundwater ecosystem services: a review. *Freshwater Science*, 34(1), 355-367.

Griebler, C., Stein, H., Kellermann, C., Berkhoff, S., Brielmann, H., Schmidt, S., ... Hahn, H. J. 2010. Ecological assessment of groundwater ecosystems—vision or illusion? *Ecological Engineering*, 36(9), 1174-1190.

- Hardwick P., Gunn, J. 1990. Soil erosion in cavernous limestone catchments. In: Boardman J, Foster IDL, Dearing JA (eds.) Soil erosion on agricultural land. Wiley, Hoboken, pp. 301–310.
- Humphreys, W. F. 1991. Experimental re-establishment of pulse-driven populations in a terrestrial troglobite community. *The Journal of Animal Ecology*, 609-623.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2013. Manual técnico de uso da terra. Rio de Janeiro. <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv81615.pdf>
- ICMBIO. 2020. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Anuário estatístico do Patrimônio Espeleológico brasileiro. Brasília.
- IGAM. 2019. Instituto Mineiro de Gestão das Águas. Base hidrográfica ortocodificada de Minas Gerais / Instituto Mineiro de Gestão das Águas.
- INPE. 2001. Instituto de Pesquisas Espaciais. Introdução ao sensoriamento remoto. São José dos Campos.
- JAXA/METI. ALOS PALSAR L 1.0 - ALPSRP272776780. <https://asf.alaska.edu>
- Jennings, J. N. 1971. Karst. Australian National University Press.
- Lambeck, R. J. 1999. Landscape planning for biodiversity conservation in agricultural regions: a case study from the wheatbelt of Western Australia. Biodiversity technical paper 2. Environment Australia, Canberra .
- Lucon, T. N., Costa, A. T., Galvão, P., & Leite, M. G. P. 2018. Natural background levels and seasonal influence on groundwater chemistry of the Upper São Francisco karst region, MG, Brazil. *Brazilian Journal of Geology*, 48(4), 867-879. <https://doi.org/10.1590/2317-4889201820180071>
- Lucon, T. N., Costa, A. T., Galvão, P., & Leite, M. G. P. 2020. Cadmium behavior in a karst environment hydrological cycle. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(9), 8965-8979. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07894-2>
- Luiz, C. H. P.; Faria, S. D. 2013. Construção da base Otto-codificada em Minas Gerais: implementação da metodologia desenvolvida por Otto Pfafstetter (1989) para escalas 1:100.000

e 1:50.000. Foz do Iguaçu, PR: Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais - INPE, pp. 2455–2462.

Malard, F., Plenet, S., Gibert, J. 1996. The use of invertebrates in ground water monitoring: a rising research field. *Groundwater Monitoring & Remediation*, 16(2), 103-113.

Martins, T. I. S., Rodrigues, S. C. 2016. Compartimentação geomorfológica da Folha Piumhi, região do alto São Francisco, Minas Gerais. *Revista Brasileira de Geomorfologia*, 17(1), 145-162.

McGarigal, K. 2014. Landscape pattern metrics. Wiley StatsRef: Statistics Reference Online. <https://doi.org/10.1002/9781118445112.stat07723>

Mebane, C. A., Dillon, F. S., & Hennessy, D. P. 2012. Acute toxicity of cadmium, lead, zinc, and their mixtures to stream-resident fish and invertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(6), 1334-1348. <https://doi.org/10.1002/etc.1820>

Melo, P. H. A. D., Lombardi, J. A., Salino, A., & Carvalho, D. A. D. 2013. Composição florística de angiospermas no carste do alto São Francisco, Minas Gerais, Brasil. *Rodriguésia*, 64(1), 29-36. <https://doi.org/10.1590/S2175-78602013000100004>

Menegasse, L. N., Gonçalves, J. M., Fantinel, L. M. 2002. Disponibilidades hídricas na Província cárstica de Arcos-Pains-Doresópolis, Alto São Francisco, Minas Gerais, Brasil. *Águas Subterrâneas*, 16(1), 1-19. <https://doi.org/10.14295/ras.v16i1.1297>

Miliša, M., Živković, V., & Habdija, I. 2010. Destructive effect of quarry effluent on life in a mountain stream. *Biologia*, 65(3), 520-526. <https://doi.org/10.2478/s11756-010-0044-4>

Molinero, J., Pozo, J. 2004. Impact of a eucalyptus (*Eucalyptus globulus* Labill.) plantation on the nutrient content and dynamics of coarse particulate organic matter (CPOM) in a small stream. *Hydrobiologia*, 528(1), 143-165.

Montero, L. L., & Delitti, W. 2017. Effects of Eucalyptus and Pinus Forest Management on Soil Organic Carbon in Brazilian Wooded-Savanna. In *Forest Biomass and Carbon*. IntechOpen.

- Pellegrini, T., Sales, L. P., Aguiar, P., Ferreira, R. L. 2016. Linking spatial scale dependence of land-use descriptors and invertebrate cave community composition. *Subterranean Biology*, 18, 17.
- Reboleira, A. S. P., Abrantes, N., Oromí, P., & Gonçalves, F. 2013. Acute toxicity of copper sulfate and potassium dichromate on stygobiont *Proasellus*: general aspects of groundwater ecotoxicology and future perspectives. *Water, Air, & Soil Pollution*, 224(5), 1-9. <https://doi.org/10.1007/s11270-013-1550-0>
- Riutta, T., Clack, H., Crockatt, M., & Slade, E. M. 2016. Landscape-scale implications of the edge effect on soil fauna activity in a temperate forest. *Ecosystems*, 19(3), 534-544. <https://doi.org/10.1007/s10021-015-9939-9>
- Roberge, J. M., & Angelstam, P. E. R. 2004. Usefulness of the umbrella species concept as a conservation tool. *Conservation biology*, 18(1), 76-85.
- Schneider, K., Christman, M. C., Fagan, W. F. 2011. The influence of resource subsidies on cave invertebrates: results from an ecosystem-level manipulation experiment. *Ecology*, 92(3), 765-776.
- Shmida, A. V. I., & Wilson, M. V. 1985. Biological determinants of species diversity. *Journal of biogeography*, 1-20. <https://doi.org/10.2307/2845026>
- Simon, K. S., Buikema Jr, A. L. 1997. Effects of organic pollution on an Appalachian cave: changes in macroinvertebrate populations and food supplies. *American Midland Naturalist*, 387-401.
- Stoch, F., Artheau, M., Brancelj, A., Galassi, D. M., & Malard, F. 2009. Biodiversity indicators in European ground waters: towards a predictive model of stygobiotic species richness. *Freshwater Biology*, 54(4), 745-755. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2008.02143.x>
- Urich, P. B. 2002. Land use in karst terrain: review of impacts of primary activities on temperate karst ecosystems. Wellington: Department of Conservation.
- van Beynen, P. E., & van Beynen, K. M. 2011. Human disturbance of karst environments, in: *Karst management*. Springer, Dordrecht, pp. 379-397.



Van Beynen, P., & Townsend, K. 2005. A disturbance index for karst environments. *Environmental Management*, 36(1), 101-116. <https://doi.org/10.1007/s00267-004-0265-9>

van Beynen, P., Brinkmann, R., & van Beynen, K. 2012. A sustain ability index for karst environments. *Journal of Cave and Karst Studies*, 74(2), 221-234. <https://doi.org/10.4311/2011SS0217>

Zampaulo, R. A. Diversidade de invertebrados na província espeleológica de Arcos, Pains, Doresópolis (MG): subsídios para a determinação de áreas prioritárias para a conservação. 2010. 190 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada). Universidade Federal Lavras, Lavras, MG, 2010.

## Supplementary material 1

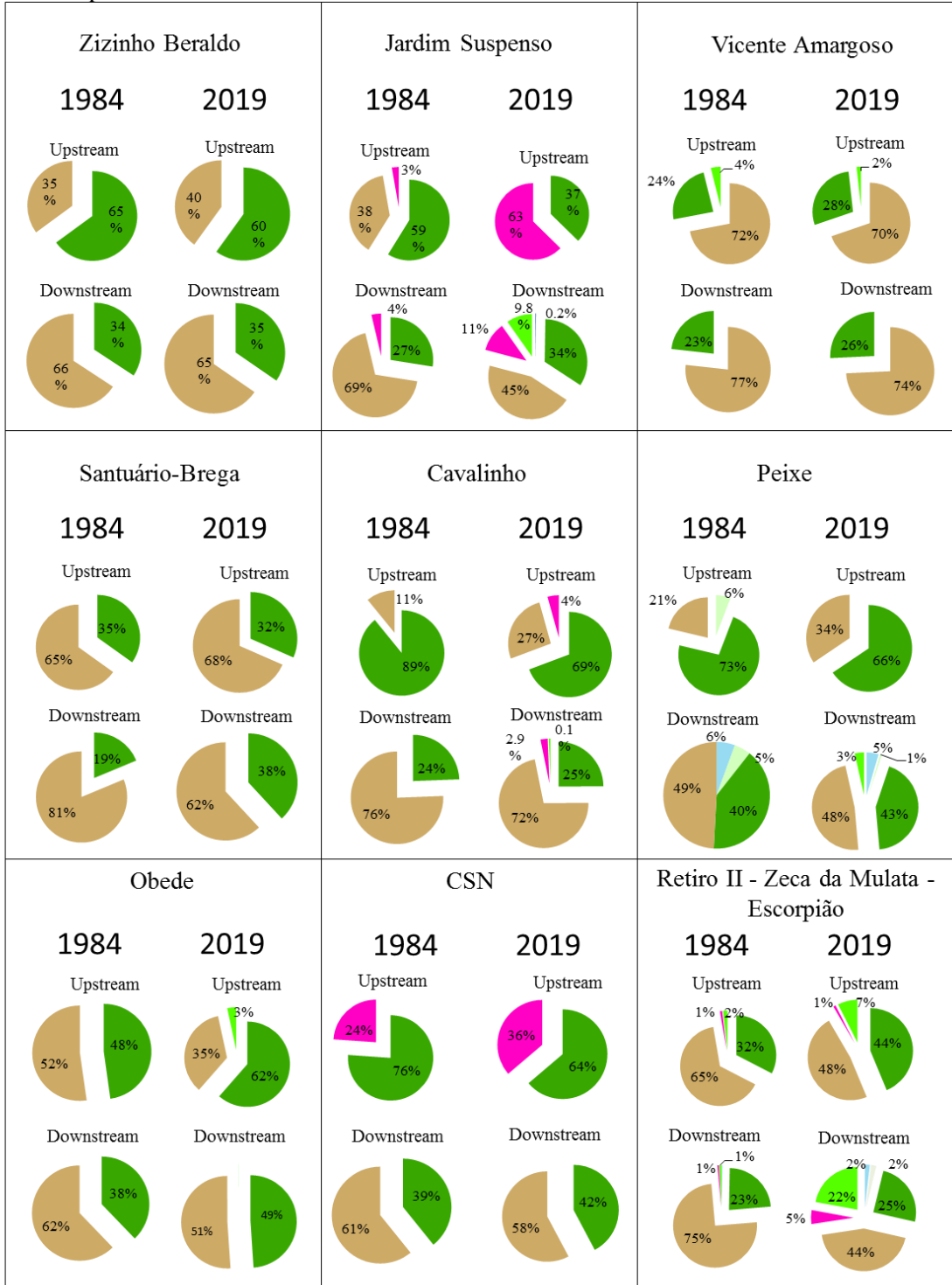
Evolution of land use and vegetation cover - Land use area (in ha).

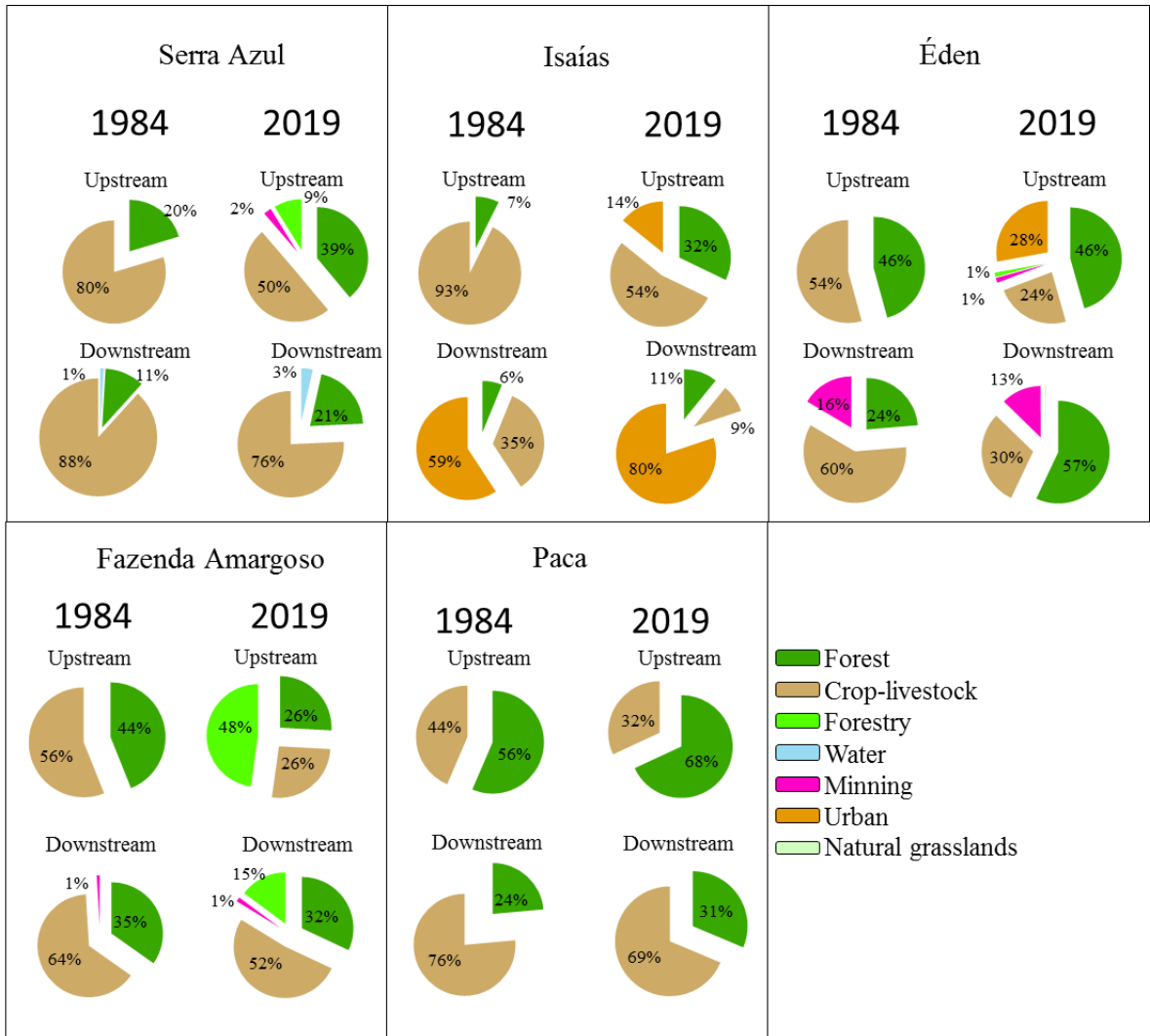
	1984													
	Ziz	JdS	VcA	SnB	Cav	Pex	Obd	CSN	RZE	SeA	Isa	Edn	FzA	Pca
Forest	5.28	123.38	41.34	38.79	58.53	129.4	88.45	117.3	1.033.90	91.61	11.61	73.84	82.45	99.59
Crop-livestock	7.19	237.54	129.1	92.54	170.3	137.9	109.9	33.19	2.757.85	428.5	81.3	125	146.1	197.7
Minning		13.21						30.12	26.88			19.47	1.98	
Urban											88.83			
Water						14.9			7.29	1.41				
Forestry			3.87						46.08					
Natural grasslands						15.21								
	2019													
Forest	5.14	129.23	47.57	47.21	58.82	135.8	114.3	103.4	1.603.88	171.5	26.8	112.9	72.19	125.6
Crop-livestock	7.32	138.68	125	84.15	162.6	138.5	79.33	31.54	1.835.77	302.6	31.01	59.31	113.4	171.7
Minning		75.2			6.03			45.65	55.89	9.28		16.42	2.92	
Urban											123.9	28		
Water		0.83				12.09			8.71	5.05				
Forestry		30.21	1.77		1.34	9.36	4.71		358.44	33.25		1.33	42.03	
Natural grasslands						1.68			9.18					
Total	12.5	374.14	174.3	131.4	228.8	297.3	198.3	180.6	3.871.88	521.6	181.7	217.9	230.5	297.3

Legend: Ziz: Zizinho Beraldo. Jds: Jardim Suspenso. VcA: Vicente Amargoso. SnB: Santuário e Brega. Cav: Cavalinho; Pex: Peixe; Obd: Obede; CSN: Companhia Siderúrgica Nacional; RZE: Retiro II-Zeca da Mulata e Escorpião; SeA: Serra Azul; Isa: Isaiás; Edn: Éden; FzA: Fazenda Amargoso and Pca: Paca. Values in bold print are land uses that increased compared to 1984.

**Supplementary material 2**

Percentages of land use in each by ottobasin upstream and downstream related to the caves' positions on the landscape.





**Supplementary material 3**

Kappa index generated for each ottobasin studied.

Areas	Kappa
<b>Zizinho Beraldo</b>	0.62
<b>Jardim Suspenso</b>	0.74
<b>Vicente Amargoso</b>	0.70
<b>Santuário e Brega</b>	0.64
<b>Cavalinho</b>	0.62
<b>Peixe</b>	0.69
<b>Obede</b>	0.90
<b>CSN</b>	0.76
<b>Retiro II, Zeca da Mulata e Escorpião</b>	0.85
<b>Serra Azul</b>	0.76
<b>Isaiás</b>	0.94
<b>Éden</b>	0.69
<b>Fazenda Amargoso</b>	0.85
<b>Paca</b>	0.76

### Supplementary material 4

Landscape metrics for natural vegetation cover patches in the downstream portion of ottobasins (1984 and 2019).

Ottobasins	Year	Classes	NP	CA	ACS	MSDC	TCA	ICA	MSI
Cavalinho	1984	Forest	25	547699.4	21907.98	60070.73	20219.58	53.77	2.297
	2019	Forest	18	559002.6	31055.7	83432.34	429347.2	76.81	1.405
CSN	1984	Forest	2	214009.7	107004.9	19578.37	171738.6	80.25	1.85
	2019	Forest	2	230518	115259	27807.6	186826.9	81.05	1.847
Éden	1984	Forest	9	279511	31056.77	32167.38	186809.7	66.83	1.742
	2019	Forest	3	672520.2	224173.4	297735.6	553982.3	82.37	2.419
Fazenda Amargoso	1984	Forest	25	715766.1	28630.64	103133.4	509451.6	71.18	1.616
	2019	Forest	13	660740.9	50826.22	88455.13	505814.1	76.55	1.647
Isaías	1984	Forest	2	92699.84	46349.92	36950.96	57953.65	62.52	2.317
	2019	Forest	2	162793.7	81396.87	70488.78	124671	76.58	2.214
Jardim Suspenso	1984	Forest	24	850178.5	35424.1	86406.64	600487.2	70.63	1.885
	2019	Forest	13	1048700	80669.26	119580.8	841864.4	80.28	1.743
Obede	1984	Forest	8	238106.8	29763.35	39929.91	155696.3	65.39	1.824
	2019	Forest	5	296946	59389.21	78592.1	237446.7	79.96	1.954
Paca	1984	Forest	22	488854	22220.64	25207.33	316198.4	64.68	1.578

<i>Continuation</i>	2019	Forest	11	655154.3	59559.48	72245.1	498707	76.12	1.865
	1984	Natural grasslands	4	134784.4	33696.1	28222.66	91962.01	68.23	1.688
		Forest	27	1077596	39910.96	107250.5	796547.3	73.92	1.967
	2019	Natural grasslands	1	16806.22	16806.22	0	12012.28	71.48	1.112
Forest		13	1163916	89532.04	124470.6	916437.9	78.74	1.899	
Retiro II-Zeca da Mulata-Escorpião	1984	Forest	73	5810803	79600.04	222095.6	4435926	76.34	1.955
	2019	Natural grasslands	1	91820.69	91820.69	0	72580.73	79.05	1.849
		Forest	23	10135081	440655.7	1153368	8948206	88.29	2.13
Serra Azul	1984	Forest	14	163835.1	11702.51	19702.16	99894.14	60.97	1.538
	2019	Forest	6	302369.1	50394.85	73586.23	228135.7	75.45	1.891
Santuário-Brega	1984	Forest	13	81338.64	6256.82	11292.19	28974.56	35.62	2.305
	2019	Forest	6	137052.4	22842.06	22591.67	92475.94	67.47	1.694
Vicente Amargoso	1984	Forest	4	175085.3	43771.32	53214.18	117726.1	67.24	2.154
	2019	Forest	6	194128.7	32354.79	46511.84	143450	73.89	1.706
Zizinho	1984	Forest	5	31395.14	6279.03	5924.56	13289	42.33	2.187
	2019	Forest	5	31731.44	6346.29	5627.34	16925.49	53.34	1.535

NP: number of patches. CA: class area (m<sup>2</sup>). ACS: average class size; MSDC: mean standard deviation of the class; TCA: total central area of the class; ICA: index in % of the central area of the class; MSI: mean shape index.

**Artigo 2- Desvendando o nicho funcional de isópodes de cavernas neotropicais: um estudo de caso**

Artigo redigido sob as normas do periódico Functional Ecology, ISSN 1365-2435 (versão preliminar).



## **Desvendando o nicho funcional em isópodes de cavernas neotropicais: um estudo de caso**

Vanessa Mendes Martins<sup>1</sup>, Rafaela Bastos Pereira<sup>1</sup>, Rodrigo Lopes Ferreira<sup>1</sup>

1. Centro de Estudo em Biologia Subterrânea, Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ecologia e Conservação, Universidade Federal de Lavras, Campus Universitário, 3037, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil.

### **Resumo:**

Os atributos funcionais são características que favorecem a sobrevivência e reprodução dos indivíduos, refletindo o uso do habitat e, conseqüentemente, o nicho. Eles estão sujeitos à ação de filtros ambientais e da filogenia, ambos capazes de gerar agrupamentos fenotípicos. Logo, o objetivo do presente estudo foi identificar se os atributos funcionais são filogenética e ambientalmente determinados em Oniscidea (Isopoda). O táxon engloba organismos adaptados a diferentes condições ambientais, incluindo espécies aquáticas, terrestres e subterrâneas. Usamos, portanto, 12 espécies de Isopoda exclusivamente subterrâneas (troglóbias) que ocorrem em diferentes micro-habitats (poças, represas de travertino, drenagens, lençol freático e ambientes terrestres). Para tal, construímos hipervolumes n-dimensionais usando o estimador de densidade Gaussiano de Kernel e testamos, por meio do modelo nulo, se espécies que habitam o mesmo tipo de micro-habitat são morfológica e filogeneticamente mais próximas do que espécies encontradas em micro-habitats diferentes. Nossos resultados não demonstraram quaisquer agrupamentos fenotípicos. Contudo, observamos maior volume funcional de espécies encontradas em micro-habitats cuja variabilidade ambiental é elevada, como as poças e represas de travertinos que secam durante um período do ano. O maior volume funcional de algumas espécies relaciona-se à plasticidade fenotípica, que é a expressão de diferentes fenótipos de acordo com o ambiente. Tal plasticidade é, portanto, fundamental para que espécies tolerem ambientes variáveis, além de beneficiar a permanência em situações menos favoráveis à sobrevivência.

**Palavras chaves:** Atributos funcionais, filtro ambiental, relação filogenética, plasticidade fenotípica, troglóbios.

## Introdução

Atributos funcionais são propriedades mensuráveis no indivíduo, ou genótipo, capazes de afetar a sobrevivência ou reprodução em um dado contexto ambiental (Violle et al. 2007). Eles podem ser medidos independentes da estrutura do habitat e, se avaliados corretamente, possibilitam comparações entre habitats, regiões e táxons (Ricklefs & Travis, 1980). Os atributos funcionais refletem dimensões do nicho (e.g. Miles & Ricklefs, 1984, Pigot et al. 2016), e isso possibilita entender se há influência do ambiente sobre a morfologia das espécies.

Espécies que ocorrem em ambientes similares tendem a compartilhar atributos, como reflexo da adaptação ambiental (Cornwell et al. 2006), a qual decorre dos filtros ambientais. A ação do ambiente permite que espécies com atributos ou fenótipos específicos se estabeleçam, excluindo aquelas não adaptadas (Keddy, 1992, Farjalla et al. 2012, Kraft et al. 2015). Muitas comunidades são, portanto, estruturadas a partir de filtros ambientais, podendo gerar agrupamentos fenotípicos (Weither & Keddy, 1995). Além disso, a relação filogenética também pode explicar os padrões de similaridade morfológica ou funcional entre espécies coocorrentes, uma vez que o uso do habitat é uma característica conservativa (nichos conservativos) (Webb, 2002). Assim, espécies filogeneticamente relacionadas tendem a compartilhar características que lhes permitem colonizar e sobreviver em habitats específicos. Diante disso, o nicho conservativo é capaz de criar padrões filogenéticos em agrupamentos ecológicos (comunidades, guildas, grupos funcionais) (Wiens et al. 2010). Os dois processos (filtros ambientais e relação filogenética), portanto, agem na estruturação de comunidades fenotipicamente semelhantes sob condições similares (Cavender-Bares et al. 2009). Contudo, a evolução convergente também pode ser a causa da similaridade morfológica entre espécies que se encontram sob forças seletivas similares (e.g. Pigot et al. 2020, Mammola et al. 2020).

O ambiente também exerce influência na expressão de diferentes fenótipos por meio da plasticidade fenotípica (Bradshaw, 1965), cuja importância vai além da simples alteração morfológica. A plasticidade é capaz de alterar as interações entre os organismos (e.g. Peacor, 2001), bem como desses com o ambiente, em um processo conhecido como construção do nicho (Donohue, 2005). Ela também pode mediar a coexistência e, assim, participar da estruturação das comunidades (Jung et al. 2010). Contudo, as comunidades também estão sujeitas a processos neutros, cujos padrões são aqueles esperados para comunidades randômicas (Hardy, 2008), e isso também ocorre para as características morfológicas que as espécies expressam (e.g. Leibold, 1998, Stevens & Willig, 2000, Ackerly, 2000).

A convergência morfológica de organismos filogeneticamente não relacionados é frequentemente observada em ambientes cavernícolas, os quais são considerados extremos (Culver & Pipan, 2009) em função da ausência de luz e da tendência à escassez alimentar (Pipan & Culver, 2012). Além disso, ecossistemas subterrâneos apresentam uma gama de micro-habitats que exercem diferentes pressões ambientais sobre as espécies (Trontelj et al. 2012), o que faz com que certos grupos taxonômicos se tornem modelos ideais para o estudo das pressões que estruturam as comunidades (Cardoso, 2012). Além disso, as espécies encontradas em ambientes cavernícolas geralmente são subamostras do *pool* regional (Gibert & Deharveng, 2002; Rabelo et al. 2021) que colonizam o meio subterrâneo por apresentarem características que favorecem seu estabelecimento, como o comportamento generalista e a atividade noturna. Aquelas que, por fim, evoluem no subterrâneo diferem morfológica, fisiológica e ecologicamente das epígeas (Trajano, 2005).

A ordem Isopoda compreende um dos grupos mais diversos entre os crustáceos (Schmalfuss, 2003), cujos representantes terrestres (Oniscidea) necessitam de altos níveis de umidade para sobreviverem (Taiti, 2003). Por conseguinte, diversas espécies se adaptaram e evoluíram em ambientes subterrâneos. Além disso, os Oniscideas apresentam morfologia fortemente associada a estratégias ecológicas (Schmalfuss, 1984), consistindo, portanto, em bons modelos para estudos ecológicos. Dentre as famílias de Oniscidea, Styloniscidae é a que apresenta mais representantes troglóbios no Brasil, cujas espécies ocorrem em diferentes tipos de micro-habitats cavernícolas.

No presente estudo, portanto, buscamos identificar se as espécies de isópodes troglóbios (Styloniscidae) analisadas são especializadas aos micro-habitats aos quais se associam. Para tal, selecionamos atributos morfológicos e testamos a hipótese de que os atributos funcionais são relacionados ao micro-habitat e determinados filogeneticamente. Também testamos a hipótese de que espécies associadas a micro-habitat similares e filogeneticamente relacionadas apresentam maior sobreposição do nicho funcional do que o esperado ao acaso.

## **Materiais e métodos**

### *Área de Estudo*

Foram utilizados para este estudo espécimes provenientes de sete cavernas localizadas no estado de Minas Gerais e seis no estado da Bahia, distribuídas entre os biomas Cerrado e Caatinga. Considerando as espécies incluídas, o presente estudo representou quase a totalidade da distribuição dos Styloniscidae troglóbios brasileiros (Fig. 1).

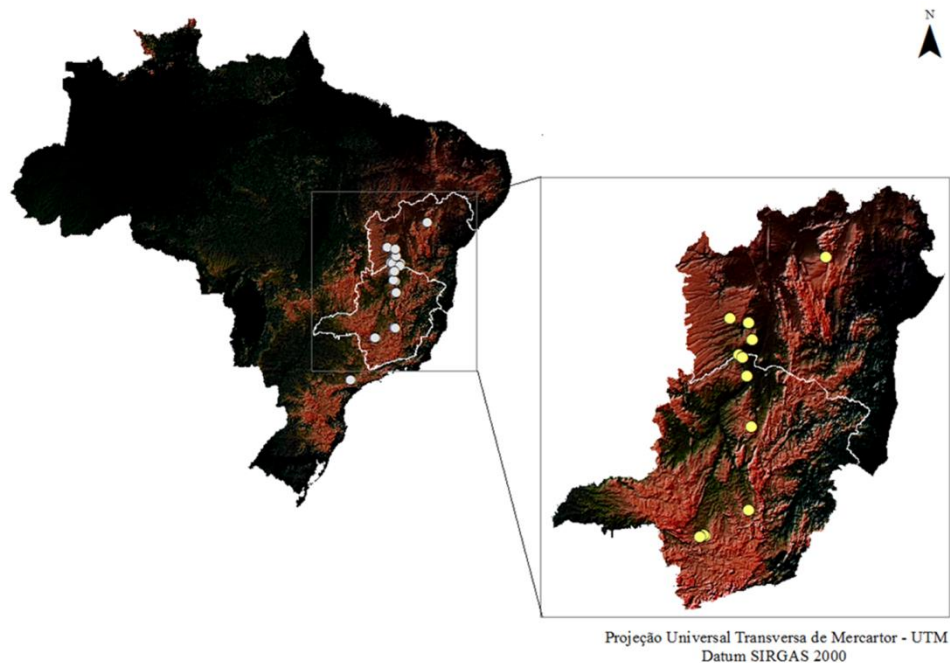


Figura 1. Distribuição das espécies de Styloniscidae troglóbios brasileiros (pontos cinzas), com destaque às espécies analisadas (pontos amarelos).

### *Espécies-alvo*

As espécies selecionadas para o presente estudo compreendem representantes da família Styloniscidae, cuja riqueza de troglóbios, no Brasil, perfaz um total de 29 espécies distribuídas em 6 gêneros. Avaliamos 12 (41.4%) espécies troglóbias dessa família, distribuídas em 4 gêneros. Dentre eles o gênero *Spelunconiscus* atualmente, compreende uma única espécie descrita (e.g. Campos-Filho, Araujo & Taiti, 2014). Contudo, encontra-se em descrição 17 novas espécies desse gênero, de ocorrência restrita à província espeleológica de Arcos-Pains-Doresópolis. Desse montante, incluímos em nossas análises três novas espécies de *Spelunconiscus*. O gênero *Xangoniscus* compreende, atualmente, 7 espécies descritas (e.g. Campos-Filho, Araujo & Taiti, 2014, Campos-Filho, Bichuette & Taiti 2016, Bastos-Pereira, Souza & Ferreira, 2017, Cardoso, Bastos-Pereira, Souza & Ferreira, 2020a), das quais avaliamos os atributos funcionais de três delas, além de duas outras ainda em descrição. Por fim, avaliamos duas espécies de *Pectenoniscus* (*P. montalvaniensis* e *P. morrensis*), cujo gênero apresenta oito espécies, sendo 7 dessas troglóbias e uma epígea (Cardoso, Bastos-Pereira, Souza, & Ferreira (2020b).

As 12 espécies analisadas ocorrem em 5 tipos de micro-habitats (Fig. 2) e são troglóbias, portanto, apresentam menor tamanho populacional e na maioria das vezes são difíceis de serem

visualizados em campo. Logo, a escolha dessas espécies se deu em função da disponibilidade de material para análise.

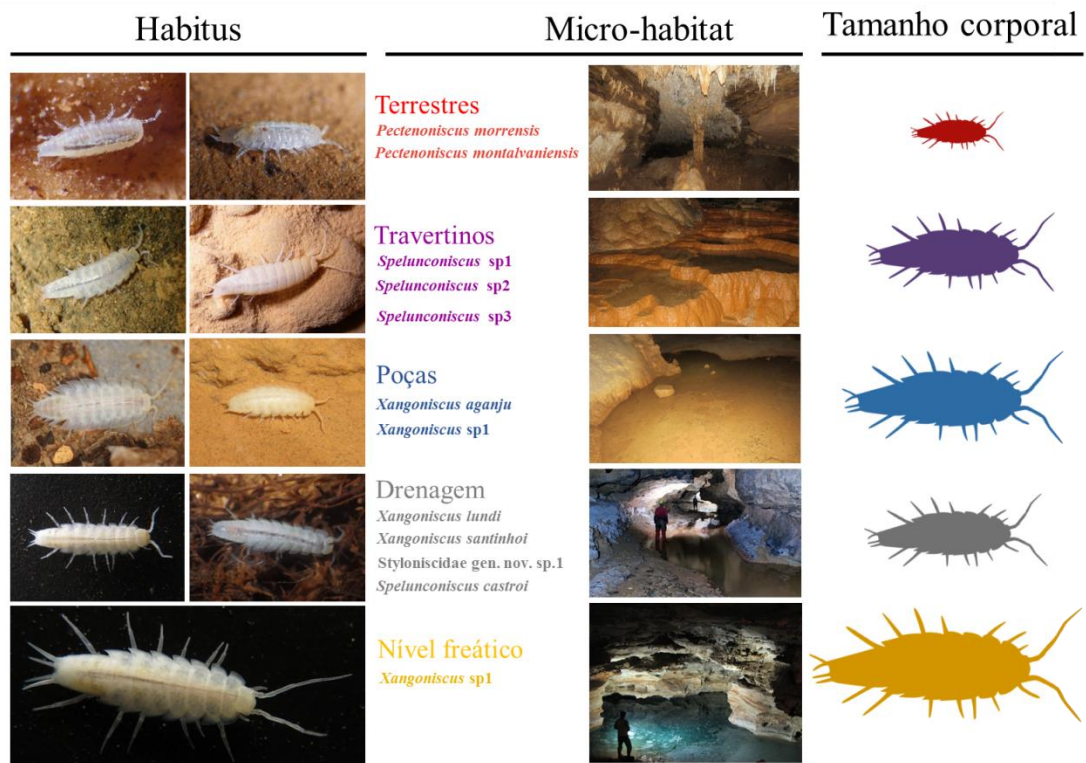


Figura 2. Espécies consideradas no presente estudo e os respectivos tamanhos corporais e micro-habitat por elas ocupadas.

### Análise filogenética

Realizamos o levantamento de caracteres para a construção da matriz a partir da literatura (e.g. Campos-Filho et al, 2014; 2016; 2017; Cardoso, al. 2020, Bastos-Pereira et al, 2017; Souza et al. 2015), consulta a especialistas e análise de material fixado (lâminas e espécimes inteiros). A matriz considerou os caracteres taxonômicos importantes, que foram aqueles que variam entre as espécies. As espécies dos gêneros *Spelunconiscus*, *Xangoniscus* e *Pectenoniscus* foram usadas como ingroup e *Iuiuniscus iuiuensis* como outgroup por pertencer a subfamília Iuiuniscinae. A matriz foi construída no Mesquite 3.6 (Maddison & Maddison, 2018) e todos os caracteres foram tratados como não aditivos (Material suplementar 1).

Usamos o método de pesagem implícita no qual a pesquisa heurística é usada para gerar o cladograma mais parcimonioso. Para tal, usamos um script (propk.run) do TNT, versão 1.5 (Goloboff & Catalano, 2016), desenvolvido por Salvador Arias, que calcula o valor apropriado para a constante k (dá baixo peso aos caracteres com altos níveis de homoplasia - ver detalhes

em Goloboff et al. 2008). Com base nesse script o valor fornecido para o nosso conjunto de dados foi de  $k=3$ . Realizamos a análise *The New Technology Search* seguindo os seguintes métodos: *Perturbation Phase* foi ajustada para 8 ponderações ascendentes e descendentes em ambas pesagens, além de 200 iterações para o *Ratchet* (Nixon 1999), 20 ciclos no *Drift* e 10 rodadas em *Tree Fusing* (Goloboff 1999). O comprimento mínimo das árvores foi atingido 100 vezes durante a análise e a *Random Seed* foi definida como 0.

#### *Atributos funcionais*

A fim de excluir eventuais dimorfismos sexuais, avaliamos somente fêmeas, cujas medidas do tamanho corporal, tamanho da antena e largura corporal (medida no pereonito 7) foram tomadas 3 vezes em cada indivíduo, para então, usarmos o valor médio a fim de evitar o erro humano. Realizamos a micrografia eletrônica para obtenção do número de mecanorreceptores (pereonito 1), sinuosidade do sistema condutor de água (SCA) e área da escama do SCA (Tab.1). Para tal, dissecamos e montamos os espécimes em stubs, sobre fita de carbono. E por fim, fotografamos os organismos usando o microscópio eletrônico de varredura Hitachi TM4000. De posse das microfotografias, as imagens foram analisadas com auxílio do programa Zeiss ZEN 2.3 lite (edição azul) para medição dos atributos (Fig. 3).

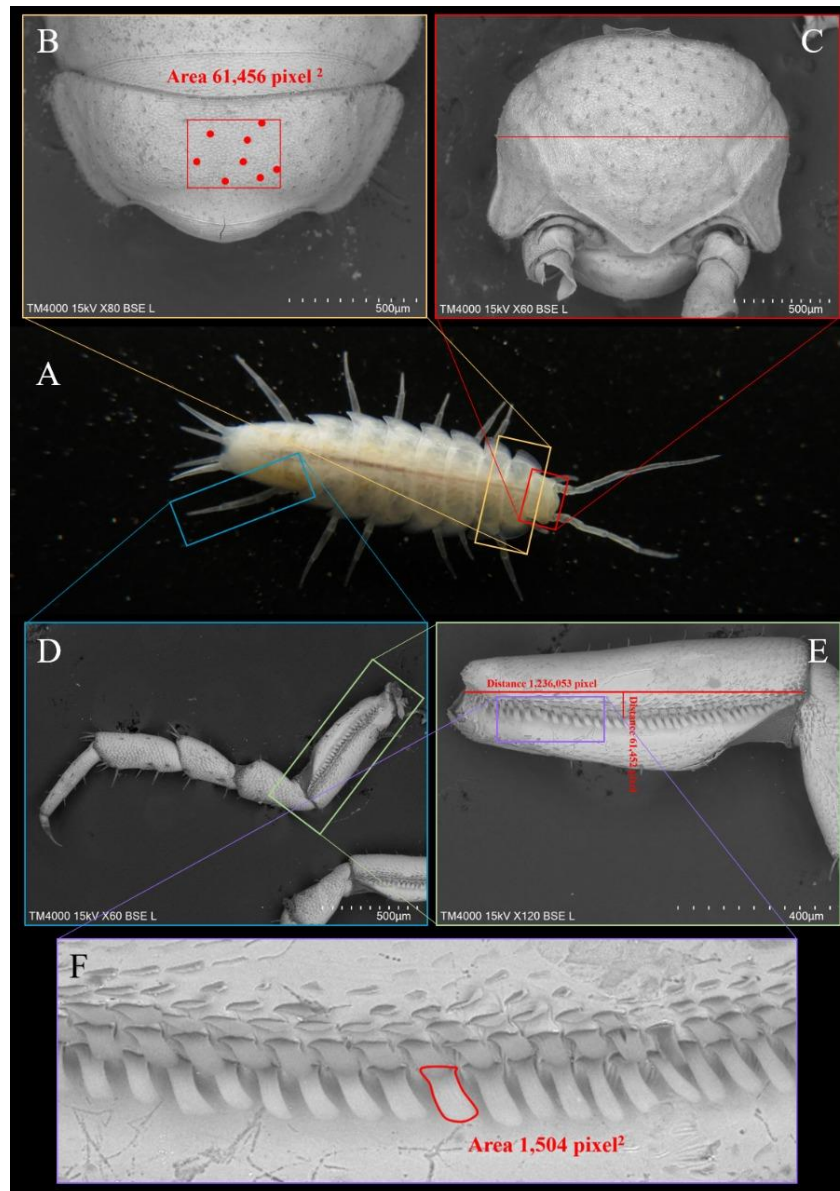


Figura 3. Medidas realizadas para obtenção dos atributos funcionais. A) Localização das regiões onde cada atributo foi medido nos espécimes. B) Área medida no pereonito 1 para contabilização dos mecanorreceptores. C) Largura da cabeça. D) Pereópodo 7, em destaque a base com o Sistema condutor de água (SCA). E) Estabelecimento de uma reta longitudinal ao SCA, a fim de estabelecermos a sinuosidade por meio do tamanho da reta perpendicular ao SCA. F) Medida da área das escamas do SCA, na qual o valor usado foi a área média de 10 escamas.

### *Análises estatísticas*

Avaliamos a variação dos atributos morfológicos das espécies a fim de determinar o espaço multidimensional ocupado pelos atributos funcionais. Seguindo a metodologia proposta por Blonder et al. (2014), delineamos a geometria do hiperespaço por meio da construção do hipervolume n-dimensional para as espécies estudadas através do estimador de densidade Gaussiano de Kernel. Para tal, usamos a medida de dissimilaridade de Gower (Gower, 1971), posteriormente fizemos a análise de coordenadas principais (PCoA), cujos 2 eixos foram

extraídos a fim de construirmos o hipervolume (Blonder et al. 2018). Automatizamos a largura de banda por meio do estimador de validação cruzada (Duong & Hazelton, 2005). Posteriormente, construímos matrizes triangulares de pares de centroides dos nichos e distância mínima entre os hipervolumes n-dimensionais, para compararmos o espaço funcional ocupado pelas espécies.

Tabela 1. Atributos morfológicos usados e significado funcional.

<b>Atributo</b>	<b>Construção da variável</b>	<b>Significado funcional</b>
Tamanho corporal	Medida tomada da porção anterior da cabeça até a porção distal do telson.	Relaciona-se ao tamanho do poro usado como abrigo (Culver et al. 2010). É considerado um caractere adaptativo (Kozak et al. 2009) e indicativo de especialização ao ambiente subterrâneo (Christiansen, 2012, Trontelj et al. 2012).
Largura corporal	Medida tomada no 7º pereonito.	Influencia na perda de água em função da relação área superfície/volume (Broly et al. 2015)
Tamanho da antena	Soma do tamanho de todos os artigos antenais (flagelo e pedúnculo)	É um <i>proxy</i> do tamanho corporal e está ligado à percepção ambiental (Lefebvre et al. 2000)
Número de mecanorreceptores (Pereonito 1)	Medimos a altura do pereonito a fim de estabelecermos uma área a ser analisada, a qual foi obtida ao elevarmos 30% da altura ao quadrado.	Estruturas relacionadas à percepção ambiental de vibrações do ar, água e substrato (Holdic & Lincoln, 1974).
Sinuosidade do SCA	Na base do 7º pereópodo estabelecemos uma reta partindo do início ao fim do SCA, posteriormente estabelecemos uma reta perpendicular na porção mediana da 1ª reta, e cujo valor foi usado como da sinuosidade.	A maior sinuosidade propicia o aumento da superfície de contato, reduzindo assim a velocidade de passagem da água. Esse atributo foi proposto no presente trabalho.
Área média da escama do SCA	Valor médio da área por escama calculada com base na medida de 10 escamas	Aumento da molhabilidade (Hirai et al. 2017).

Nota. SCA: Sistema condutor de água.

Testamos, por meio do modelo nulo, a hipótese de que espécies que ocupam o mesmo tipo de micro-habitat apresentam maior sobreposição do nicho funcional, bem como maior relação filogenética do que o esperado ao acaso. Utilizamos a média da distância filogenética e morfológica entre as espécies que ocupam habitats similares como valores observados. Posteriormente, fizemos um total de 999 subamostragens de k espécies de forma randômica, a



partir do *pool* de espécies, no qual  $k$  é igual ao número de espécies por habitat, cuja distância média extraímos de cada permutação. A permutação foi realizada de modo que uma espécie de cada micro-habitat foi mantida e as demais foram aleatorizadas. Estimamos o tamanho do efeito e o valor de  $p$  para cada permutação. As análises foram realizadas no programa R (Development Core Team, 2019).

## Resultados

### Filogenia

Nem todas as espécies pertencentes a um suposto mesmo gênero foram agrupadas na filogenia. As espécies pertencentes ao gênero *Xangoniscus* foram divididas em dois clados distintos, sendo as demais agrupadas em 2 clados (Fig. 4), dos quais o clado contendo as espécies do gênero *Pectenoniscus* contém espécies exclusivamente terrestres.

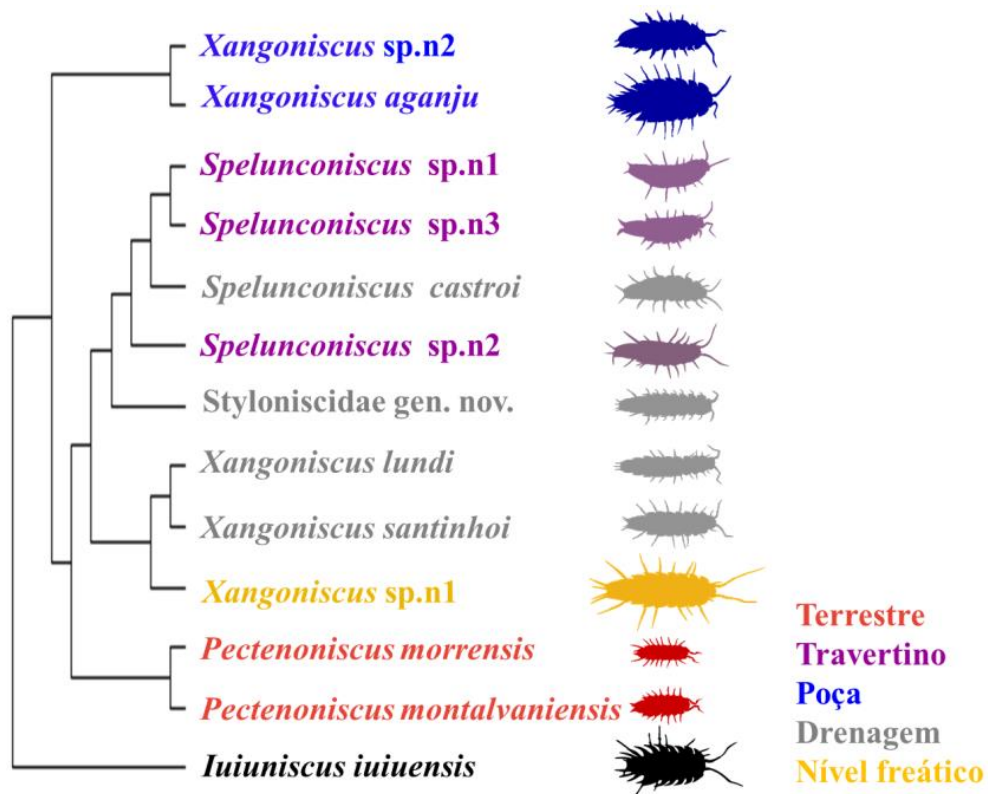


Figura 4. Árvore filogenética gerada pelo TNT usando pesagem implícita, baseada na constante  $k=3$  fornecida pelo script *propk.run*.

### Determinação do espaço funcional

Ao analisarmos espécies que utilizam micro-habitats semelhantes, verificamos uma alta variabilidade dos atributos funcionais. Desta forma, não notamos a influência dos atributos funcionais na determinação do tipo de micro-habitat ocupado. As espécies que apresentaram maior semelhança entre si, com relação aos atributos funcionais, foram as terrestres (*P.*

*morrensis* e *P. montavaniensis*) e as de represas de travertinos (*Spelunconiscus* sp.1, sp.2 e sp.3). As espécies terrestres foram aquelas com menor tamanho corporal, bem como aquelas que apresentaram os menores valores para as demais medidas, com exceção da área das escamas (Material suplementar 2).

Os dois primeiros eixos da PCoA explicaram 94.7% da variabilidade dos dados, que juntamente com a matriz de atributos funcionais permitiu a construção do hipervolume tridimensional Gaussiano de Kernel (Fig. 5a). Embora a representação bidimensional dos dois primeiros eixos do PCoA demonstre sobreposição parcial dos atributos entre espécies de mesmo micro-habitat (Fig.5b), nota-se, por meio da representação tridimensional (Fig.5a), que a sobreposição não ocorre em todas as espécies de mesmo micro-habitat. Isso é especialmente demonstrado pelos valores da interseção dos hipervolumes de espécies de um mesmo micro-habitat ( $< 0.02$ ). Mesmo entre espécies de micro-habitat diferentes a interseção foi muito baixa ( $< 0.01$ ), indicando que a sobreposição de nicho foi ínfima entre as espécies. O volume funcional foi maior para espécies associadas a poças e represas de travertino, cujos micro-habitats sofrem flutuações sazonais (Fig.6, Tab. 2). A modelagem nula demonstrou que as espécies de mesmo tipo de habitat não são morfológica (SES = -1.49,  $p = 0.08$ ) nem filogeneticamente (SES = -0.61,  $p = 0.4$ ) mais semelhantes do que o esperado ao acaso.

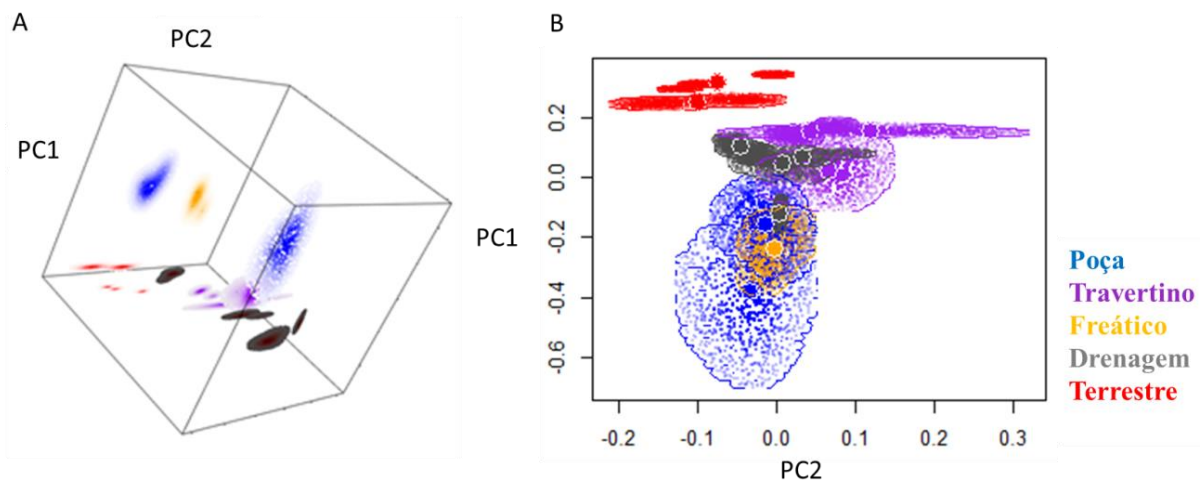


Figura 5. Hipervolume dos atributos funcionais das espécies de Styloniscidae avaliadas, baseado nos dois primeiros eixos da Análise de Coordenada Principal, realizada usando a matriz de dissimilaridade de Gower, cujos pontos foram coloridos baseado no tipo de micro-habitat ocupado. (a) Representação tridimensional do espaço morfológico das espécies avaliadas. (b) Representação bidimensional do espaço morfológico.

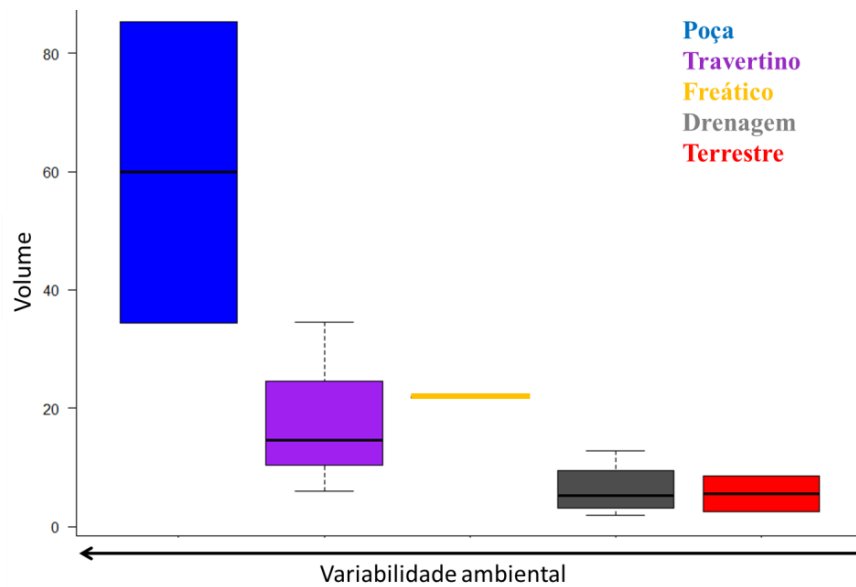


Figura 6. Bloxplots do volume do nicho funcional das espécies de Styloniscidae analisadas. As cores indicam o tipo de micro-habitat, enquanto as barras representam o desvio padrão observado para as espécies associadas a cada um deles.

Tabela 2. Espécies de Styloniscidae analisadas. N representa a quantidade de indivíduos usados nas análises. O hipervolume representa o tamanho estimado do volume tridimensional do espaço funcional das espécies, cujos valores foram multiplicados por 1000, a fim de aumentar a resolução conforme adotado por Mammola et al 2020.

Espécie	N	Hipervolume
Styloniscidae gen. nov. sp.1	5	4.38
<i>Spelunconiscus castroi</i>	4	6.14
<i>Xangoniscus santinhoi</i>	4	1.84
<i>Xangoniscus lundi</i>	4	12.76
<i>Xangoniscus</i> sp1	4	21.86
<i>Xangoniscus</i> sp2	5	34.47
<i>Xangoniscus aganju</i>	5	85.27
<i>Pectenoniscus montalvanensis</i>	4	8.61
<i>Pectenoniscus morrensis</i>	3	2.56
<i>Spelunconiscus</i> sp1	4	6
<i>Spelunconiscus</i> sp2	5	14.61
<i>Spelunconiscus</i> sp3	6	34.56

## Discussão

A filogenia gerada para análise ecológica dividiu o gênero *Xangoniscus* em clados distintos, reforçando a necessidade de uma revisão taxonômica uma vez que essa separação sugere que o táxon não é monofilético, como já hipotetizado por Ferreira & Bastos (comunicação pessoal). Assim, espécies atualmente alocadas neste gênero aparentemente pertencem a gêneros distintos. Ressalta-se que o esclarecimento da filogenia do grupo trará

importantes contribuições não somente à sistemática, mas também à ecologia e evolução. Além disso, os resultados não corroboraram as hipóteses de que os atributos funcionais são selecionados pelo ambiente, ou que a relação filogenética é um fator determinante para ocorrência das espécies de Styloniscidade em um micro-habitat específico. Entretanto, a ação do filtro ambiental no agrupamento fenotípico em diferentes compartimentos cavernícolas já foi descrita (e.g. Tronjeli et al. 2012, Mammola et al. 2020). Em tais trabalhos, que tiveram como modelos anfípodes (Niphargidae - Tronjeli et al. 2012) e aranhas (Linyphiidae - Mammola et al. 2020), foi observado que as espécies presentes em um mesmo micro-habitat são morfologicamente similares, contudo, compartilham o habitat (caverna ou outros habitats subterrâneos correlatos) com outras espécies filogeneticamente próximas (das quais são morfologicamente distintas), porém adaptadas a outros micro-habitats. Via de regra o filtro ambiental promove a similaridade morfológica e a competição a diferenciação (Ingram & Shurim, 2009). Portanto, a alta dispersão funcional identificada no presente estudo, é comumente relacionada a interações bióticas como a competição (Weiher & Keddy, 1995). Entretanto, as espécies usadas no presente estudo ocorrem em cavernas distintas e não fazem parte da mesma comunidade, além de não compartilharem o micro-habitat com outras espécies filogeneticamente próximas (exceto as terrestres). Logo, a alta dispersão não pode ser atribuída à competição (pelo menos, não à competição atual). Contudo, a reduzida intensidade da competição pode favorecer o nicho mais volumoso (Meilhac et al. 2020), como observado para as espécies aquáticas (Fig.5, Tab. 2). Espécies do gênero *Pectenoniscus*, entretanto, compartilham o ambiente com outras espécies de isópodes (não troglóbias), com as quais, muito provavelmente, competem. Logo, esse pode ser um dos motivos do reduzido volume do nicho funcional observado para as espécies desse gênero.

Destaca-se, porém, que os atributos avaliados também podem ser produto da estocasticidade ou de fatores determinísticos, sensíveis às condições iniciais (Weiher & Keddy, 1995). Tanto processos estocásticos quanto determinísticos são capazes de influenciar a estruturação de uma comunidade (Marteinsdóttir et al. 2018). A análise de modelo nulo, por exemplo, não foi capaz de demonstrar que as espécies de mesmo tipo de micro-habitat apresentam maior sobreposição do nicho funcional nem são mais próximas filogeneticamente, indicando, dessa forma, que os atributos funcionais estão sujeitos à estocasticidade.

Além disso, padrões fenotípicos podem ser gerados através da variabilidade ambiental (e.g. Chavarie et al. 2020). As espécies analisadas, por exemplo, apresentam hábito aquático (represas de travertino, poças, níveis freáticos e drenagens) ou terrestre. Aquelas encontradas

em alguns micro-habitats aquáticos estão sujeitas a uma pronunciada sazonalidade do fluxo de água, uma vez que as represas de travertino e poças tornam-se ativas somente durante os períodos de chuva. Logo, quando esses micro-habitats secam, essas espécies precisam se deslocar para outros habitats que sejam favoráveis à sua persistência. A busca por micro-habitats que atendam aos requerimentos biológicos dessas espécies só é possível em função do hábito anfíbio das mesmas, que possibilita o deslocamento até micro-habitats aquáticos ativos. Desta forma, a alta variabilidade ambiental também pode ser a causa do maior volume funcional das espécies aquáticas (Tab. 2 e Fig. 5), gerado pela plasticidade fenotípica, que conceitualmente é a habilidade de um único genótipo expressar diferentes fenótipos em resposta às condições ambientais (West-Eberhard, 1898). A plasticidade fenotípica em um atributo é, portanto, uma vantagem seletiva sob condições ambientais variáveis (Bradshaw, 1965). Isso favorece a persistência e tolerância das espécies às mudanças ambientais ao fornecer mecanismos que possibilitem a sobrevivência em outros micro-habitats, quando o preferencial, temporariamente, deixa de existir. Como exemplo, espécies de *Spelunconiscus* associadas a represas de travertinos, migram para o epicarste em períodos secos, quando as represas secam, retornando à macrocaverna somente na próxima estação chuvosa (Ferreira, obs. pes.). A plasticidade, contudo, também pode ser promovida pela competição intraespecífica (Levis et al. 2020). Considerando o espaço como um importante recurso, as espécies relacionadas à micro-habitats aquáticos possuem menor disponibilidade desse, quando comparadas às espécies terrestres. Logo, a pressão competitiva entre os indivíduos é menor nas espécies terrestres. Contudo, observamos diferentes níveis de plasticidade entre as espécies de distintos micro-habitats aquáticos e a possível explicação para isso pode ser a densidade relativa, maior naqueles habitats cuja área disponível é menor. A competição, portanto, também pode ter favorecido distintos graus de plasticidade entre os micro-habitats e, assim, gerado volumes funcionais diferenciados (Tab.2).

Além disso, a plasticidade relaciona-se à capacidade de manter a homeostase em diferentes ambientes (Tienderen, 1991). Logo, é provável que espécies com maior plasticidade fenotípica apresentem menor gasto energético frente às alterações ambientais, o que é de suma importância em um ambiente oligotrófico e extremo como o cavernícola. Neste sentido, a plasticidade fenotípica pode ter um importante papel na evolução, visto que a seleção pode potencializar respostas fisiológicas em novos ambientes e, assim, permitir a evolução de espécies generalistas (Fraebel et al. 2020).

Segundo Ghalambor e colaboradores (2007), a plasticidade fenotípica pode ser adaptativa com relação ao *fitness* quando: *i*) populações são expostas a ambientes variáveis; *ii*) o ambiente produz pistas confiáveis de alterações; *iii*) a seleção favorece diferentes fenótipos em cada ambiente; *iv*) nenhum fenótipo apresenta superioridade com relação ao *fitness* entre ambientes. Diante disso, é possível que a maior plasticidade fenotípica das espécies aquáticas seja uma característica adaptativa, pois atende às premissas *i* e *ii*, uma vez que os micro-habitats aos quais se associam sofrem variações sazonais, identificáveis pela alteração da umidade e nível de água nos ambientes aquáticos.

Mesmo na ausência de efeitos demográficos, que afetem a quantidade de variação genética de uma população, a plasticidade pode favorecer a evolução (Schaum & Collins, 2014). A própria plasticidade pode ser considerada um atributo e influenciada pela seleção, sendo também um mecanismo fundamental na aclimatação e adaptação de uma espécie a um novo ambiente (Ren et al. 2020), bem como uma das principais forças que modelam o nicho (Turcotte & Levine, 2016). Além disso, pode ser um mecanismo determinante para a colonização do ambiente cavernícola por favorecer a evolução de atributos relacionados ao habitat subterrâneo (troglomorfismos) e possibilitar a evolução adaptativa, via assimilação genética (Bilandžija et al. 2020). Experimentos têm demonstrado que durante a colonização do ambiente cavernícola as espécies podem demonstrar plasticidade fenotípica em atributos morfológicos (McGaugh et al. 2019, Bilandžija et al. 2020), comportamentais (McGaugh et al. 2019), metabólicos (Guillaume et al. 2020) e hormonais (Bilandžija et al. 2020). Essas alterações, muito provavelmente, são os primeiros passos para a evolução de espécies exclusivamente subterrâneas. O papel da plasticidade na especiação pode se dar pela mediação da divergência adaptativa entre populações e espécies, influência na escolha de parceiros e uso do habitat, culminando em isolamento reprodutivo (Pfenning et al. 2010). Segundo Lande (2015), a adaptação a um ambiente extremo frequentemente ocorre por meio de um rápido aumento na plasticidade, seguido por uma assimilação genética lenta, que culmina na redução da plasticidade. Corroborando essa afirmação Wessel et al. (2013) identificaram uma redução da plasticidade em cigarrinhas troglóbias, com o aumento da idade da caverna e consequentemente da colonização dessa. Logo, o questionamento que surge a partir desses resultados é: qual o motivo da manutenção da maior plasticidade fenotípica, em resposta aos micro-habitats mais variáveis? Uma vez que essas espécies são troglóbias e, portanto, evoluíram sob condições cavernícolas.

Em suma, nossos dados demonstram que micro-habitats semelhantes não foram capazes de agrupar as espécies analisadas nem fenotípica nem filogeneticamente, uma vez que elas expressaram diferentes atributos sob condições subterrâneas. Isso, por sua vez, conferiu às espécies nichos completamente distintos, cujo volume funcional foi diretamente proporcional à variabilidade ambiental. No entanto, destaca-se que a importância dessas peculiaridades na estruturação da comunidade subterrânea, bem como na evolução cavernícola certamente merece maiores investigações, tendo em vista a potencial aplicação em planos de conservação e manejo dessas espécies, tão severamente ameaçadas.

### Agradecimentos

À Giovanna Monticelli, cuja ajuda foi fundamental para a construção da matriz de caracteres. V.M.M. agradece à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa concedida, que propiciou dedicação ao doutorado - Código de Financiamento 001. R.L.F. agradece ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), nº308334/2018.

### Referências

- Ackerly, D.D. (2000). Taxon sampling, correlated evolution, and independent contrasts. *Evolution* 54:1480–92.
- Bastos-Pereira, R., Souza, L.A. & Ferreira, R.L. (2017). A new amphibious troglobitic styloniscid from Brazil (Isopoda, Oniscidea, Synocheta). *Zootaxa*, 4294 (2), 292-300.
- Bilandžija, H., Hollifield, B., Steck, M., Meng, G., Ng, M., Koch, A. D., ... & Jeffery, W. (2020). Phenotypic plasticity as a mechanism of cave colonization and adaptation. *Elife*, 9, e51830.
- Blonder, B., Lamanna, C., Violle, C., & Enquist, B. J. (2014). The n-dimensional hypervolume. *Global Ecology and Biogeography*, 23, 595–609. <https://doi.org/10.1111/geb.12146>
- Blonder, B., Morrow, C. B., Maitner, B., Harris, D. J., Lamanna, C., Violle, C., ... Kerkhoff, A. J. (2018). New approaches for delineating n-dimensional hypervolumes. *Methods in Ecology and Evolution*, 9, 305–319. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12865>
- Bradshaw, A. D. (1965). Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. In *Advances in genetics* (Vol. 13, pp. 115-155). Academic Press.
- Broly, P., Devigne, C., Deneubourg, J.L. (2015) Body shape in terrestrial isopods: A morphological mechanism to resist desiccation? *Journal of Morphology* 276(11): 1283–1289.
- Campos-Filho, I.S., Araujo, P.B., Bichuette, M.E., Trajano, E. & Taiti, S. (2014). Terrestrial isopods (Crustacea: Isopoda: Oniscidea) from Brazilian caves. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 172(2), 360-425.
- Campos-Filho, I.S., Bichuette, M.E. & Taiti, S. (2016) Three new species of terrestrial isopods (Crustacea, Isopoda, Oniscidea) from Brazilian caves. *Nauplius*, 24, e2016001.

- Campos-Filho, I.S., Bichuette, M.E. & Taiti, S. (2016). Three new species of terrestrial isopods (Crustacea, Isopoda, Oniscidea) from Brazilian caves. *Nauplius*, 24, e2016001.
- Cardoso, G. M., Bastos-Pereira, R., Souza, L. A., & Ferreira, R. L. (2020a). New troglobitic species of *Xangoniscus* (Isopoda: Styloniscidae) from Brazil, with notes on their habitats and threats. *Zootaxa*, 4819(1).
- Cardoso, G. M., Bastos-Pereira, R., Souza, L. A., & Ferreira, R. L. (2020b). New cave species of *Pectenoniscus* Andersson, 1960 (Isopoda: Oniscidea: Styloniscidae) and an identification key for the genus. *Nauplius*, 28.
- Cardoso, P. (2012). Diversity and community assembly patterns of epigeal vs. troglóbiont spiders in the Iberian Peninsula. *International Journal of Speleology*, 41(1), 9.
- Cavender-Bares, J., Kozak, K. H., Fine, P. V., & Kembel, S. W. (2009). The merging of community ecology and phylogenetic biology. *Ecology letters*, 12(7), 693-715.
- Chavarie, L., Voelker, S., Hansen, M. J., Bronte, C. R., Muir, A. M., Zimmerman, M. S., & Krueger, C. C. (2020). Temporal instability of lake charr phenotypes: Synchronicity of growth rates and morphology linked to environmental variables?. *Evolutionary Applications*, 14(4), 1159-1177.
- Christiansen, K. 2012. Morphological adaptations. Pp. 517–528 in D. C. Culver, and W. B. White, eds. *Encyclopedia of caves*, 2nd ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam.
- Culver, D. C., & Pipan, T. (2009). *The biology of caves and other subterranean habitats*. OUP Oxford.
- Culver, D. C., Holsinger, J. R., Christman, M. C., & Pipan, T. (2010). Morphological differences among eyeless amphipods in the genus *Stygobromus* dwelling in different subterranean habitats. *Journal of Crustacean Biology*, 30(1), 68-74.
- Donohue, K. (2005). Niche construction through phenological plasticity: life history dynamics and ecological consequences. *New Phytologist*, 166(1), 83-92.
- Duong, T., & Hazelton, M. L. (2005). Cross-validation bandwidth matrices for multivariate kernel density estimation. *Scandinavian Journal of Statistics*, 32, 485–506. <https://doi.org/10.1111/j.1467-9469.2005.00445.x>
- Farjalla, V. F., Srivastava, D. S., Marino, N. A., Azevedo, F. D., Dib, V., Lopes, P. M., ... & Esteves, F. A. (2012). Ecological determinism increases with organism size. *Ecology*, 93(7), 1752-1759.
- Fraebel, D. T., Gowda, K., Mani, M., & Kuehn, S. (2020). Evolution of generalists by phenotypic plasticity. *Iscience*, 23(11), 101678.
- Ghalambor, C. K., McKay, J. K., Carroll, S. P., & Reznick, D. N. (2007). Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional ecology*, 21(3), 394-407.
- Gibert, J., & Deharveng, L. (2002). Subterranean Ecosystems: A Truncated Functional Biodiversity: This article emphasizes the truncated nature of subterranean biodiversity at both the bottom (no primary producers) and the top (very few strict predators) of food webs and discusses the implications of this truncation both from functional and evolutionary perspectives. *BioScience*, 52(6), 473-481.
- Goloboff, P. A., & Catalano, S. A. (2016). TNT version 1.5, including a full implementation of phylogenetic morphometrics. *Cladistics*, 32(3), 221-238.
- Goloboff, P. A., Carpenter, J. M., Arias, J. S., & Esquivel, D. R. M. (2008). Weighting against homoplasy improves phylogenetic analysis of morphological data sets. *Cladistics*, 24(5), 758-773.
- Goloboff, P.A. (1999). Analyzing large data sets in reasonable times: solutions for composite optima. *Cladistics* 15, 415-428.



- Gower, J. C. (1971). A general coefficient of similarity and some of its properties. *Biometrics*, 27, 857–871. <https://doi.org/10.2307/2528823>
- Guillaume, O., Deluen, M., Raffard, A., Calvez, O., & Trochet, A. (2020). Reduction in the metabolic levels due to phenotypic plasticity in the Pyrenean newt, *Calotriton asper*, during cave colonization. *Ecology and evolution*, 10(23), 12983-12989.
- Hardy, O. J. (2008). Testing the spatial phylogenetic structure of local communities: statistical performances of different null models and test statistics on a locally neutral community. *Journal of ecology*, 96(5), 914-926.
- Hirai, Y., Mayama, H., Matsuo, Y., & Shimomura, M. (2017). Uphill water transport on a wettability-patterned surface: experimental and theoretical results. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9(18), 15814-15821.
- Holdich, D. M., & Lincoln, R. J. (1974). An investigation of the surface of the cuticle and associated sensory structures of the terrestrial isopod, *Porcellio scaber*. *Journal of Zoology*, 172(4), 469-482.
- Ingram, T., & Shurin, J.B. Trait-based assembly and phylogenetic structure in northeast Pacific rockfish assemblages. *Ecology*. 2009; 90: 2444–2453. PMID: 19769123
- Jung, V., Violle, C., Mondy, C., Hoffmann, L., & Muller, S. (2010). Intraspecific variability and trait-based community assembly. *Journal of ecology*, 98(5), 1134-1140.
- Keddy, P. A. (1992). Assembly and response rules: two goals for predictive community ecology. *Journal of vegetation science*, 3(2), 157-164.
- Kozak, K. H., R. W. Mendyk, and J. J. Wiens. 2009. Can parallel diversification occur in sympatry? Repeated patterns of body-size evolution in coexisting clades of North American salamanders. *Evolution*, 63:1769– 1784.
- Kraft, N. J., Adler, P. B., Godoy, O., James, E. C., Fuller, S., & Levine, J. M. (2015). Community assembly, coexistence and the environmental filtering metaphor. *Functional ecology*, 29(5), 592-599.
- Lande, R. (2015). Evolution of phenotypic plasticity in colonizing species. *Molecular ecology*, 24(9), 2038-2045.
- Lefebvre, F., Limousin, M., & Caubet, Y. (2000). Sexual dimorphism in the antennae of terrestrial isopods: a result of male contests or scramble competition? *Canadian Journal of Zoology*, 78(11), 1987-1993.
- Leibold MA. 1998. Similarity and local coexistence of species in regional biotas. *Evol. Ecol.* 12:95–110.
- Levis, N. A., Fuller, C. G., & Pfennig, D. W. (2020). An experimental investigation of how intraspecific competition and phenotypic plasticity can promote the evolution of novel, complex phenotypes. *Biological Journal of the Linnean Society*, 131(1), 76-87.
- Maddison, W. P. & Maddison, D.R. (2018) Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.6 <http://mesquiteproject.org>.
- Mammola, S., Arnedo, M. A., Fišer, C., Cardoso, P., Dejanaz, A. J., & Isaia, M. (2020). Environmental filtering and convergent evolution determine the ecological specialization of subterranean spiders. *Functional Ecology*, 34(5), 1064–1077. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13527>
- Marteinsdóttir, B., Svavarsdóttir, K., & Thórhallsdóttir, T. E. (2018). Multiple mechanisms of early plant community assembly with stochasticity driving the process. *Ecology*, 99(1), 91-102.
- McGaugh, S. E., Weaver, S., Gilbertson, E. N., Garrett, B., Rudeen, M. L., Grieb, S., ... & Gluesenkamp, A. G. (2019). Evidence for rapid phenotypic and behavioural shifts in a recently established cavefish population. *Biological Journal of the Linnean Society*, 129(1), 143-161.

- Meilhac, J., Deschamps, L., Maire, V., Flajoulot, S., & Litrico, I. (2020). Both selection and plasticity drive niche differentiation in experimental grasslands. *Nature plants*, 6(1), 28-33.
- Miles, D. B., & Ricklefs, R. E. (1984). The correlation between ecology and morphology in deciduous forest passerine birds. *Ecology*, 65(5), 1629-1640.
- Nixon, K.C. (1999). The parsimony Ratchet, a new method for rapid parsimony analysis. *Cladistics*, 15, 407-414.
- Peacor, S. D., & Werner, E. E. (2001). The contribution of trait-mediated indirect effects to the net effects of a predator. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(7), 3904-3908.
- Pigot, A. L., Sheard, C., Miller, E. T., Bregman, T. P., Freeman, B. G., Roll, U., ... & Tobias, J. A. (2020). Macroevolutionary convergence connects morphological form to ecological function in birds. *Nature Ecology & Evolution*, 4(2), 230-239.
- Pigot, A. L., Trisos, C. H., & Tobias, J. A. (2016). Functional traits reveal the expansion and packing of ecological niche space underlying an elevational diversity gradient in passerine birds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1822), 20152013.
- Pipan, T., & Culver, D. C. (2012). Convergence and divergence in the subterranean realm: a reassessment. *Biological journal of the Linnean Society*, 107(1), 1-14.
- R Core Team, 2019. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Rabelo, L. M., Souza-Silva, M., & Lopes Ferreira, R. (2021). Epigeal and hypogean drivers of Neotropical subterranean communities. *Journal of Biogeography*, 48(3), 662-675.
- Ren, L., Guo, X., Liu, S., Yu, T., Guo, W., Wang, R., ... & Eller, F. (2020). Intraspecific variation in *Phragmites australis*: Clinal adaptation of functional traits and phenotypic plasticity vary with latitude of origin. *Journal of Ecology*, 108(6), 2531-2543.
- Ricklefs, R. E., & Travis, J. (1980). A morphological approach to the study of avian community organization. *The Auk*, 97(2), 321-338.
- Schaum, C. E., & Collins, S. (2014). Plasticity predicts evolution in a marine alga. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1793), 20141486.
- Schmalzfuss H. Eco-morphological strategies in terrestrial isopods. In: Sutton SL, Holdich DM, editors. Symposia of the Zoological Society of London. Cambridge: Cambridge University Press. 1984. pp. 49-63.
- Schmalzfuss, H. (2003). World catalog of terrestrial isopods (Isopoda: Oniscidea). *Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde*.
- Souza, L. A., Ferreira, R. L., & Senna, A. R. (2015). Amphibious shelter-builder Oniscidea species from the New World with description of a new subfamily, a new genus and a new species from Brazilian Cave (Isopoda, Synocheta, Styloniscidae). *PloS one*, 10(5), e0115021.
- Stevens, R.D., & Willig, M.R. (2000). Community structure, abundance, and morphology. *Oikos* 88:48-56.
- Taiti, S. Crustacea: Isopoda: Oniscidea (woodlice). (2003). In: Gunn J, editor. Encyclopedia of Caves and Karst Science. London: Taylor and Francis Group. pp. 547-550.
- Trajano, E. Evolution of lineages. (2005) In: Culver, D. C., & White, W. B. (Eds.). *Encyclopedia of caves* (pp. 230-234). Amsterdam: Elsevier
- Trontelj, P., Blejcek, A., & Fišer, C. (2012). Ecomorphological convergence of cave communities. *Evolution: International Journal of Organic Evolution*, 66(12), 3852-3865.
- Turcotte, M. M., & Levine, J. M. (2016). Phenotypic plasticity and species coexistence. *Trends in Ecology & Evolution*, 31(10), 803-813.

- Violle, C., Navas, M. L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I., & Garnier, E. (2007). Let the concept of trait be functional!. *Oikos*, *116*(5), 882-892.
- Webb, C. O., Ackerly, D. D., McPeck, M. A., & Donoghue, M. J. (2002). Phylogenies and community ecology. *Annual review of ecology and systematics*, *33*(1), 475-505.
- Weiher, E., & Keddy, P. A. (1995). Assembly rules, null models, and trait dispersion: new questions from old patterns. *Oikos*, 159-164.
- Wessel, A., Hoch, H., Asche, M., von Rintelen, T., Stelbrink, B., Heck, V., ... & Howarth, F. G. (2013). Founder effects initiated rapid species radiation in Hawaiian cave planthoppers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(23), 9391-9396.
- West-Eberhard, M. J. (1989). Phenotypic plasticity and the origins of diversity. *Annual review of Ecology and Systematics*, *20*(1), 249-278.
- Wiens, J. J., Ackerly, D. D., Allen, A. P., Anacker, B. L., Buckley, L. B., Cornell, H. V., ... & Stephens, P. R. (2010). Niche conservatism as an emerging principle in ecology and conservation biology. *Ecology letters*, *13*(10), 1310-1324.

## Material suplementar 1

Lista dos caracteres e os respectivos estados usados na construção da matriz de caracteres de espécies de Styloniscidae usadas:

- 1- Linha corporal
  - 0: contínua
  - 1: descontínua, pleon mais estreito
  
- 2- Tegumento, superfície dorsal:
  - 0: liso
  - 1: com tubérculos
- 3-Pereon, formato epímeros:
  - 0: côncavo
  - 1: convexo
  
- 4- Neopleura, pleonitos 3 a 5:
  - 0: não desenvolvida
  - 1: desenvolvida
  
- 5- Cefalotórax, tamanho lobos antenais:
  - 0: pequenos
  - 1: desenvolvidos
  
- 6- Cefalotorax, sulcos transversais, vertex:
  - 0: ausente
  - 1: presente
  
- 7- Antênula, disposição estetáscos:
  - 0: somente apicais
  - 1: apicais e laterais
  
- 8- Antena, comprimento flagelo, relativo ao 5º artículo do pedúnculo:
  - 0: menor
  - 1: subigual
  - 2: maior
  
- 9- Antena, número artículos flagelo:
  - 1: 3
  - 2: 4
  - 3: 5
  - 4: 6
  - 5: 7 ou mais
  
- 10- Pereópodo 1, comprimento carpo relativo ao própodo:
  - 0: maior
  - 1: subigual
  - 2: menor

11-Pereopodo 7 (M), ísquio esporão:

- 0: ausente
- 1: presente

12- Pereopodo 7, comprimento carpo relativo ao própodo:

- 0: menor
- 1: subigual

13: Pleópodo 1, comprimento endópodo (M) relativo ao exópodo:

- 0: menor
- 1: subigual
- 2: maior

14- Pleópodo 1, exópodo (M), margem lateral externa:

- 0: reta
- 1: sinuosa

15- Pleópodo 2, comprimento endópodo (M), relativo ao exópodo:

- 0: menor
- 1: subigual
- 2: maior

186- Pleópodo 2, base do endópodo (M), largura da porção distal relativo à base:

- 0: menor
- 1: subigual
- 2: maior

17- Pleópodo, exópodo 2 (M), forma:

- 0: triangular
- 1: subtriangular
- 2: retangular
- 3: trapezoidal
- 4: semicircular

18-Pleópodo, endópodo 2 (M), disposição da porção distal:

- 0: reta
- 1: retorcida

19: Urópodo, comprimento exópodo relativo ao endópodo:

- 0: menor
- 1: subigual
- 2: maior

20: Urópodo, proporção entre exópodo protópodo:

- 0: Exópodo até duas vezes mais longo
- 1: Exópodo mais que duas vezes mais longo

21: Tamanho corporal:

- 0: menor que 4 mm
- 1: de 4 a 9 mm

2: maior que 9 mm

22: Antênula, proporção do comprimento do artículo proximal com relação ao distal:

0: menor

1: subigual

2: maior

23- Maxilípodo, margem distal da base:

0: rebaixada

1: reta

Tabela 1. Matriz de caracteres das espécies usadas nas análises filogenéticas.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
<i>Iuiuniscus iuiuensis</i>	0	0	0	1	0	1	1	2	5	1	0	1	2	0	0	0	0	0	2	1	2	1	0
<i>Pectenoniscus montalvaniensis</i>	1	1	1	0	0	0	1	2	1	2	0	0	2	0	2	0	1	0	2	0	0	0	0
<i>Pectenoniscus morrensis</i>	1	1	1	0	0	0	1	2	1	1	0	0	2	0	2	2	1	1	2	0	0	0	0
<i>Xangoniscus aganju</i>	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	1	3	1	2	1	1	1	1
<i>Xangoniscus santinhoi</i>	1	0	1	0	0	1	0	1	4	1	0	0	2	0	0	0	1	1	1	0	1	2	1
<i>Xangoniscus lundi</i>	1	0	1	0	0	1	0	1	2	1	0	0	2	0	0	2	1	1	1	0	1	2	1
Xangoniscus (Santana)	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	2	1	0	0	3	1	2	0	2	1	0
Xangoniscus (PEA445)	1	0	1	0	1	1	0	2	5	0	0	0	2	0	1	2	1	1	1	1	2	2	0
<i>Chaimoviczia santana</i>	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	4	0	1	1	1	2	1
Gen_novo_Pingueira	1	0	1	0	0	1	1	0	2	2	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	1	1	0
<i>Spelunconiscus castroi</i>	1	0	1	0	0	1	1	2	4	2	1	0	0	1	2	0	3	0	1	0	1	2	1
<i>Spelunconiscus brega</i>	1	0	1	0	0	1	0	2	5	1	1	0	0	1	2	0	3	0	0	1	2	1	0
<i>Spelunconiscus apatuia</i>	1	0	1	0	0	1	0	0	3	0	1	0	0	1	2	0	3	0	2	0	1	1	0
<i>Spelunconiscus atiaia</i>	1	0	1	0	0	1	1	0	3	2	1	1	0	1	2	0	2	0	2	1	1	1	0

## Material suplementar 2

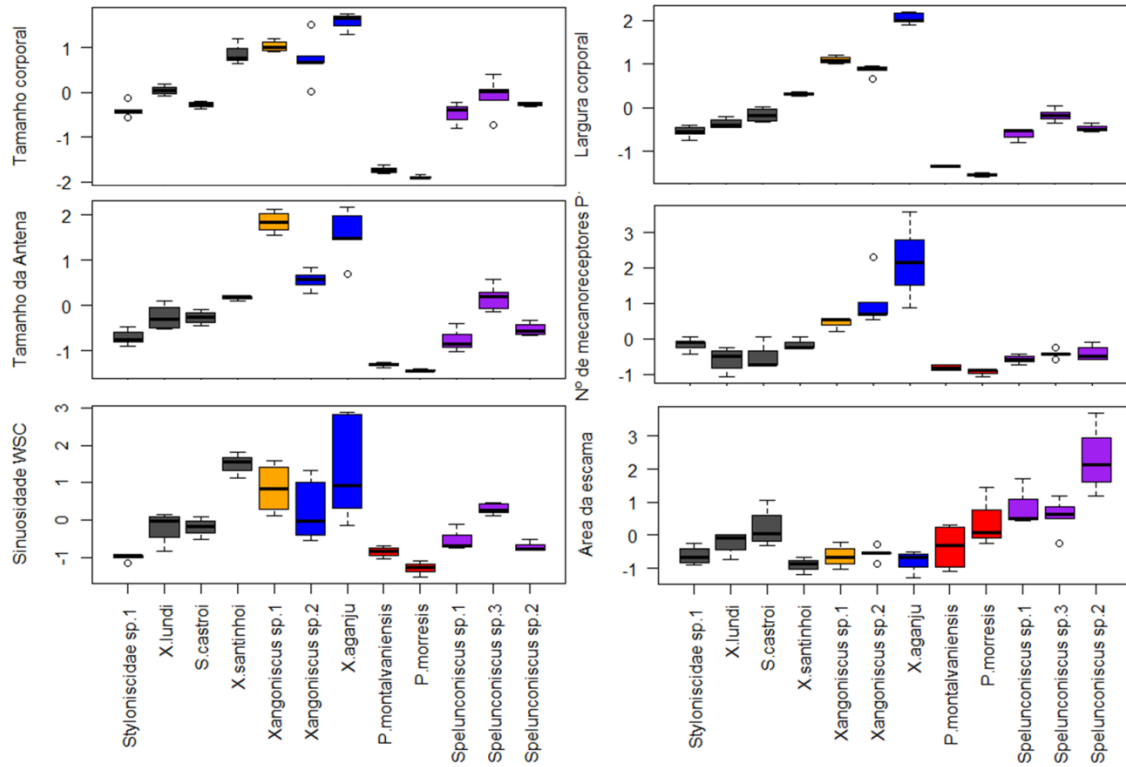


Figura 2. Bloxplots da variação dos atributos morfológicos. As espécies estão coloridas de acordo com o micro-habitat ocupado, nos quais as espécies em cinza ocorrem em drenagem, laranja: freático, azul: poça, vermelho: terrestre e roxo: represa de travertino.

**Artigo 3- Escolhendo um lar na escuridão:** características do habitat que determinam a abundância de isópodes troglóbios na região Neotropical

Artigo redigido sob as normas do periódico *Subterranean Biology*, ISSN 1314-2615 (versão preliminar).



## **Escolhendo um lar na escuridão:** características do habitat que determinam a abundância de isópodes troglóbios na região Neotropical

Vanessa Mendes Martins<sup>1</sup>, Rodrigo Lopes Ferreira<sup>1</sup>

1. Centro de Estudo em Biologia Subterrânea, Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ecologia e Conservação, Universidade Federal de Lavras, Campus Universitário, 3037, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil.

### **Resumo**

Os isópodes da subordem Oniscidea colonizaram os sistemas terrestres a partir de ambientes marinhos, cuja atual distribuição é influenciada, prioritariamente, pela temperatura e umidade. A colonização de habitats subterrâneos por tais organismos foi, portanto, favorecida pela dependência da umidade. Desta forma, esse grupo possui diversos representantes troglóbios, dentre eles as espécies pertencentes ao gênero *Spelunconiscus* (Styloniscidae). As preferências ambientais das espécies desse gênero ainda são desconhecidas, logo, o presente estudo teve por objetivo identificar quais variáveis de habitat influenciam a abundância das espécies de *Spelunconiscus*, bem como identificar se essas espécies apresentam sobreposição de nicho. Para tal, contabilizamos a abundância desses organismos e avaliamos variáveis hidroquímicas e de habitat físico, em cinco cavernas da província espeleológica de Pains (Minas Gerais). Nossos resultados mostraram que o oxigênio dissolvido e a distância da fonte de recarga das represas de travertinos (micro-habitats dessas espécies) influenciaram, respectivamente, positiva e negativamente a abundância. Além disso, não identificamos a sobreposição de nicho em nenhuma das espécies avaliadas. Embora os resultados tenham sido em parte limitados pelo número reduzido de amostras (as espécies são raras) os mesmos indicam que as espécies de *Spelunconiscus* ocorrem, prioritariamente, no epicarste, sendo portanto, susceptíveis às alterações epígeas em função da relação direta entre o epicarste e o solo adjacente.

**Palavras chaves:** nicho, Styloniscidae, habitat físico, troglóbios, represas de travertino.

## Introdução

Isópodes terrestres (Oniscidea) compreendem uma das linhagens mais notáveis de invertebrados que invadiram o ambiente terrestre. A peculiaridade desse grupo encontra-se no fato dos representantes modernos serem reflexo direto da evolução do ambiente marinho para o terrestre (Sfenthourakis & Taiti 2015), cuja ocupação se deu por meio de adaptações únicas como o sistema condutor de água, estrutura responsável pela oxigenação e eliminação de excretas (Hornung 2011). Além disso, os Oniscideas estão entre os taxa mais comuns e ricos em espécies cavernícolas, dentre as quais muitas são troglóbias – estritamente subterrâneas (Sfenthourakis & Taiti 2015).

De maneira geral, as condições que mais influenciam a distribuição dos isópodes são a umidade e a temperatura (Sfenthourakis & Hornung 2018). A abundância, por sua vez, é especialmente influenciada pelas condições microclimáticas (Wardle 2002). Além disso, estes organismos são frequentemente afetados por características físico-químicas do solo, como o pH e o teor de carbonato, que muitas vezes, são fatores limitantes para esses organismos (Zimmer et al. 2000). Essas condições compõem dimensões ecológicas para essas espécies e, portanto, compreender sua influência permite identificar como alterações ambientais afetam esses organismos, considerando que o nicho é um conjunto de condições bióticas e abióticas em que uma espécie é capaz de sobreviver e manter população estável (Hutchinson 1957).

Diante da escassez de informações ecológicas sobre espécies troglóbias, especialmente aquelas presentes nos trópicos, se faz necessário aumentar o conhecimento sobre aspectos ligados a suas histórias de vida, uma vez que muitas se encontram sob forte ameaça antrópica. Além disso, destaca-se que mesmo sob esse cenário, muitas espécies ainda são desconhecidas pela ciência. O gênero *Spelunconiscus* (Campos-Filho et al. 2014), por exemplo, apresenta, até o momento, apenas uma espécie formalmente descrita (*Spelunconiscus castroi*). Contudo, a província espeleológica de Arcos-Pains-Dorresópolis, no sudeste do Brasil, compreende uma região com elevada riqueza desse gênero, visto que possui pelo menos 17 espécies, ainda em descrição. Essa região, portanto, concentra o maior número de isópodes troglóbios de um mesmo gênero no Brasil. Quando se considera o tamanho da área e os impactos impostos a região é imprescindível esforço para a conservação dessas espécies. Diante disso, compreender os fatores que influenciam a ocorrência, a distribuição e a abundância são de suma importância para entender a biologia e ecologia desses organismos, especialmente quando se considera a restrita área de vida e que, muito provavelmente, reflete na largura do nicho. Mesmo diante da importância evolutiva e ecológica de espécies de isópodes cavernícolas, o conhecimento sobre

a ecologia desse táxon ainda é restrito a poucas espécies do clima temperado. Isso se deve principalmente ao fato de, até recentemente, serem reduzidos os registros de troglóbios nas regiões tropicais (Taiti 2003).

Diante disso, os objetivos do presente estudo foram: *i*) identificar quais variáveis ambientais influenciam a abundância das espécies de *Spelunconiscus* e *ii*) verificar se há sobreposição potencial do nicho ambiental entre as espécies analisadas, a fim de testar a hipótese de que exclusão competitiva favoreceu o isolamento de populações e a especiação. Caso a exclusão competitiva tenha sido o processo chave para a especiação, espera-se que haja alta sobreposição do nicho entre as espécies.

## **Materiais e métodos**

### *Área de estudo*

Amostramos 5 cavernas (Brega, Escorpião, Retiro II, Fazenda Amargoso e Santuário) localizadas na cidade de Pains (Minas Gerais) (Fig. 1). Esse município faz parte da província espeleológica de Arcos-Pains-Doresópolis, que compreende a maior concentração conhecida de cavernas para a América do Sul, com mais de 2500 cavernas registradas (CECAV 2021). Em decorrência do grande número de cavidades, a região possui alta diversidade de troglóbios. No entanto, tais espécies, bem como as cavernas, estão sob forte pressão antrópica, tendo em vista que a mineração é uma importante atividade econômica do município desde 1960, quando foram implantadas as primeiras indústrias de calcinação na região (Silva 2017).

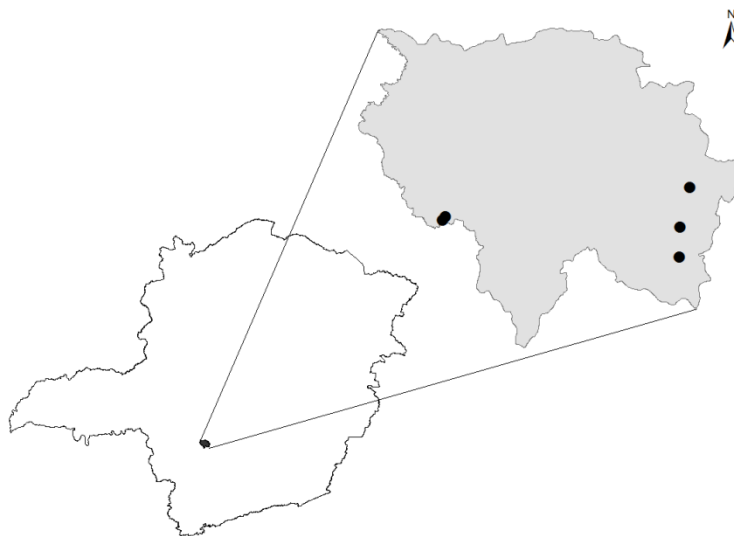


Fig. 1. Localização do município de Pains em Minas Gerais, cujos pontos representam as cavernas amostradas.

### *Amostragem dos Parâmetros ambientais*

Embora a região amostrada compreenda 17 espécies de *Spelunconiscus*, o presente estudo avaliou cinco espécies (Fig.2), visto que em algumas cavernas houve registro de espécimes em apenas uma represa de travertino, impossibilitando a análise estatística.

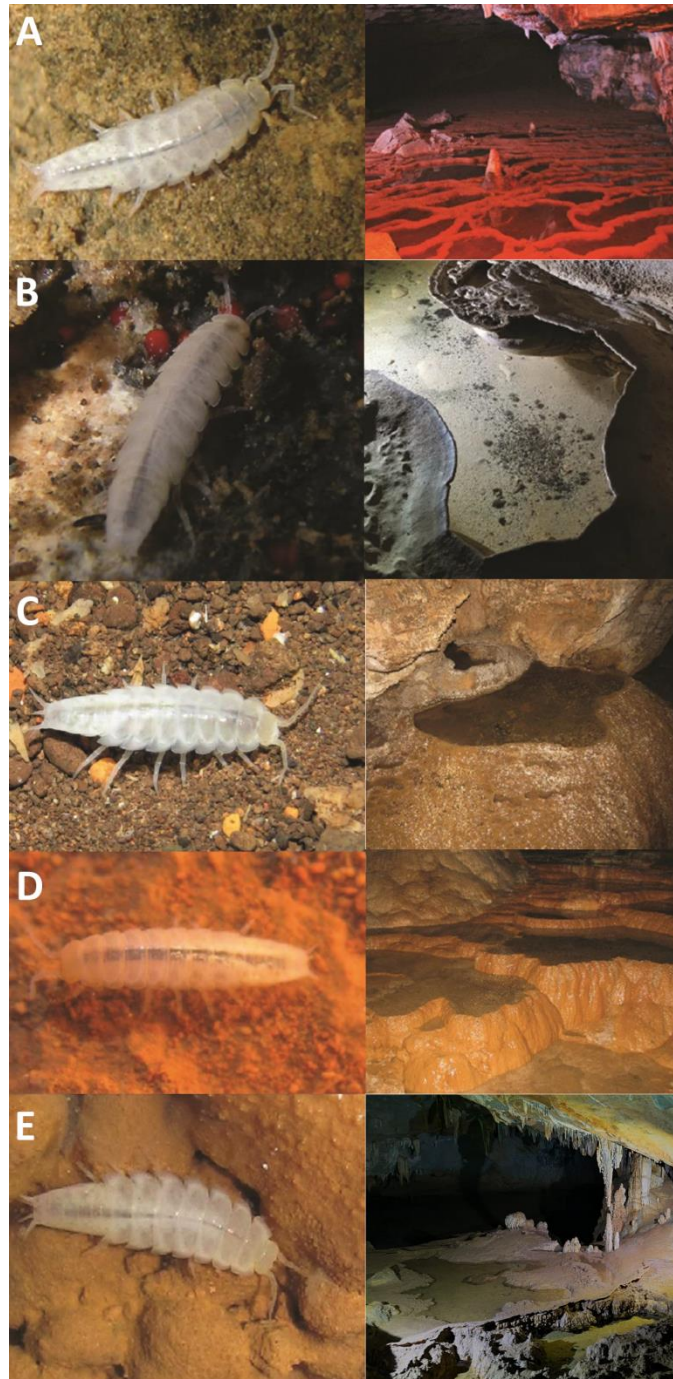


Figura 2. Espécies de *Spelunconiscus* e micro-habitat em que ocorrem. A) *Spelunconiscus* sp.1 restrito à caverna Brega. B) *Spelunconiscus* sp.2 de ocorrência restrita à caverna Escorpião. C) *Spelunconiscus* sp.3 endêmico da caverna Retiro II. D) *Spelunconiscus* sp.4 restrito à caverna Fazenda Amargoso. E) *Spelunconiscus* sp.5 endêmico da caverna Santuário.

A amostragem se deu nos períodos de chuva dos anos de 2019, 2020 e 2021 (janeiro e fevereiro), uma vez que as poças e represas de travertino ficam ativas, prioritariamente, nessa estação e no restante do ano dificilmente esses organismos são encontrados. Avaliamos os parâmetros químicos da água das represas de travertino por meio de uma sonda multiparâmetro (Akso 88), com a qual medimos pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido e temperatura (Fig. 3C). Além disso, medimos a maior largura de cada represa e, ao longo dessa, fizemos cinco medidas equidistantes, nas quais mensuramos a profundidade da água e do substrato submerso e avaliamos, visualmente, a granulometria do sedimento, seguindo o protocolo estabelecido por Peck et al. (2006). Quantificamos, visualmente, a matéria orgânica, bem como medimos a distância de cada represa de travertino à fonte de recarga (local de origem da água no interior da caverna que abastecia as represas) e estabelecemos o tipo de abastecimento do mesmo (gotejamento ou escoamento). Por fim, contabilizamos a abundância de indivíduos de *Spelunconiscus* em cada represa de travertino.

#### *Análises de dados*

A fim de identificarmos quais variáveis explicam a abundância das espécies, construímos um Modelo Linear Generalizado Misto (GLMM). A abundância foi usada como variável resposta e o pH, condutividade, oxigênio dissolvido, temperatura, distância da recarga, profundidade, tamanho do substrato, profundidade do substrato submerso e matéria orgânica foram utilizadas como variáveis fixas e a caverna como efeito aleatório. A fim de otimizarmos a identificação do melhor modelo, usamos a função dredge do pacote MuMin. Com o auxílio do pacote estatístico lme4 e da função glmer geramos o GLMM. Excluimos as variáveis preditoras que não contribuíram significativamente com o modelo, cujo diagnóstico do ajuste foi realizado através da função da *simulateResiduals* do pacote estatístico DHARMA (Material suplementar 1). Considerando a natureza dos dados, usamos a distribuição binomial negativa com a função de ligação logarítmica, haja vista que o modelo com distribuição Poisson não se ajustou aos dados.

Usamos a Análise de Coordenadas Principais (PcoA), por meio da matriz de similaridade Euclidiana, gerada pelo pacote Mvar.pt para visualizarmos a variação ambiental entre cavidades analisadas. Para testarmos a sobreposição do nicho ambiental entre as espécies, realizamos a análise *Dynamic range boxes* implementada pelo pacote *dynRB*, um método não paramétrico robusto que calcula o tamanho e sobreposição do hipervolume n-dimensional, cuja vantagem encontra-se no fato de que não há necessidade de conhecer a distribuição dos dados,

além de não ser afetada por *outliers* (Junker et al. 2016). Todas as análises foram realizadas no software R 4.0.4 (R Development Core Team 2021).

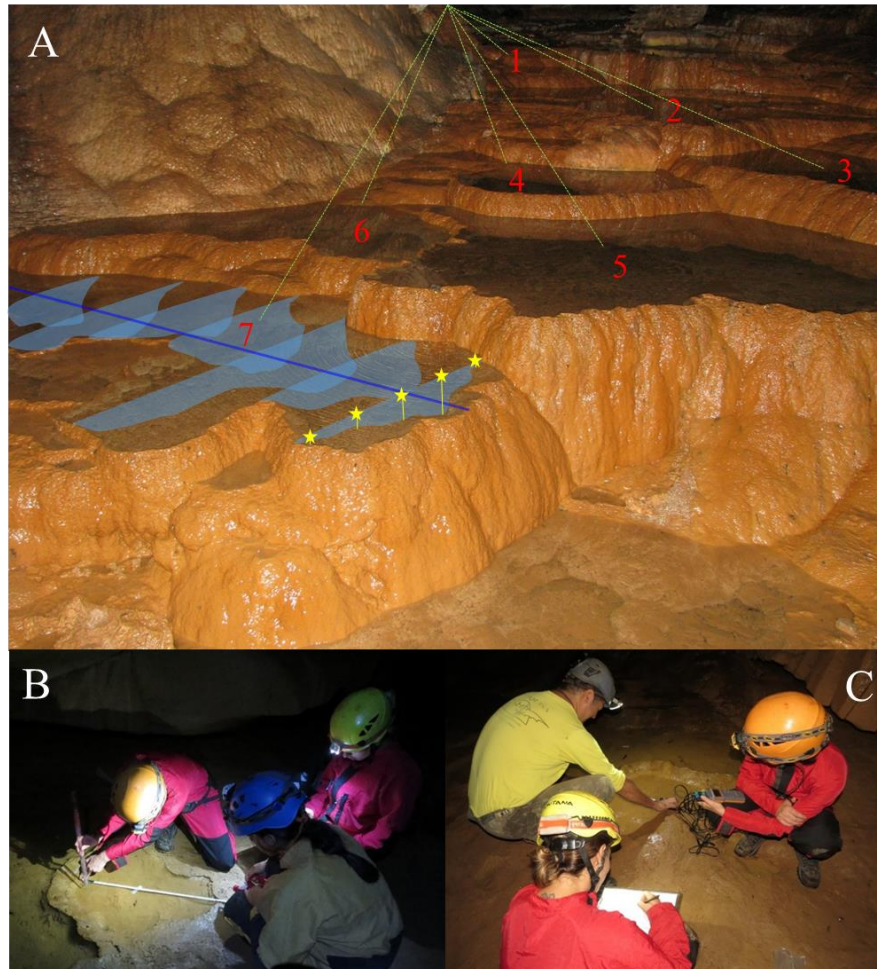


Figura 3. Metodologia de amostragem de dados bióticos e abióticos. A) Esquema metodológico das medições nas represas de travertino (representado pelos numerais), cuja linha azul representa a largura máxima sob a qual estabelecemos 5 pontos equidistantes (estrelas) para a coleta de dados físicos. B) Medição da largura máxima e profundidade da represa de travertino. C) Coleta de parâmetros hidroquímicos por meio de sonda multiparâmetro.

## Resultados

Avaliamos um total de 41 represas de travertinos nas cinco cavernas estudadas, nas quais foram contabilizados 156 indivíduos de *Spelunconiscus* sp. de cinco espécies. Por meio do GLMM, verificamos que o modelo que melhor explica a abundância de *Spelunconiscus* é composto pelas variáveis: oxigênio dissolvido e distância da recarga, cuja resposta da abundância é, respectivamente, positiva e negativamente influenciada por esses parâmetros (Tab. 1).

Através da PCoA visualizamos a similaridade entre as cavernas analisadas, cujo primeiro e segundo eixo explicaram, respectivamente, 32% e 18% da variação dos dados (Fig. 3). É possível verificar que as represas de travertino apresentam evidente variação nos parâmetros medidos e, portanto, não houve formação de grupos no que tange à similaridade dos parâmetros. A análise *Dynamic range boxes* não demonstrou sobreposição potencial de nicho entre as espécies de *Spelunconiscus*.

Tabela 1. Resultados do GLMM, com melhor ajuste, que descreve a relação das variáveis preditoras e a abundância de *Spelunconiscus* sp em represas de travertino das cavernas analisadas.

Variável preditora	$\beta$		Valor de z	Valor de p
	Estimado	S.E		
(Intercept)	0.8025	0.586	1.369	0.170847
Distância da recarga	-3.5807	1.0818	-3.31	0.000933
Oxigênio dissolvido	1.0848	0.4923	2.203	0.027563

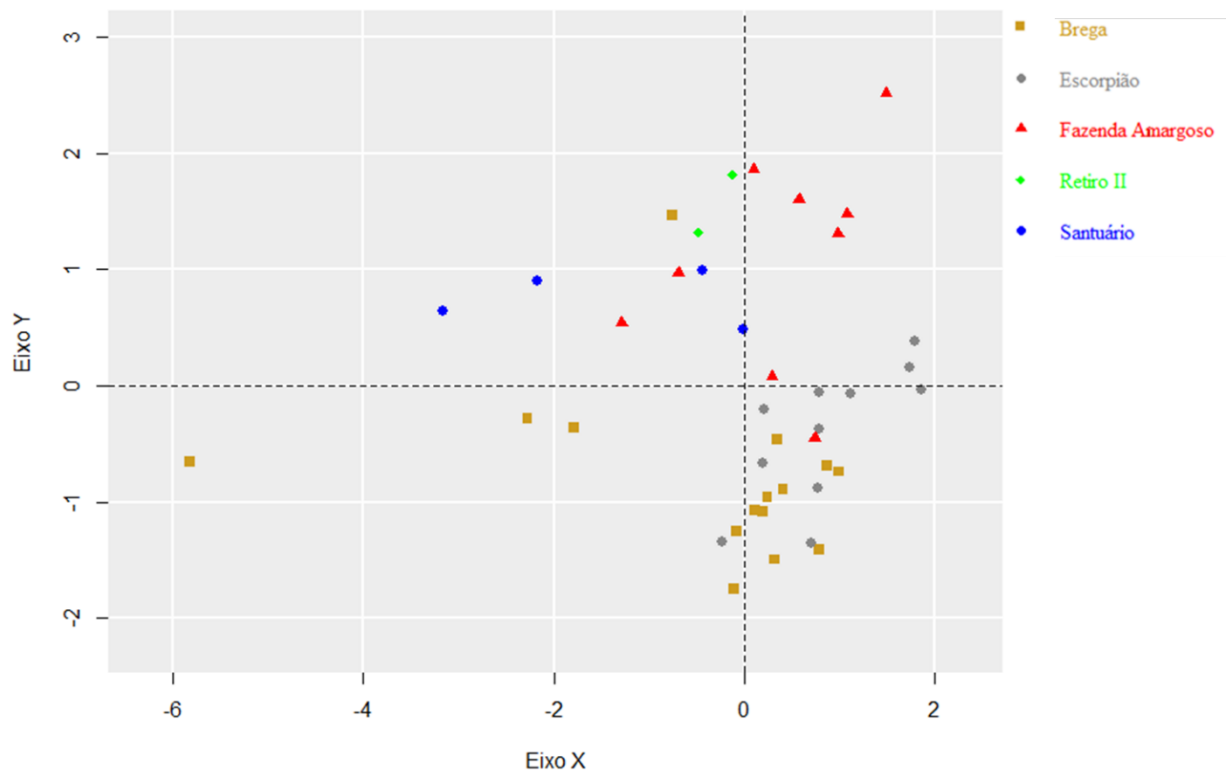


Figura 3. PCoA das condições ambientais em represas de travertino das cavernas analisadas.

## Discussão

Os resultados demonstram que somente duas das variáveis medidas influenciaram a abundância das espécies de *Spelunconiscus* e que, embora as cinco espécies pertençam ao mesmo gênero, elas não sobrepõem o nicho ambiental entre si, considerando as dimensões

analisadas. A influência do oxigênio dissolvido na abundância se deve ao fato desses organismos respirarem com auxílio do sistema condutor de água (SCA), que consiste em capilares com escamas, localizadas no sexto e sétimo pereópodos que conduzem água até os pleópodos, onde ocorre a troca gasosa (Hornug 2011). O tipo de respiração proporcionada pelo SCA e as diferentes funções por ele desempenhadas, tiveram forte influência na conquista do ambiente terrestre pelos isópodes (Hoese 1981). Portanto, a maior concentração de oxigênio dissolvido favorece a ocorrência e a maior abundância, uma vez que facilita a respiração, cujo peculiar sistema respiratório é rudimentar quando comparado aos isópodes com pulmões pleopodais (e.g., Schmidt & Wägele 2001). A relação entre oxigênio dissolvido e abundância já foi demonstrada em outros trabalhos referentes a Crustacea (e.g., Davidson et al. 1998, Mösslacher 1998, Guerra-Garcia & Sanches 2009).

Espécimes de *Spelunconiscus* que ocorrem em cavernas cujas represas de travertino sazonalmente secam (cavernas Escorpião, Fazenda Amargoso e Santuário), desaparecem durante esse período. Portanto, é provável que a macrocaverna não seja o habitat preferencial de tais espécies. A água que abastece as represas de travertino advém do epicarste, região compreendida por uma zona fraturada entre a rocha e o solo, preenchida por água de percolação (Pipan & Culver 2013) que entra em ambiente cavernícola por gotejamento. A relação entre a distância da recarga com a abundância reflete, portanto, a área fonte desses organismos. Destaca-se que não há registros na literatura de isópodes com capacidade de encistamento e que, embora o epicarste seja aparentemente inacessível, esse resultado lançou luz para uma hipótese já levantada por especialista (Ferreira - comunicação pessoal), de que essas espécies acessam o ambiente cavernícola durante períodos de chuva, advindos do epicarste. É provável que a aumento da percolação, durante os pulsos de chuva, promova a migração dos isópodes para o ambiente cavernícola em busca de recursos orgânicos, tendo em vista a acentuada redução da matéria orgânica no epicarste (essencialmente matéria orgânica dissolvida – MOD) (Fig. 2). A migração vertical é uma estratégia que permite a certos organismos evitarem condições adversas, tais como altos valores de temperatura e umidade (Fu-Xia et al. 2014). Esse comportamento é bem documentado para isópodes de solo (e.g., Den Boer 1961, Brereton 1957, Wright 1997), entretanto, não há relatos de migração vertical do epicarste para a macrocaverna. Logo, a migração vertical, possibilitou a persistência dessas espécies sob condições adversas, bem como favoreceu o isolamento e, muito provavelmente, a especiação.





são filogeneticamente relacionadas, portanto, era de se esperar, no mínimo, uma sobreposição parcial do nicho. Visto que há retenção de atributos ecológicos ao longo do tempo entre espécies correlacionadas (Wiens et al. 2010). Portanto, se as espécies não sobrepõem em alguma dimensão do nicho, é provável que não haja (ou tenha havido) competição entre elas (Holt, 1987). Diante disso, a hipótese de que essas espécies coocorreram e, portanto, seriam produto de exclusão competitiva foi refutada. Entretanto, o nicho conservativo pode ser expresso não somente pelas condições em que as espécies ocorrem, mas também pelos atributos funcionais, haja vista que esses refletem dimensões do nicho. Apesar das espécies de *Spelunconiscus* apresentarem semelhanças morfológicas, tais características não foram avaliadas no presente estudo, logo, não é possível afirmarmos que os nichos dessas espécies sobreponham na dimensão morfológica. O mais provável, portanto, é que um ancestral comum colonizou, independentemente, as várias cavernas da região e o isolamento entre populações favoreceu a especiação, dando origem a uma região extremamente diversa em Isópodes troglóbios.

Destaca-se que a falta de similaridade ambiental entre e dentro dos locais avaliados é a causa primária para a não sobreposição do nicho das espécies, visto que avaliamos somente as dimensões ambientais do nicho. A inclusão de dimensões morfológicas e tróficas pode melhor elucidar questões relacionados ao nicho. Considerando a raridade das espécies, baixa abundância e a dificuldade em acessar o epicarste (habitat preferencial) é difícil compreender o nicho ambiental dessas espécies.

Diante disso, são necessários estudos de longo prazo, a fim de identificar variáveis que melhor reflitam o nicho ambiental dessas espécies, para então sermos capazes de compreender a dinâmica e os fatores que as influenciam. Destaca-se também que é fundamental a criação de mecanismos que permitam estudar o epicarste, haja vista a importância para a manutenção dos *Spelunconiscus* e demais organismos cavernícolas na província estudada.

### **Agradecimentos**

Agradecemos aos integrantes do Centro em Estudos em Biologia Subterrânea (CEBS/UFLA) pela ajuda em campo e coleta de dados. RFL agradece ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq nº 308334/2018-3). V.M.M agradece ao da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

## Referências

- Brereton J LG (1957) The distribution of woodland isopods. *Oikos* 85-106.
- Campos-Filho IS, Araujo PB, Bichuette ME, Trajano E, Taiti S (2014) Terrestrial isopods (Crustacea: Isopoda: Oniscidea) from Brazilian caves. *Zoological Journal of the Linnean Society* 172(2): 360-425.
- Centro Nacional de Pesquisas e Conservação de Cavernas-CECAV (2021) Relatório estatístico do CANIE. Acessado em 17-05-21. Disponível em [https://www.icmbio.gov.br/cecav/index.php?option=com\\_icmbio\\_canie&controller=relatorio\\_estatistico&itemPesq=true](https://www.icmbio.gov.br/cecav/index.php?option=com_icmbio_canie&controller=relatorio_estatistico&itemPesq=true)
- Davidson NL, Kelso WE, Rutherford DA (1998) Relationships between environmental variables and the abundance of cladocerans and copepods in the Atchafalaya River Basin. *Hydrobiologia* 379(1):175-181.
- Den Boer PJ (1962) The ecological significance of activity patterns in the woodlouse *Porcellio scaber* Latr.(Isopoda). *Archives Néerlandaises de Zoologie* 14(3): 283-409.
- Fu-xia H, Tong-yin X, Gui-lin X, Rong-shu F (2014) Vertical Migrating and Cluster Analysis of Soil Mesofauna at Dongying Halophytes Garden in Yellow River Delta. *Journal of Northeast Agricultural University (English Edition)* 21(1):25-30.
- Guerra-García JM, Ros Clemente M, Sánchez Rodríguez JA (2009) Isopods, tanaids and cumaceans (Crustacea, Peracarida) associated to the seaweed *Stypocaulon scoparium* in the Iberian Peninsula. *Zoológica baetica* 20:35-48.
- Helena B, Pardo R, Vega M, Barrado E, Fernandez JM, Fernandez L (2000) Temporal evolution of groundwater composition in an alluvial aquifer (Pisuerga River, Spain) by principal component analysis. *Water research* 34(3):807-816.
- Hoese B (1981) Morphologie und funktion des wasserleitungssystems der terrestrischen Isopoden (Crustacea, Isopoda, Oniscoidea). *Zoomorphology* 98(2):135-167.
- Holt RD (1987) On the relation between niche overlap and competition: the effect of incommensurable niche dimensions. *Oikos* 110-114.
- Hornung E (2011) Evolutionary adaptation of oniscidean isopods to terrestrial life: structure, physiology and behavior. *Terrestrial Arthropod Reviews* 4(2): 95.
- Hutchinson GE Concluding remarks (1957) Cold spring harbor symposium on quantitative biology 22:415–27.
- Jeong CH (2001) Effect of land use and urbanization on hydrochemistry and contamination of groundwater from Taejon area, Korea. *Journal of Hydrology* 253(1-4):194-210.
- Jiang Y, Yan J (2010) Effects of land use on hydrochemistry and contamination of Karst groundwater from Nandong underground river system, China. *Water, Air, & Soil Pollution* 210(1):123-141.

Junker RR, Kuppler J, Bathke AC, Schreyer ML, Trutschnig W (2016) Dynamic range boxes—a robust nonparametric approach to quantify size and overlap of n-dimensional hypervolumes. *Methods in Ecology and Evolution* 7(12):1503-1513.

Liu Z, Li Q, Sun H, Wang J (2007) Seasonal, diurnal and storm-scale hydrochemical variations of typical epikarst springs in subtropical karst areas of SW China: soil CO<sub>2</sub> and dilution effects. *Journal of Hydrology* 337(1-2):207-223.

Mösslacher F (1998) Subsurface dwelling crustaceans as indicators of hydrological conditions, oxygen concentrations, and sediment structure in an alluvial aquifer. *International Review of Hydrobiology* 83(4):349-364.

Peck DV, Herlihy AT, Hill BH, Hughes RM, Kaufmann PR, Klemm DJ, Lazorchak JM, McCormick FH, Peterson SA, Ringold PL, Magee T, Cappaert MR (2006) *Western Pilot Study: field operations manual for wadeable streams*. Office of Research and Development, US Environmental Protection Agency.

Pipan T, Culver D (2013) Forty years of epikarst: what biology have we learned? *International journal of speleology* 42(3): 5.

R Development Core Team (2008) *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Schmidt C, Wägele JW (2001) Morphology and evolution of respiratory structures in the pleopod exopodites of terrestrial Isopoda (Crustacea, Isopoda, Oniscidea). *Acta Zoologica* 82(4):315-330.

Sfenthourakis S, Hornung E (2018) Isopod distribution and climate change. *ZooKeys* (801): 25.

Sfenthourakis S, Taiti S (2015) Patterns of taxonomic diversity among terrestrial isopods. *ZooKeys* (515):13.

Silva MS, Ratton P, de Almeida Zampaulo R, Ferreira RL (2017) Is an outstanding environment always preserved? When the most diverse cave in subterranean species becomes one of the most endangered in a landscape. *Revista Brasileira de Espeleologia* 2(8): 26-48.

Taiti S Crustacea: Isopoda: Oniscidea (woodlice) (2003) In: Gunn J, editor. *Encyclopedia of Caves and Karst Science*. London: Taylor and Francis Group. pp. 547–550.

Wardle AA (2002) *Communities and ecosystems: linking the aboveground and belowground components*. Princeton University Press, NJ, USA, 392 pp.

Wiens JJ, Ackerly DD, Allen AP, Anacker BL, Buckley LB, Cornell HV, Stephens PR (2010) Niche conservatism as an emerging principle in ecology and conservation biology. *Ecology letters*, 13(10):1310-1324.

Wright JC (1997) Winter survival and overwintering behavior in South Dakota Oniscidea (Crustacea, Isopoda) In: *Proceedings of the South Dakota Academy of Science* 76:45-56.

Zimmer M, Brauckmann HJ, Broll G, Topp W (2000) Correspondence analytical evaluation of factors that influence soil macro-arthropod distribution in abandoned grassland. *Pedobiologia* 44(6): 695–704. [https://doi.org/10.1078/S0031-4056\(04\)70082-7](https://doi.org/10.1078/S0031-4056(04)70082-7)

## Material suplementar 1

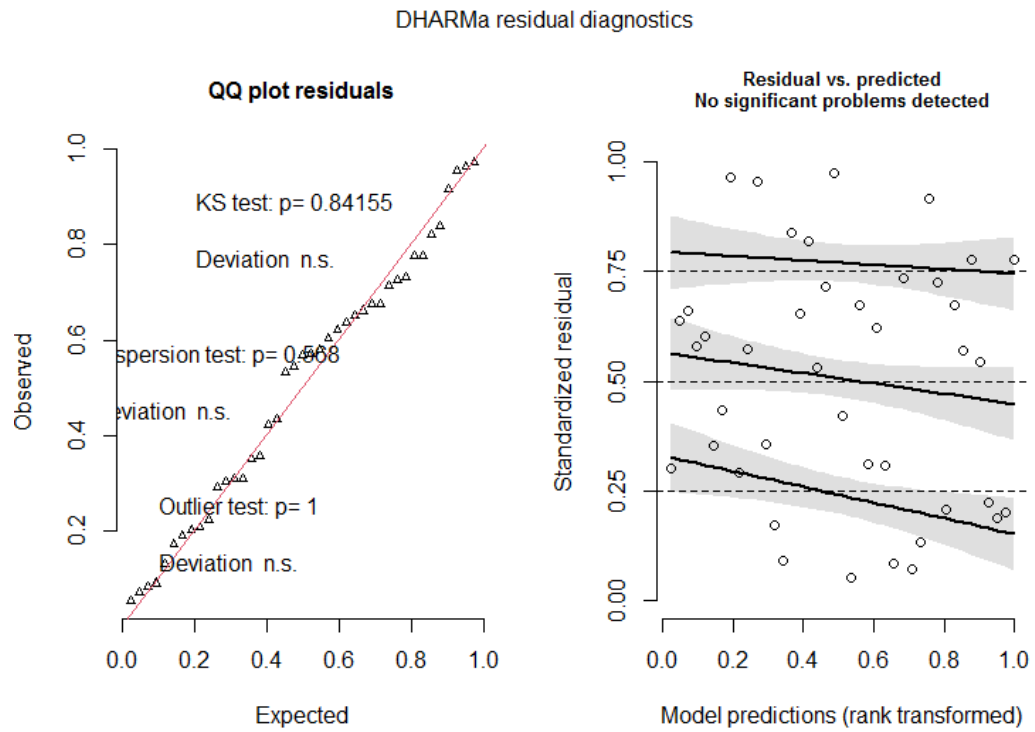


Figura 1. Diagnóstico dos resíduos gerados pelo pacote estatístico DHARMA.