



PAULO CÉSAR REIS VENÂNCIO

**INFLUENCE OF ENVIRONMENTAL HETEROGENEITY ON
SPATIO-TEMPORAL STRUCTURING OF CAVE
INVERTEBRATE COMMUNITIES.**

**LAVRAS-MG
2023**

PAULO CÉSAR REIS VENÂNCIO

**INFLUENCE OF ENVIRONMENTAL HETEROGENEITY ON SPATIO-
TEMPORAL STRUCTURING OF CAVE INVERTEBRATE COMMUNITIES.**

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

Prof. Dr. Marconi Souza Silva

Orientador

Prof. Dr. Rodrigo Lopes Ferreira

Coorientador

LAVRAS – MG

2023

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

Reis-Venâncio, Paulo César.

Influence of environmental heterogeneity on spatio-temporal structuring of cave invertebrate communities. / Venâncio, Paulo César Reis. - 2023.

75 p. : il.

Orientador(a): Marconi Souza-Silva.

Coorientador(a): Rodrigo Lopes Ferreira.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. Cavernas. 2. Invertebrados. 3. Comunidades. I. Souza-Silva, Marconi. II. Ferreira, Rodrigo Lopes. III. Título.

PAULO CÉSAR REIS VENÂNCIO

**INFLUÊNCIA DA HETEROGENEIDADE AMBIENTAL NA ESTRUTURAÇÃO
ESPAÇO-TEMPORAL DE COMUNIDADES DE INVERTEBRADOS CAVERNÍCOLAS.**

**INFLUENCE OF ENVIRONMENTAL HETEROGENEITY ON SPATIO-TEMPORAL
STRUCTURING OF CAVE INVERTEBRATE COMMUNITIES.**

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

Aprovado em 25/04/2023

Dr. Reuber Albuquerque Brandão (UFLA)

Dr. Diego de Medeiros Bento (ICMbio-CECAV)

Prof. Dr. Marconi Souza Silva
Orientador

Prof. Dr. Rodrigo Lopes Ferreira
Coorientador

**LAVRAS – MG
2023**

“Palavras são, na minha nada humilde opinião, nossa inesgotável fonte de magia”

-Alvo Dumbledore

Agradecimentos

Sem dúvida, foi uma etapa repleta de alegrias, realizações e desafios. No entanto, os desafios são essenciais para o nosso crescimento e aprendizado. É por meio deles que consolidamos nosso conhecimento e adquirimos novas habilidades, permitindo-nos ajudar o próximo e transmitir o conhecimento adquirido.

Novos conhecimentos, novos lugares, ambientes maravilhosos, amigos e companhias maravilhosas, que levarei para sempre comigo. Sem falar na espetacular fauna da região de Iuiú... palavras não são suficientes para expressar minha paixão pela região, pelo seu povo e por sua fauna.

Gostaria de agradecer e dedicar este trabalho e seus futuros frutos a toda a minha família, em especial à minha eterna mãe. Você, mãe, sempre foi e será minha maior inspiração como ser humano e como educadora. Sempre apoiou e incentivou meu sonho de alcançar minhas realizações acadêmica e profissional, e por isso sou imensamente grato. Independentemente de onde você estiver hoje, sei que tudo o que conquistei até aqui é devido ao amor, apoio e dedicação incansável que você me ofereceu ao longo dos anos. Seu exemplo de força, coragem e perseverança continua a me guiar nessa jornada. Muito obrigado por ser a melhor mãe que alguém poderia desejar, minha estrelinha mais linda e brilhante no céu, minha estrela guia.

Obrigado, vovó Dirlene, por todo o amor, por todo o carinho e apoio. Obrigado dindinha Louise e dindinha Loucianara, por todo o amor, por todos os conselhos, conversas e por todo o apoio.

Agradeço a Mariana, que me acompanhou, me apoiou, incentivou, ajudou e entendeu minha ausência ao longo dessa caminhada. Obrigado por ser quem você é, te amo eternamente.

Obrigado aos meus orientadores e mestres, Titó (Marconi Souza) e Drops (Rodrigo Ferreira). Obrigado por iluminarem meu caminho perante a escuridão do subterrâneo, e me ensinar a enxergar as riquezas que ali residem. Agradeço por toda a dedicação e todo o amor empregados, ao longo de décadas como professores e pesquisadores, no desenvolvimento e no aperfeiçoamento do conhecimento. Agradeço por todo conhecimento compartilhado, por todas as conversas sempre descontraídas e muito proveitosas; por todas as orientações, puxões de orelha, pela verdadeira amizade, que com absoluta certeza contribuíram enormemente para minha formação profissional e pessoal. Vocês são minha inspiração quanto educador,

pesquisador e ser humano. A vocês, obrigado por toda a paciência, por todos os valiosos conselhos e, principalmente, por todo o apoio nos momentos que eu mais precisei, minha eterna gratidão!

Obrigado a todos os meus amigos e irmãos de infância e adolescência em Campo Belo, sinto uma falta gigantesca das jogatinas, das conversas e dos churrascos.

Obrigado a todos os professores e professoras que passaram em minha vida, que têm como missão de vida, ensinar, a passar o conhecimento, formar pessoas e, principalmente, inspirar. Em especial, meu muito obrigado ao Tulião, uma das minhas maiores inspirações e motivações a seguir o sonho de me tornar biólogo. Professores, vocês merecem toda admiração, carinho e respeito do mundo!

Obrigado a todos os amigos feitos durante o a graduação, tanto na UFLA (Jogador, Hugo, Zena, Vitor Black, Vitor White), como o curto período que estudei na PUC Minas (meu trio favorito: Jãao, Hugo e Luiza), vocês estão pra sempre guardados em meu coração. Em especial, muito obrigado Faiô por se tornar meu irmão, te admiro demais, obrigado por sua amizade!

Agradecer a todas e todos os amigos feitos em Lavras e afins (Tati, Jaci, Nat, Let, Luan, Valtin, Zeee, José Manuel, Brunão, Clara e Victor), obrigado pela amizade e todo o apoio. Vocês são demais!

Meu muito obrigado ao Proto (Lucas Rabelo) e a Luana, por me iniciaram no mundo da Biologia Subterrânea e terem me guiado no começo de tudo.

A Sassanha (Thaís Pellegrini) por todos os ensinamentos, conselhos, conversas, e pelas dicas estatísticas.

Aos amigos feitos em trabalhos de campo (Tião e Arthur), obrigado pelas conversas e pelo conhecimento compartilhado.

Agradeço aos meus amigos e colegas do Centro de Estudos em Biologia Subterrânea, Cachelfa (Best), Prips, Giogio, Vaquildo, Gilson, Resta, Luana, Denizar, Rayanne, Shoppe, Perna, Balão, Leandro, Jesus, Dara, Itu, Pedro, Guilherme, Jú, Gabriel, Pepeto, Vitor, Alicia e todos os demais. Obrigado por todos os momentos, por todas as conversas, por litros e litros de café bebidos e todas as festinhas de aniversário!

Agradeço do fundo do coração à todas e todos os Iuiuenses (Belarmino e família, ao Gú, Joãozinho, Seu Aylton, Seu Mathias, Seu Honorato, Seu Tião, Seu Jovino e família, ao Edson e tantos outros) que nos permitiram realizar o estudo, por ter nos guiado até as cavernas, pela amizade, pelo carinho, pela confiança, por nos acolher dentro de suas residências, por toda a história construída. Obrigado a Sociedade Excursionista Espeleológica (UFOP) pela descoberta e

mapeamento de algumas das cavernas utilizadas no presente estudo, além de ceder alguns dos mapas para seu desenvolvimento.

Obrigado a todos os taxonomistas que dedicam sua vida à desvendar a nossa fascinante diversidade, e auxiliar na identificação do material coletado (Giovanna Cardoso, Rodrigo Castro, Vitor Junta, Rodrigo Bouzan, Maysa Vilela, Thaís Pellegrini, Daniela Benjumea, Leopoldo Bernardi, Gleyce Medeiros, Paolla Souza, Nathália Michelly, Ivan Magalhães, Guilherme Prado, Antônio Brescovit, Júlio Vaz, Fernando Vaz-de-Melo, Vinícius Sergio Diniz e Luiz Ricardo Simone), trazendo maior confiabilidade e precisão aos dados coletados.

Obrigado a todos e todas que integraram as equipes de campo para coleta dos dados e permitiram que esse estudo fosse realizado. Obrigado pelas risadas, pelos aprendizados e pela parceria.

Gostaria de fazer um agradecimento especial a minha best, vulgo Luz Meiga do Cerrado, Cachelfa (Lais Furtado). Obrigado por ter se tornado uma pessoa de extrema importância em minha vida, obrigado por sua alegria diária, que contagia o mundo. Te admiro demais.

Gostaria também de agradecer ao Vaca (Rafael Cardoso) por ter se tornado um grande amigo, um irmão pra mim. Com você aprendi demais sobre espeleologia, botânica (Espeleobotânica), topografia, noções de campo, e principalmente, análises estatísticas. Obrigado por sempre estar disposto a ensinar, e aprender também, te admiro e me inspiro em você. Obrigado!!!

Agradeço a todos os professores e professoras do PPG Ecologia Aplicada da UFLA, por estarem sempre dispostos a tirar as dúvidas dos seus discentes, por todo o conhecimento repassado, vital para a formação acadêmica e pessoal de cada discente.

À UFLA, por toda a infraestrutura, por gerar as mais diversas oportunidades aos seus discentes, pelo ensino de qualidade, por apoiar e permitir o sonho de cada um dentro da Universidade.

Gostaria de dedicar este trabalho ao presidente Luiz Inácio Lula da Silva, que através de suas políticas públicas possibilitou o acesso das camadas mais vulneráveis da população às Universidades Federais. Agradeço profundamente por ter trazido de volta a esperança de dias melhores para a Ciência e a Educação brasileiras, que se tornam mais valorizadas e fortalecidas. Suas iniciativas e atitudes serão essenciais para superarmos anos de trevas que o país atravessou.

Minha sincera gratidão à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de estudos para o meu mestrado.

Por fim, agradeço ao ICMBio/CECAV por todo o apoio financeiro. O presente trabalho encontra-se no Termo de Compromisso de Compensação Espeleológica (TCCE) nº

1/2018, firmado entre ICMBio e Vale, com recursos geridos pelo Instituto Brasileiro de Desenvolvimento e Sustentabilidade (IABS). A coleta do material biológico foi autorizada através da licença SISBIO/ICMBio nº 78415-3.

"Somos os representantes do cosmos. Somos um exemplo do que o hidrogênio pode fazer com 15 bilhões de anos de evolução cósmica."

-Carl Sagan

RESUMO

A presente dissertação teve como objetivo compreender como a heterogeneidade ambiental molda a estruturação espaço-temporal de invertebrados terrestres cavernícolas. Para isso, foram analisados os efeitos dos componentes de substrato, além de variáveis microclimáticas e de recursos tróficos sobre as comunidades biológicas. O estudo compreendeu o total de 31 cavernas distribuídas ao longo da região cárstica de Iuiú e Malhada, no sudoeste do estado da Bahia. No primeiro capítulo, redigido seguindo as normas da revista “Journal of Applied Ecology”, buscamos entender se a estruturação de comunidades associadas às diferentes zonas das cavernas (zonas fótica e afótica) respondem de forma semelhante. Usamos uma abordagem multiescala, onde consideramos variáveis em diferentes escalas (micro e mesoescala), buscando maior robustez em nossos resultados. Conforme a hipótese elaborada, as comunidades presentes nas diferentes regiões da respondem de maneira dissimilar em relação aos componentes de substrato e demais variáveis testadas. Também, destacamos a forte relação entre o ambiente de superfície e comunidades intimamente associadas as regiões mais distantes da entrada. No segundo capítulo, redigido seguindo as normas do periódico “Community Ecology”, abordamos a relação temporal entre a estruturação das comunidades e a heterogeneidade ambiental. Nosso objetivo foi avaliar se a relação entre a riqueza das espécies de invertebrados e a estruturação do habitat se manteve ao longo do tempo, nesse caso, com um período de cinco anos entre uma amostragem e outra. Utilizamos uma abordagem estatística multimodal, a qual considera a média dos melhores modelos preditivos construídos, e avaliamos a variação da riqueza entre os eventos amostrais. Concluímos que não houve diferença significativa entre o número de espécies coletados entre as coletas. Além disso, nossos modelos mostram que a rocha nua do solo da caverna, traz maior homogeneidade ao ambiente, afetando negativamente a riqueza das espécies. Por outro lado, a presença de matacões e sua sobreposição gera maior disponibilidade de habitats potenciais para a fauna, refletindo positivamente sobre a riqueza. Por fim, constatamos que a resposta da fauna em função da presença de matacões se manteve entre um período de coleta e outro. Os resultados desse estudo possuem implicações para a conservação e o manejo dos ecossistemas subterrâneos, uma vez que fornecem informações úteis sobre os processos ecológicos que regem esses ecossistemas. Além disso, os resultados podem ser proveitosos para aprimorarem a compreensão da ecologia de ecossistemas subterrâneos em geral, contribuindo para avanços na área.

Palavras-chave: Estruturação de Habitat. Caverna. Escala Espacial. Recursos Orgânicos. Zonação.

ABSTRACT

This dissertation aimed to understand how environmental heterogeneity shapes the spatial and temporal structuring of terrestrial cave invertebrates. To do so, we analyzed the effects of substrate components, as well as microclimatic and trophic resource variables on biological communities. The study included a total of 31 caves distributed throughout the karst region of Iuiú and Malhada, in the southwest of the state of Bahia. In the first chapter, written following the guidelines of the "Journal of Applied Ecology" journal, we sought to understand if the structuring of communities associated with different zones of the caves (photic and aphotic zones) respond similarly. We used a multiscale approach, where we considered variables at different scales (micro and mesoscale), seeking greater robustness in our results. As hypothesized, the communities present in different regions responded differently to the tested substrate components and other variables. We also highlighted the strong relationship between the surface environment and communities closely associated with the more distant regions from the entrance. In the second chapter, written following the guidelines of the "Community Ecology" journal, we addressed the temporal relationship between community structuring and environmental heterogeneity. Our goal was to evaluate whether the relationship between species richness of invertebrates and habitat structuring remained over time, in this case, with a five-year period between samplings. We used a multimodal statistical approach, which considers the average of the best predictive models constructed, and evaluated the variation in richness between sampling events. We concluded that there was no significant difference in the species richness collected between samplings. Furthermore, our models show that bare cave soil rock brings greater homogeneity to the environment, negatively affecting species richness. On the other hand, the presence of boulders and their overlap provides greater availability of potential habitats for fauna, reflecting positively on richness. Finally, we found that the fauna's response to the presence of boulders remained between sampling periods. The results of this study have implications for the conservation and management of underground ecosystems, as they provide useful information about the ecological processes that govern these ecosystems. Additionally, the results can be beneficial to improve the understanding of underground ecosystem ecology in general, contributing to advances in the field.

Keywords: Habitat Structure. Cave. Spatial Scale. Organic Resources. Zonation.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	13
INTRODUÇÃO GERAL	14
SEGUNDA PARTE	17
CAVE ZONATION IS REAL? THE FIRST INSIGHT USING INVERTEBRATE COMMUNITIES AND THEIR STRUCTURE AS A PROXY	17
INTRODUCTION	17
MATERIAL AND METHODS	19
RESULTS	27
DISCUSSION	39
CONCLUSIONS	46
REFERENCES	46
DIRECIONADORES DA ESTRUTURAÇÃO DE COMUNIDADES DE INVERTEBRADOS SUBTERRÂNEOS: UMA PERSPECTIVA TEMPORAL ...	54
INTRODUÇÃO	54
MATERIAL E MÉTODOS	56
RESULTADOS	61
DISCUSSÃO	66
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS	69

PRIMEIRA PARTE
INTRODUÇÃO GERAL

Introdução geral

Essa dissertação é composta por dois manuscritos, ambos redigidos de acordo com as regras de formatação de dois periódicos científicos. O trabalho teve como objetivo investigar a influência dos componentes de substrato, distância da entrada e variáveis microclimáticas na estruturação espaço-temporal em comunidades de invertebrados cavernícolas. Para esse propósito, estudamos cavernas localizadas na região cárstica de Iuiú e Malhada, porção sudoeste do estado da Bahia. Utilizamos uma abordagem multi-escalar, na qual os invertebrados foram coletados em duas escalas espaciais, em mesoescala (setores com área de 30 m²) e microescala (quadrante de 1m² de área). As variáveis preditoras também foram medidas nessas respectivas escalas.

O primeiro capítulo, escrito conforme as normas do periódico “Journal of Applied Ecology”, investiga a influência das variáveis de substrato, variáveis microclimáticas e distância da entrada sobre a estruturação espacial de comunidades de invertebrados de 31 cavernas carbonáticas da região de Iuiú e Malhada, no estado da Bahia, Brasil. Além disso, investigamos se as respostas das comunidades localizadas em diferentes zonas da caverna variam em função das mesmas variáveis. Verificamos a influência das variáveis sobre a riqueza e a composição desses invertebrados, e conforme hipotetizado, as respostas variaram entre as comunidades de diferentes zonas da caverna. Esses resultados podem subsidiar de maneira mais efetiva as tomadas de decisão e o desenvolvimento de estratégias de conservação dos ecossistemas subterrâneos.

O segundo manuscrito, escrito de acordo as normas do periódico “Community Ecology”, investigou a influência dos componentes de substrato sobre a estruturação de comunidades em sete cavernas carbonáticas da região de Iuiú e Malhada, no estado da Bahia, Brasil. Avaliamos não apenas sua influência na estruturação espacial das comunidades, mas também sua influência na estruturação espacial, comparando as respostas das comunidades em diferentes períodos. Para isso, amostramos as comunidades das mesmas cavernas em dois períodos diferentes, sendo a primeira coleta realizada no ano de 2016 e, a segunda em 2021. Este é um dos primeiros estudos que leva em consideração o fator temporal na influência dos componentes de substrato sobre a estruturação de comunidades subterrâneas. Os resultados demonstraram a influência positiva da classe “matacão” sobre a riqueza das espécies, mostrando a importância dos espaços fornecidos pela sobreposição de diferentes clastos, o que leva ao aumento da riqueza de invertebrados subterrâneos. Esses espaços promovem o aumento da heterogeneidade ambiental local, levando ao aumento no número de habitats disponíveis para colonização da fauna, além da diminuição da sobreposição de nichos,

especialmente de espécies com preferências ecológicas similares. Além disso, como hipotetizado, vimos que esse efeito perdura ao longo do tempo, sendo o mesmo efetivo detectável entre os diferentes períodos investigados. Esse estudo destaca a importância de considerarmos os elementos-chave na elaboração de propostas de conservação, assim como seu papel na influência em escala temporal.

SEGUNDA PARTE
ARTIGOS

Segunda parte

Este capítulo foi escrito em formato de artigo (versão preliminar) e redigido conforme as normas da revista “Journal of Applied Ecology”.

Zoneamento em cavernas é real? O primeiro insight utilizando comunidades de invertebrados e sua estruturação espacial como proxy.

Cave zonation is real? The first insight using invertebrate communities and their structure as a proxy

Introduction

Since the discovery of animals in caves in 1768, interest in this field of science has grown enormously in Europe and USA, and recently in tropical regions (Polak, 2005; Mammola, 2019). Efforts have been directed towards improving our understanding of the biogeographical, ecological and evolutionary processes governing subterranean ecosystems (Lienhard & Ferreira, 2013; Mammola et al., 2019a, 2020; Souza-Silva et al., 2021; Recknagel & Trontelj, 2022). Those studies not only aim to comprehend the cave environment itself but also use it as a natural laboratory to better understand the dynamics of more complex systems and environments, once caves present stringent environmental constraints and simple communities (Poulson & White, 1969; Howarth, 1983; Culver & Pipan, 2015, 2019; Mammola, 2019; Mammola et al., 2020). However, many questions related to the ecological processes behind cave organisms remain unanswered and well-established patterns are still in their infancy (Mammola et al., 2020), directly impacting our understanding of these environments and bringing limitations to their conservation and management.

Caves, in general, are characterized by a set of ecological and physical features that can act as a biological filter, selecting the species capable of colonizing and establishing in the subterranean environment (Poulson & White, 1969; Howarth, 1983; Prous et al., 2004, 2015; Mammola, 2019). Among the main characteristics of the subterranean environment, which include climatically stability and food scarcity, the permanent absence of light stands out (Poulson & White, 1969; Culver & Pipan, 2019; Mammola, 2019; Reis-Venâncio et al., 2022). Based on the presence/absence of light in the subterranean environment and its variability along its extension, caves are partitioned into three light zones: the photic zone (direct light incidence, near entrances and skylights, and climate variable), the disphotic zone (indirect light incidence, with intermediate characteristics to adjacent zones), and the aphotic zone (total absence of light, high climatic stability, and humidity close to saturation point).

Along with the light gradient, we have a structural gradient, where regions closer to the entrances exhibit greater diversity and quantity of elements and substrates, while this variety decreases towards regions farther from the entrances, becoming more homogeneous and energetically limited (Poulson & White, 1969; Moseley, 2009; Mammola, 2019; Souza-Silva et al., 2021).

Invertebrates are not randomly distributed within the cave system; they exhibit preferences for specific habitats and microhabitats, physiological constraints, ecological interactions, and ecological niche breadth (Tobin et al., 2013; Culver & Pipan, 2019; Mammola et al., 2020; Pacheco et al., 2020; Furtado, 2021; Cardoso et al.; Souza-Silva et al., 2021; Cardoso et al., 2022; Reis-Venâncio et al., 2022). Factors responsible for the spatial structuring of cave communities have been extensively investigated, such as the increase in species diversity due to the presence of water bodies, increase in cave extension (Simões et al., 2015), increase in resources availability (Ferreira & Martins, 1999; Ferreira et al., 2007; Souza-Silva et al., 2011, 2021), and increase in substrate diversity. Moreover, habitat heterogeneity, which is considered a global driver of diversity in various ecosystems (Tews et al., 2004), also plays a crucial role in structuring cave communities (Pacheco et al., 2020; Souza-Silva, 2021; Furtado et al., 2022; Reis-Venâncio et al., 2022).

However, most of these studies investigating the relationship between habitat heterogeneity and cave biota do not consider the environmental gradient imposed by the ecological zonation of caves. This gradient leads to variations in the availability and conditions of microhabitats, exerting relevant effects on the fauna (Moseley 2009, Ferreira & Souza-Silva, 2001). The responses of the communities associated with the different zones can vary in relation to substrate components, whether organic or inorganic (Reis-Venâncio et al., 2022), especially due to the degree of specialization of species to the subterranean environment (Souza-Silva et al., 2021). Therefore, efforts are necessary to understand how the fauna associated with the different cave zones responds to habitat structure and to improve current knowledge about the ecological processes behind its structure, and to understand and avoid potential impacts. Finally, understanding the predominant processes in the subterranean environment helps us to improve and develop effective means of conserving the subterranean ecosystem (Rabelo et al., 2018; Cardoso et al., 2021).

Based on what was exposed, we investigated whether the physical, microclimatic, and trophic parameters differ between the photic and aphotic zones and whether these factors reflect on the spatial structuring of the associated fauna in each cave zone. Based on this, we formulated the following hypotheses: i) communities associated with the photic zones are

compositionally dissimilar and richer than those in aphotic zones; ii) communities associated with different zones respond differently to substrate, microclimatic, and trophic characteristics.

Material and methods

Study area

To evaluate our proposed hypothesis, the study was carried out in 31 caves placed in Iuiú and Malhada municipalities, in the Southwest region of Bahia state, Brazil (Figure 1, Table 1). The caves are situated in four non-contiguous carbonate massifs, called “Serra de Iuiú”, “Morro do Aurélio”, “Serrinha” and “Sepultamento”. These massifs are all inserted in the Bambuí geological group, dated from the Neoproterozoic era (between 750 and 600 million years ago).

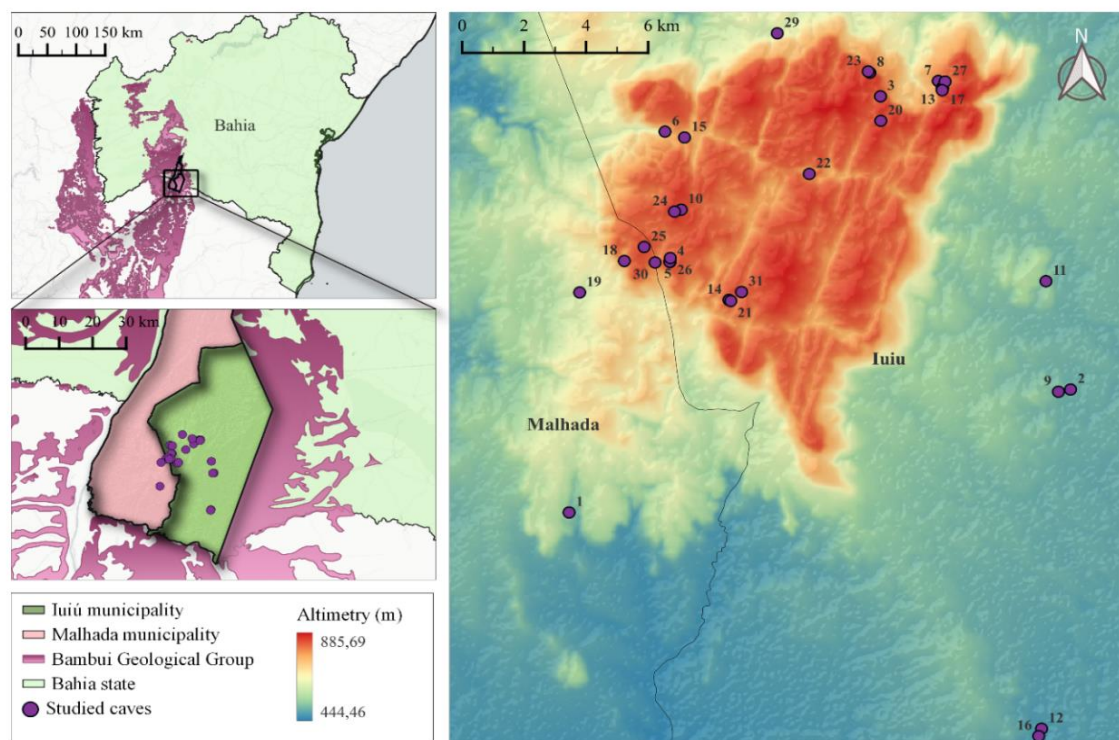


Figure 1: Location of the study area and caves in the municipalities of Iuiú and Malhada, Bahia state, Brazil. The extent of the Bambuí Geological Group and the spatial distribution of the caves included in the study are shown on the topographic map. The names of the caves are listed in Table 1 along with their corresponding numbers.

The region is located on the right bank of the São Francisco River and has an altitude of around 794 meters above sea level. The area is part of the Caatinga domain, with vegetation consisting mainly of seasonally dry tropical forests (Apgaua, et al., 2014). According to the Köppen-Geiger climate classification system (Alvares, et al., 2013), the region has a hot semi-arid tropical climate (Bsh), with an average temperature of 24°C and an

average annual precipitation of 788 mm (Fick & Hijmans, 2017). The geographical coordinates and altitude of the caves were taken near the main entrance of each cave, using a GPS.

Sampling design

Habitat structure characteristics, as well as the richness and composition of invertebrates, were determined during two field expeditions in October 2021 and July 2022 using sectors (3x10m) and quadrants (1x1m), during the dry season. As proposed by Pacheco, et al. (2020), Souza-Silva, et al. (2021) and Furtado-Oliveira, et al. (2022), we placed quadrants inside the sectors 5 m equidistance.

Table 1: The characteristics of the studied caves in the carbonate massifs of Iuiú and Malhada, Bahia state, Brazil. The number of sectors (Sect.) and quadrants (Quad.) within each cave, average temperature (T), average humidity (U), and morphotype richness (S) for each cave. Each cave is identified by a name and a subscribed number corresponding to its location on the map shown in figure 1.

Cave	Latitude	Longitude	Sect.	Quad.	T (°c)	U (%)	S
Tabocas ¹	-14.586989	-43.686011	15	45	24.09	90.34	42
Toca Fria ²	-14.548017	-43.535831	10	30	23.82	90.92	50
Toca Cavala ³	-14.455136	-43.592756	1	3	27	54	19
Pau D'arco II ⁴	-14.507583	-43.655773	1	3	22.3	69	21
Pau D'arco I ⁵	-14.507536	-43.655893	1	3	22	71	32
Olho D'água do Coitezeiro ⁶	-14.466323	-43.657288	2	6	24.15	96.65	50
Olho D'água do Aylton ⁷	-14.450273	-43.575443	1	3	26.7	88.5	18
Loca da Serra ⁸	-14.447647	-43.59595	1	3	23.7	58.6	24
Urubu-Jatobá ⁹	-14.548723	-43.539471	13	39	24.83	66.64	74
Toca Valada ¹⁰	-14.491043	-43.652444	8	24	25.26	86.46	88
Morro do Aurélio ¹¹	-14.513705	-43.54321	8	24	27.19	75.5	74
Sepultamento ¹²	-14.655515	-43.544522	4	12	24.3	89.07	71
Joãozinho ¹³	-14.452363	-43.574246	1	3	24.6	63.5	07
Esqueleto ¹⁴	-14.519636	-43.63815	1	3	22.8	54.3	07
Belarmino ¹⁵	-14.468161	-43.651442	1	3	25.4	85.2	21
Duas Gazelas ¹⁶	-14.657842	-43.545357	6	18	24.78	70.15	33
Brilhante ¹⁷	-14.452429	-43.574113	1	3	24.1	79.9	19
Bacupari ¹⁸	-14.507298	-43.669482	1	3	23.6	62.4	20
Tapera D'água ¹⁹	-14.51727	-43.682842	3	9	25.73	94.57	20
Lapa do Honorato ²⁰	-14.462879	-43.592667	4	12	22.22	92.52	74
Vaca Ausente ²¹	-14.519967	-43.637591	1	3	25.4	82.4	16
Senhor Mathias ²²	-14.479714	-43.614089	3	9	23.63	83.33	23
Licuri ²³	-14.447246	-43.596439	2	6	24.35	61.2	24
Imbé ²⁴	-14.491672	-43.654444	10	30	22.84	70.94	83
Gustavo ²⁵	-14.502855	-43.663541	2	6	21.5	82.95	48
Caquinho ²⁶	-14.506368	-43.65572	1	3	21.6	75.4	17
Boi Perdido ²⁷	-14.450457	-43.573404	2	6	23.7	67	21
Barriguda ²⁸	-14.453182	-43.574288	2	6	24.55	69.1	23

Baixão ²⁹	-14.435169	-43.623675	6	18	24.1	92.23	54
Dente de Cão ³⁰	-14.507765	-43.660257	1	3	23.6	73.3	23
Aroeira ³¹	-14.517119	-43.634373	1	3	22.8	86.7	38

Data on the richness, composition, and abundance of terrestrial cave invertebrates, as well as physical, microclimatic, and substrate parameters were collected inside each cavity. The sectors of 30m² was evenly positioned throughout the entire accessible length of the cave, from the entrance to the farthest regions at the cave floor – totaling 114 sectors in all sampled caves. A triad of 1m² quadrant was positioned inside each sector - two at each end of the sector, and one in its middle portion - totaling 342 quadrants (Pacheco, et al., 2020, Souza-Silva, et al., 2021, Furtado-Oliveira, et al., 2022). Based on the size of the area of each sample unit, sector was considered a mesoscale and quadrants was the microscale sample units. The species collected inside the quadrants were considered and accounted for the mesoscale.

Due to the different sizes and volumes of each cave, the number of quadrants and sectors positioned in each of them ended up being unequal. The number of sampling units for each cave can be seen in Table 1.

Measuring microhabitat structure

The measurement of the elements that compose the cave floor substrate inside the sample units was carried out at the mesoscale and microscale. For the mesoscale, each sector was subdivided into ten perpendicular sections of 3m². In each section, the area occupied by different organic and inorganic substrates in the soil was visually measured. To obtain the area occupied by each substrate along the sector, the sum of the area occupied by the substrates in all ten sections was taken, and their respective percentages were then calculated per sector (table 2) (Pacheco, et al., 2020; Souza-Silva, et al. 2021; Furtado-Oliveira, et al., 2022).

For the micro scale, the measurement of the types and quantities of each substrate inside the quadrant was carried out from the analysis of photographs taken before the invertebrate sampling (Pacheco, et al., 2020; Souza-Silva, et al. 2021; Furtado-Oliveira, et al., 2022). The photographs were taken as parallel as possible to cover all the boundaries of the quadrant. The substrate quantification was done using ImageJ software in the laboratory, where we determined the percentage of each substrate in the quadrant's 1m² area. All types of substrates, organic and inorganic, found on the cave floor are listed (Table 2).

Table 2: Components of the substrate included in the analysis, in each spatial scale. Variables included in the Whole fauna (Wh.), fauna of aphotic (Az), and fauna of photic (Pz) zone analysis. The area occupied by different organic and inorganic substrates in the soil was visually measured.

Spatial scale	Substrate components on the cave floor	
Mesoscale (cave sectors)	Guano ^{Wh, Az, Pz}	Large Boulder (1000-4000 mm) ^{Wh, Pz}
	Feces ^{Wh, Az, Pz}	Medium Boulder (500-1000mm) ^{Wh, Az, Pz}
	Roots ^{Wh, Az, Pz}	Small Boulder (250-500mm) ^{Wh, Az, Pz}
	Leaf Litter ^{Wh, Az, Pz}	Cobble (64-250mm) ^{Wh, Az, Pz}
	Plant Debris ^{Wh, Az, Pz}	Coarse Gravel (16-64mm) ^{Wh, Az, Pz}
	Branch ^{Wh, Az, Pz}	Fine Gravel (2-16mm) ^{Wh, Az, Pz}
	Wood ^{Wh, Pz}	Sand ^{Wh, Az, Pz}
	Smooth Rock ^{Wh, Pz}	Silt ^{Wh, Az, Pz}
	Rough Rock ^{Wh, Az, Pz}	Organic Matter ^{Wh, Az, Pz}
	Speleothem ^{Wh, Az, Pz}	Hardpan ^{Wh, Az, Pz}
	Retraction Crack ^{Wh, Az, Pz}	Flowstone ^{Wh, Pz}
	Fungi ^{Wh, Az}	Water Bodies ^{Wh, Az, Pz}
	Algae ^{Wh, Pz}	
Microscale (cave quadrants)	Guano ^{Wh, Az, Pz}	Large Boulder (1000-4000 mm) ^{Wh, Az}
	Feces ^{Wh, Az, Pz}	Medium Boulder (500-1000mm) ^{Wh, Az, Pz}
	Roots ^{Wh, Az, Pz}	Small Boulder (250-500mm) ^{Wh, Az, Pz}
	Leaf Litter ^{Wh, Az, Pz}	Cobble (64-250mm) ^{Wh, Az, Pz}
	Plant Debris ^{Wh, Az, Pz}	Coarse Gravel (16-64mm) ^{Wh, Az, Pz}
	Branch ^{Wh, Az, Pz}	Fine Gravel (2-16mm) ^{Wh, Az, Pz}
	Smooth Rock ^{Wh, Az, Pz}	Sand ^{Wh, Az, Pz}
	Rough Rock ^{Wh, Az, Pz}	Silt ^{Wh, Az, Pz}
	Speleothem ^{Wh, Az, Pz}	Hardpan ^{Wh, Az, Pz}
	Retraction Crack ^{Wh, Az, Pz}	Flowstone ^{Wh, Pz}
	Fungi ^{Wh, Pz}	Water Bodies ^{Wh, Az, Pz}
	Phanerogam ^{Wh, Pz}	

Measuring physical and microclimatic predictors

Temperature and humidity values were measured using a digital thermo-hygrometer, placed near the median region of the sector, at the floor, and left in place for at least 15 minutes. To determine the zone of each sector, a digital lux meter was placed in the central portion of the sector to measure incident light in the area. Sectors with values different from zero were considered photic, and values equal to zero were considered aphotic. The same values of light taken for the sectors were extrapolated to their respective triads of quadrants. Temperature and humidity were measured in each quadrant.

Finally, the distance of each sector to the nearest entrance was measured from the median portion of the sector (5 meters) to the dripline of the entrance or skylight, using laser tapes and cave maps. The obtained value for the sector was applied to the central quadrant. For the end quadrants, 4.5m was added to the furthest from the entrance, and 4.5m was subtracted from the sector value for the closest quadrant.

Invertebrate sampling

Terrestrial invertebrate was sampled in all sectors and quadrats using Direct Intuitive Search (DIS) and manual collection (Wynne, et al., 2019), aided by tweezers and brushes. The sampling was carried out by at least four biologists experienced in subterranean fauna sampling, with one professional assigned to each sampling unit.

Given the structural distinction between the different sampling areas along with the caves (due to the presence/absence of crevices, rocks, and ledges) the search time varied among each sampling unit (Souza-Silva, et al. 2021). The collection of invertebrates in each sampling unit was considered complete only when all invertebrates have been captured and accounted for. Furthermore, to maximize access to the invertebrate diversity, particularly strictly cave-dwelling species, all potential biotopes were examined throughout the accessible cave extension, outside of the designated sampling units (Ferreira, 2004; Wynne, et al., 2018, 2019). All the collected specimens were preserved in plastic vials containing 70% ethanol and transported to the laboratory.

It is important to note that, in order to avoid oversampling, only a few specimens were collected when a high number of individuals of the same species were found, and their total abundance was recorded. This approach was adopted to minimize possible impacts on these species, which may have small population sizes (Mammola, et al., 2020).

Invertebrate identification

In the laboratory, with the aid of optical and stereoscopic microscopes, the collected invertebrates were identified to the possible taxonomic level. Subsequently, they were grouped into morphotypes (Oliver & Beattie, 1996a, 1996b), a method widely used in ecological studies for diversity estimates (Pacheco, et al., 2020, Souza-Silva, et al., 2021; Furtado-Oliveira, et al., 2022, Reis-Venâncio, et al., 2022). This tool is particularly useful for researchers who are not specialists in the sampled groups (Oliver & Beattie, 1996a, 1996b). Additionally, to ensure greater accuracy of our data, taxonomic experts for certain groups were consulted (Isopoda, Orthoptera, Polydesmida, Palpigradi, Coleoptera, Acari, Araneae, Pseudoscorpiones, Hemiptera, Pulmonata, Entomobryomorpha, Symphypleona and, Poduromorpha).

We determined potential troglobitic species based on available literature for the studied region and the presence of troglomorphic traits, such as elongated appendages, anophthalmia, and depigmentation (Christiansen, 1962; Culver & Pipan, 2019). Specialists in each taxon were consulted for a more precise determination of these traits.

All the sampled individual has been deposited in the Coleção de Invertebrados Subterrâneos de Lavras (ISLA), which is associated with the Centro de Estudos em Biologia Subterrânea at Universidade Federal de Lavras (<http://www.biologiasubterranea.com.br>).

Data analysis

Substrate measures

We applied the Shannon index (H') to obtain substrate diversity values in each sampling unit (Cardoso, et al., 2022; Pellegrini, et al., 2016; Souza-Silva, et al., 2021, Oliveira-Furtado, et al., 2022). Shelter and trophic resource diversities were also calculated separately using the Shannon index.

To determine the diversity of trophic resources, we considered the following classes of floor substrate: guano, feces, roots, leaf litter, plant debris, branches, wood, fungi, algae, and organic matter. Meanwhile, the diversity of shelters was calculated based on the percentage of large, medium, and small boulders, branches, wood, leaf litter, coarse and fine gravel, speleothems, cracks, and cobble.

The availability of trophic resources and shelter was calculated by summing up the values of the classes of substrates (Reis-Venâncio, et al., 2022; Souza-Silva, et al., 2021). The availability of shelter was calculated included the following substrate classes: large boulder, medium boulder, small boulder, cobble, coarse gravel, fine gravel, speleothem, and retraction cracks. The availability of trophic resources was calculated using the sum of the values of guano, feces, roots, leaf litter, plant debris, branches, wood, algae, fungi, and organic matter.

Differences in habitat structure along a luminosity gradient

To evaluate how the habitat structure varies in relation to the location inside the cave (aphotic and photic zones), we performed a Principal Component Analysis (PCA), in both scales. The analysis and its graphical representation were produced using the *factoextra* package (Kassambra and Mundt, 2020), and was conducted in the R software (R core team, 2022).

In order to understand how physical, trophic, and microclimatic variables varied with distance from the nearest entrance, we conducted a Linear Models based on Distance- DistLm - analysis for each variable using a Euclidean distance-based matrix. We applied a stepwise procedure and the AICc model selection criterion and selected the models with the smallest values, following the approach recommended by Anderson, et al. (2008).

Faunal differences between the cave zones of light

To investigate potential differences in richness between the photic and aphotic zones, in both scales, we visually assessed the normality of the biotic data (species richness) and

performed the Shapiro-Wilk test. Since the data did not meet the assumptions of normality, we used nonparametric Mann-Whitney tests instead.

To examine differences in faunal composition between the different lux zones, we first standardized the data using the Hellinger method. We then constructed a Bray-Curtis dissimilarity matrix and used it in a nonmetric multidimensional scaling (nMDS) to visualize the data and look for eventual group formation (Zuur, et al., 2007; Legendre & Legendre, 2012; Borcard, et al., 2013). To determine if the composition varied significantly with respect to the lux zone, we performed a Permutational Multivariate Analysis of Variance -Permanova - with the lux zones (photic and aphotic) as factors using the 'adonis2' function from the *vegan* package (Oksanen, et al., 2022). The normality tests and the nMDS was conducted using the R software (R core team, 2022).

To visualize the contribution of each species to the fauna similarity between the different cave zones, we conducted a Similarity Percentages Breakdown (SIMPER), calculated from a Bray-Curtis dissimilarity matrix (Anderson, et al., 2008). This analysis was performed in the Plymouth routine in Multivariate ecological research – Primer 7 (<http://www.primer-e.com>).

Habitat structure and invertebrate communities between aphotic and photic cave zones

Prior to conducting the GLM and GLMM analysis, we assessed multicollinearity among all predictors using Spearman correlation with the 'chart.correlation' function from the *PerformanceAnalytics* package (Peterson and Carl, 2020). Variables with correlation values exceeding 70% ($\hat{r} \geq 0.7$) were analyzed separately to mitigate potential collinearity issues (Schober et al., 2018). As the Spearman coefficient only shows paired correlations (Zuur, et al., 2009), we also used variance inflation factors (VIF) in the initial model, which includes all predictors. Predictors with values exceeding 3 were removed from the models and then, reanalyzed.

To analyze the effects of all substrate variables, trophic and microclimatic features on species richness at the mesoscale, we constructed six independent Generalized Linear Models (GLMs). We used the negative binomial distribution of errors for all six models, as the Poisson distribution showed overdispersion in all cases. Using the Poisson distribution under these conditions can lead to an enhanced type 1 error, where explanatory variables that have no real effect may appear highly significant (Zuur, et al., 2009).

The first model investigates the response of the whole fauna (sampled in photic and aphotic zones combined), to microclimatic predictors (temperature and humidity), the

elements of the substrate diversities (total substrate diversity, resource diversity, and shelter diversity), as well as the availability of shelter and availability of trophic resources. The second model also considers the whole fauna as the response variable and uses microclimate and elements of the substrate diversities (total substrate diversity, resource diversity, and shelter diversity) as predictors. However, instead of using the availability of shelter and the availability of trophic resources, it includes each element of the substrate separately (as presented in Table 2).

Models three and four maintain the same configuration as models one and two but use the richness of the aphotic zone as the response variable. Similarly, models five and six analyzed the response of the richness of the photic zone. The elements of the substrate used as predictors in each group of models (whole elements of the substrate, types of substrates sampled in the photic zone, and types of the substrates sampled in the aphotic zone) can be visualized in Table 2.

To analyze the response on the microscale, we also performed six generalized linear mixing models (GLMM), assuming the quadrant as the random effect. The predictors and response variables included in each model were consistent with the mesoscale models (table 2). We assumed the negative binomial distribution family for the models with the whole and photic groups as response variables. However, for the models considering the aphotic group as the response variable, the Poisson distribution family provided the best fit. We assessed model fit by visually inspecting the spatial distribution of residuals and using the 'simulateResiduals' function from the DHARMA package (Hartig, 2022). The model with the lowest Akaike Information Criterion (AIC) value was chosen.

We followed three steps to construct the GLM and GLMM models: (i) we first created the full model with all predictors; (ii) we then ran the model, excluded the predictor with the highest p-value, and reanalyzed the model; (iii) we repeated this step until the final model included only significant predictors or showed the lowest AIC value. To calculate the pseudo adjusted R^2 values we used the 'r.squaredGLMM' and 'r.squaredLR' function from the *MuMIn* package (Bartoń, 2022). The GLM and GLMM analysis was performed in the R software (R core team, 2022).

To investigate the relation of the species composition in the different lux zone with the substrate elements, resource diversity, and microclimatic predictors, we performed a Distance-based linear model (DistLM) using a Bray-Curtis matrix, while excluding units without species. We employed a forward selection procedure and the adjusted r^2 as model selection criteria, with 999 permutations (Anderson, et al., 2008). This analysis was

performed in the Plymouth routine in Multivariate ecological research – Primer 7 (<http://www.primer-e.com>).

Results

Invertebrate composition and richness

In the 31 sampled caves, we identified a total of 449 morphotypes, including 381 at the mesoscale (234 in the aphotic zone and 263 in the photic zone) and 240 at the microscale (140 in the aphotic zone and 163 in the photic zone). Our sampling methods enabled us to detect 36 orders of invertebrates (Figure 3), distributed across at least 99 identified taxonomic families.

Araneae was the most diverse taxon, with 74 species, followed by Coleoptera (68 spp.) and Acari (38 spp.). In the aphotic zone, Araneae (40 spp.) remained the richest, followed by Coleoptera (27 spp.), while Acari and Diptera were tied with 16 species each. In the photic zone, Araneae was still the most diverse with 50 species, followed by Coleoptera (41 spp.), with Hemiptera and Hymenoptera tied with 21 species each.

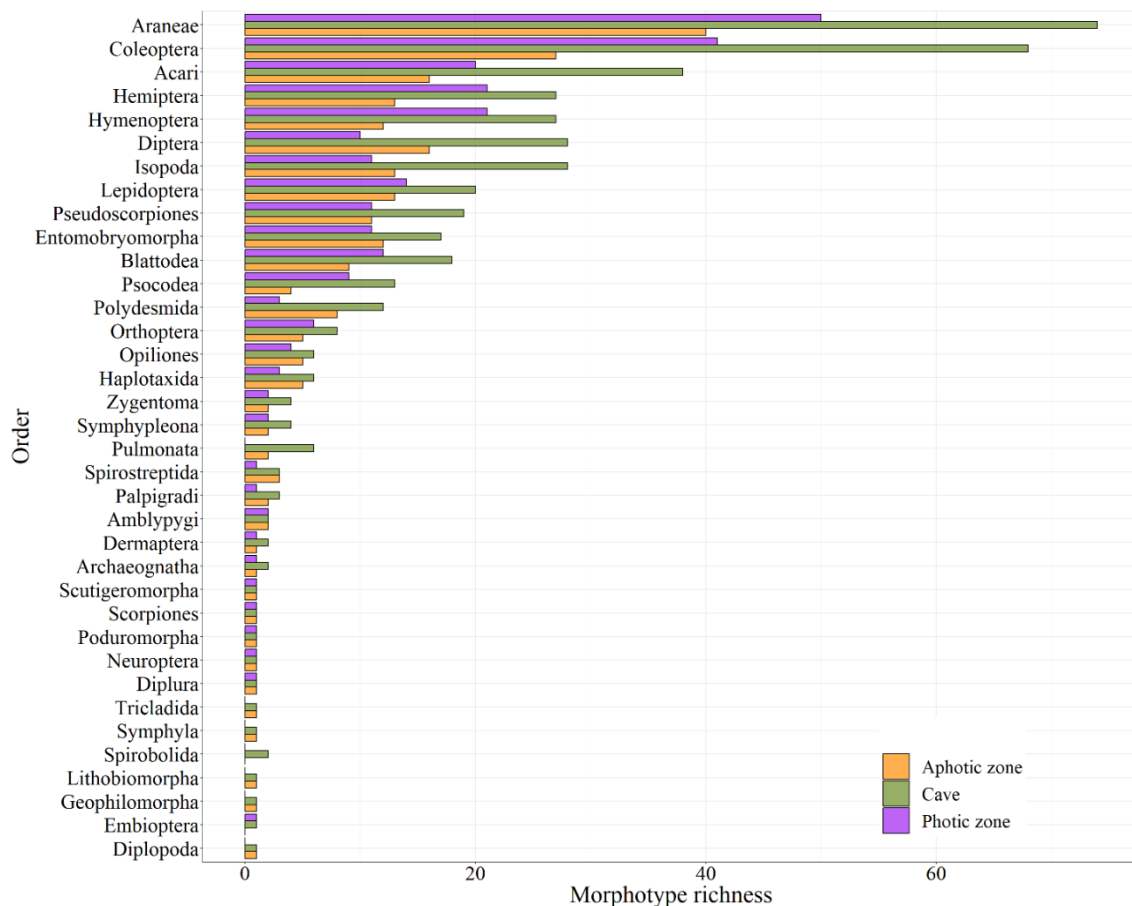


Figure 3: Morphotype richness sampled in the 31 studied caves. The morphotype richness is differentiated by cave zone and overall cave richness.

The Mann-Whitney analysis revealed a significant disparity in species richness between the aphotic and photic zones, as illustrated in figure 4. Regardless of the spatial scale analyzed, we consistently observed higher average richness in the photic zone (mesoscale: $W = 546$; $p < 0.001$; microscale: $W = 6686.5$; $p < 0.001$).

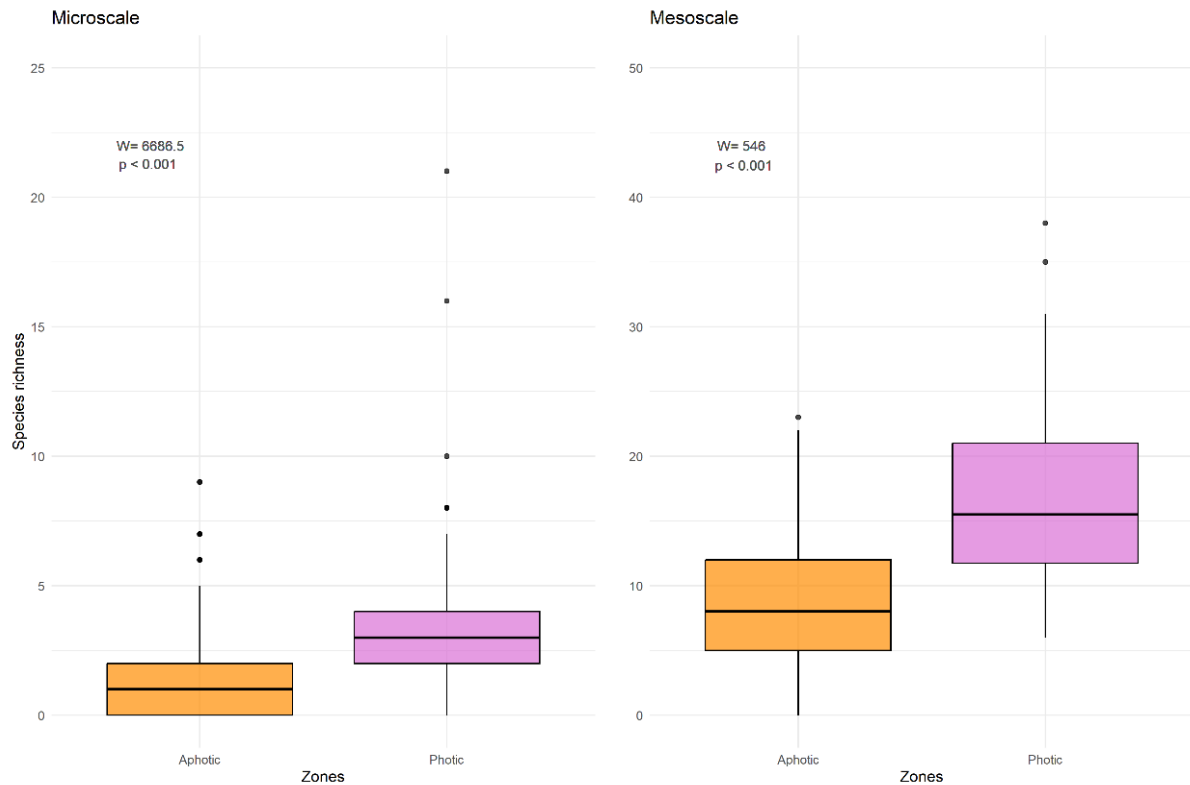


Figure 4: Box plot illustrating differences in species richness between the aphotic and photic zones, with the photic zone consistently exhibiting higher average richness across all analyzed scales. The statistical significance of these results is indicated by the values of W statistics and p-values, which are displayed in the top-left corner of each graphic.

The Permanova analysis indicates a significant difference in composition between the lux zones ($F = 3.3116$; $R^2 = 0.02345$; $p = 0.001$). The ordination method shows the spatial distribution of compositional data, where the photic zone shows more similar communities (spatially closest points), and more dissimilar in the aphotic zone (spatially farthest points) (Figure 5). The following species contributed to at least 50% of the dissimilarity between the cave zones: Araneae (*Loxosceles* sp.1, *L. karstica*, *Nesticodes rufipes*, *Pikelinia* sp.1, *Mesabolivar* sp.1, *Leucauge* sp.1 and Pholcidae sp.1 and sp.2); Hemiptera (*Iuiiua caeca*, *Iuiiua* sp.1, Lyageidae sp.1, Cixiidae sp.1 and sp.2, Veliidae sp.1 and *Zelurus* sp.1 and sp.2); Hymenoptera (*Cardiocondyla* sp.1, *Brachymyrmex* sp.1 and *Solenopsis* sp.1 and sp.2); Orthoptera (*Endecous* sp.1 and Mogoplistidae sp.1); Entomobryomorpha (*Trogolaphysa*

sp.1, *Lepidocyrtinus* sp.1); Amblypygi (*Charinus iuiu*); Isopoda (*Venezillo* sp.1); Pseudonannolenidae (*Pseudonannolene* sp.1); Pseudoscorpiones (Hesperolpiidae sp.1) and

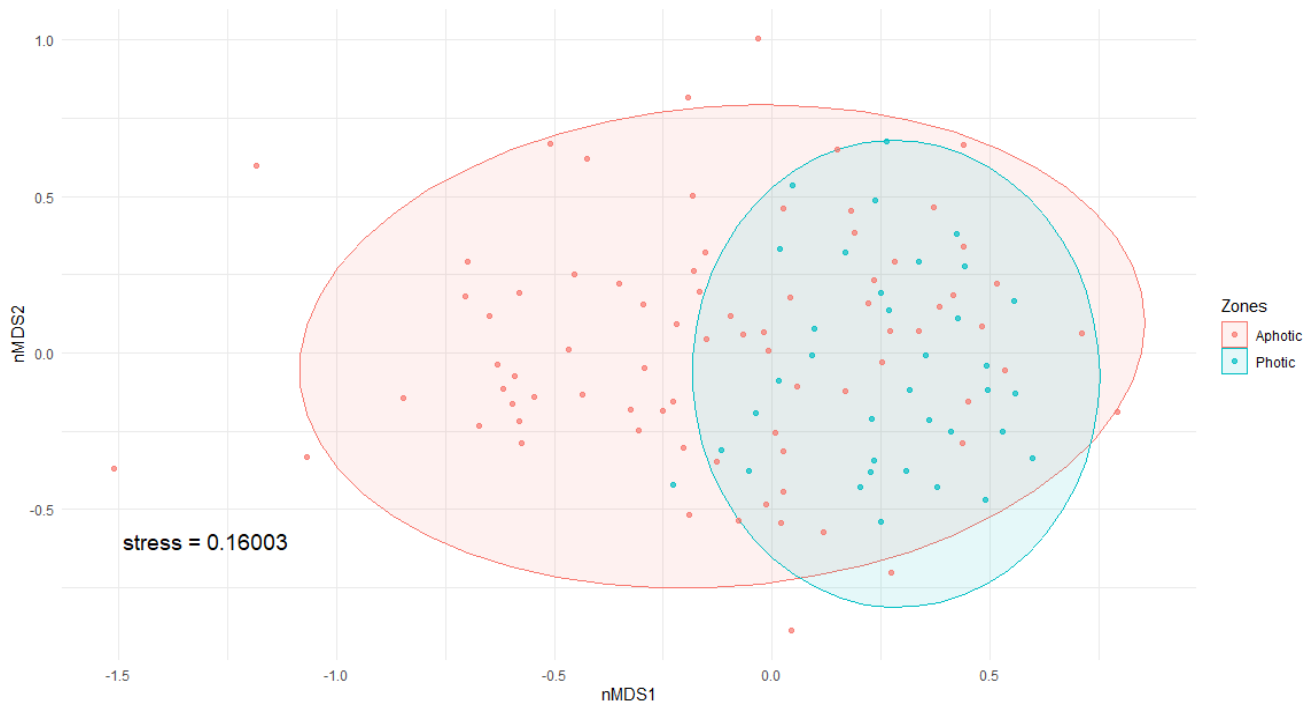


Figure 5: Non-metric multidimensional scaling (nMDS) ordination plot of the 31 studied caves and orbits formed by the lux zones of the caves. The stress model value is displayed in the left-bottom corner of the plot.

Psocodea (*Neotroglia* sp.1). The two troglobite species, *Iuiuia caeca* and *Trogolaphysa* sp.1, were primarily found in the aphotic zone, with average abundances of 0.26 and 0.95, respectively.

Obligate cave species richness

We identified 55 species exhibiting troglomorphic traits across all of our sampling methods. These troglomorphic species are distributed across 13 orders, including Acari (1 sp.), Araneae (12 spp.), Blattodea (1 sp.), Coleoptera (5 spp.), Entomobryomorpha (6 spp.), Hemiptera (2 spp.), Isopoda (12 spp.), Lithobiomorpha (1 sp.), Palpigradi (3 spp.), Polydesmida (6 spp.), Pseudoscorpiones (3 spp.), Pulmonata (2 spp.), and Symphypleona (2 spp.).

Some of the troglotic species have already been described, such as *Iuiuia caeca* (Hemiptera: Kinnaridae) (Hoch & Ferreira, 2016), *Loxosceles troglobia* (Araneae: Sicariidae) (Souza & Ferreira, 2018), *Iuiuniscus iuiuensis* (Isopoda: Styloniscidae) (Souza, et al., 2015), and *Spelaebochica iuiu* (Pseudoscorpiones: Bochicidae) (Ratton, et al., 2012) (Figure 6). Additionally, other troglotic species from the Iuiú region are currently being described,

indicating the potential for further discoveries in the area.

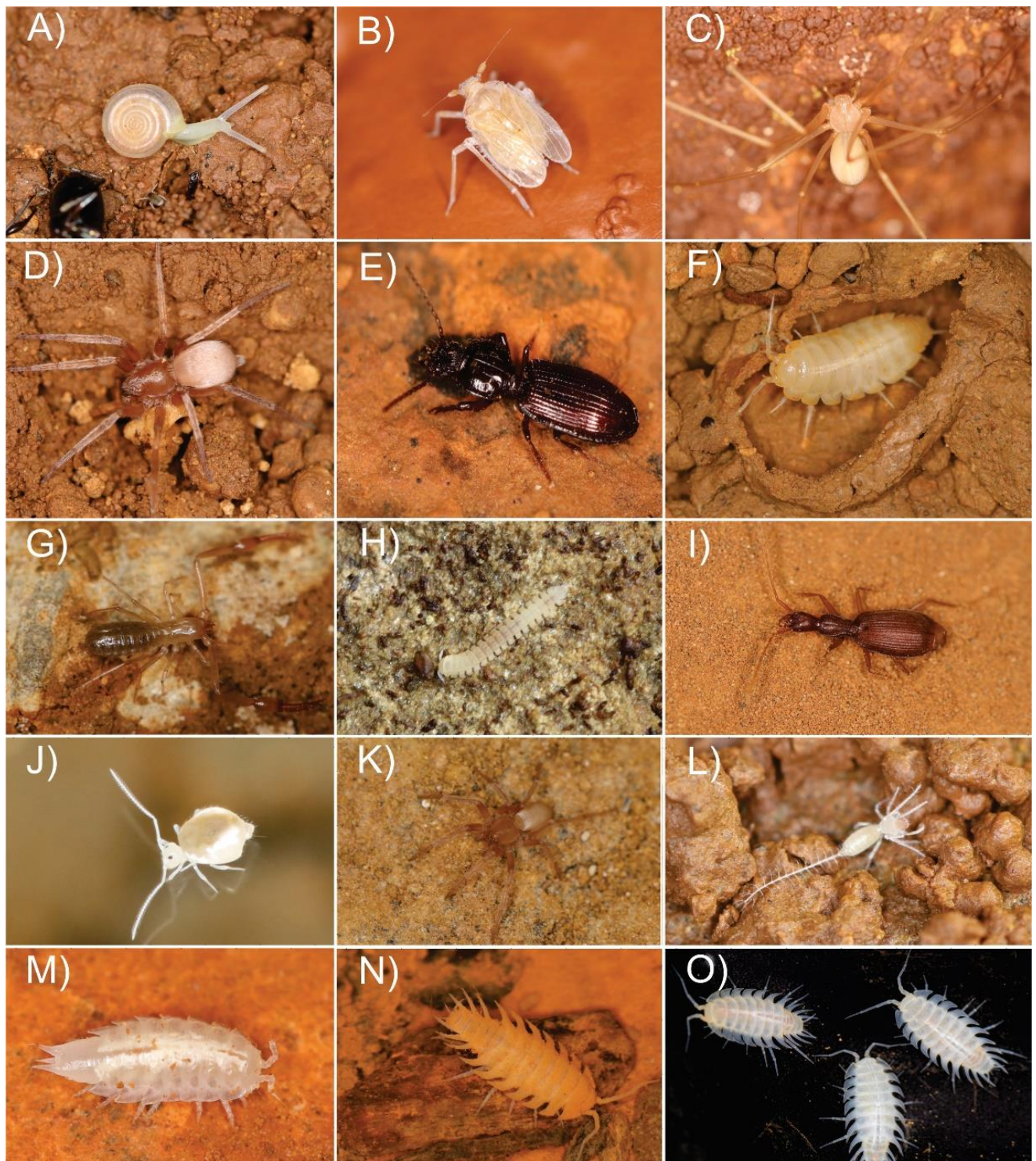


Figure 6: Some of troglobitic species sampled during the studies. (A) Pulmonata (Gastropoda), (B) *Iuiuia caeca* (Hemiptera: Kinnaridae), (C) *Loxosceles troglobia* (Araneae: Sicariidae), (D) *Lygromma* (Araneae: Prodidomidae), (E) *Schizogenius* (Coleoptera: Carabidae: Scaritini), (F) Styloniscidae (Isopoda), (G) *Spelaeobochica iuiu* (Pseudoscorpiones: Bochicidae), (H) Pyrgodesmidae (Polydesmida), (I) *Thalpius* (Coleoptera: Carabidae), (J) *Disparrhopalites* (Symphyleona: Sminthuridae), (K) *Lygromma* (Araneae: Prodidomidae), (L) *Eukoenia* (Paplpigradi: Eukoeniidae), (M) *Pectenoniscus* (Isopoda: Styloniscidae), (N, O) *Iuiuniscus iuiuensis* (Isopoda: Styloniscidae). Photos: Rodrigo Lopes Ferreira.

Despite the lux zone, we found that 52.56% of the sectors in the aphotic zone contained troglobitic species (41 sectors in a total of 78), whereas, in the photic zone, only 36.11% of the sectors had troglobitic species (13 sectors out of 36).

Habitat structure

The Principal Components Analysis reveals that there is variation in the habitat structure in relation to the cave zone (Figure 2), regardless of the spatial scale analyzed. As expected, the photic zone presented a more complex physical structure and lower humidity compared to the aphotic zone.

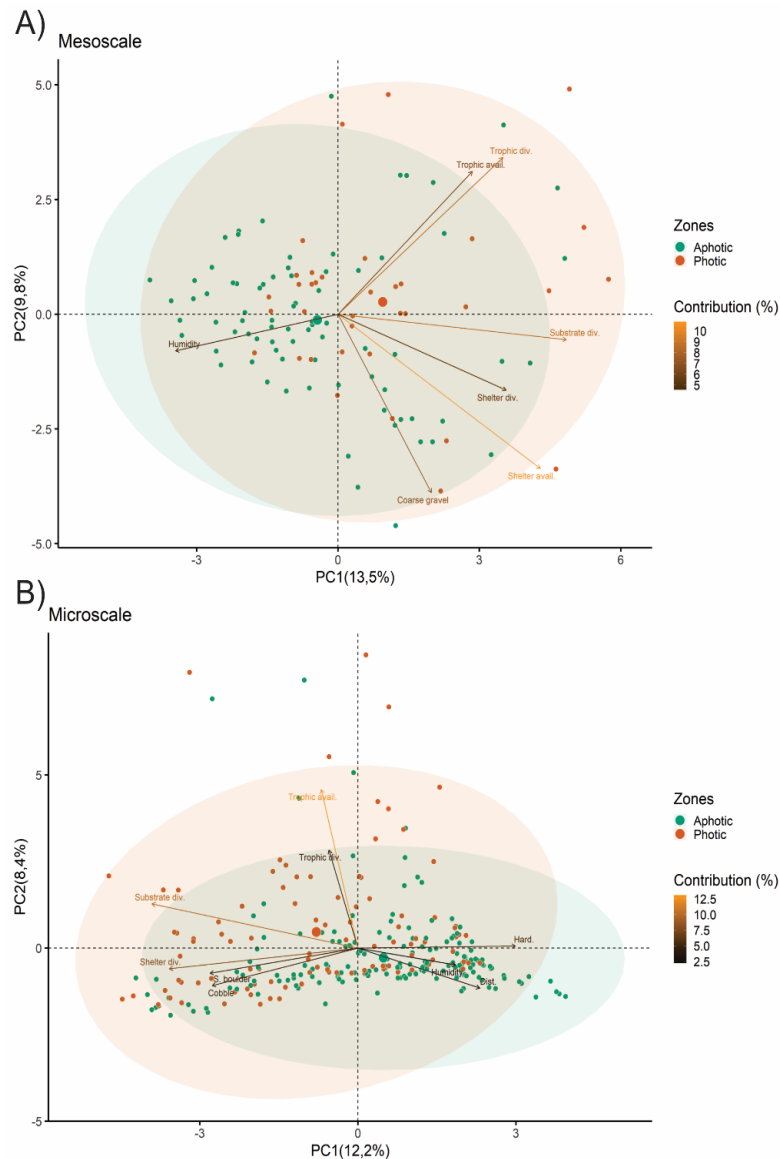


Figure 2: Principal components analysis (PCA) in both scales (sectors (A) and quadrants (B)) showing variations in caves habitat attributes between aphotic and photic zones. Arrow colors represent the contribution of each abiotic variable on component axes.

At the mesoscale, several variables play a crucial role, including trophic resource diversity and availability, substrate diversity, shelter diversity and availability, humidity, and

coarse gravel. Similarly, at the microscale, the key variables are trophic resource diversity and availability, substrate diversity, shelter diversity, small boulder, cobble, hardpan, humidity, and distance from the cave entrance.

Regarding the relationship of abiotic variables with distance from the nearest entrance, only humidity and shelter diversity showed a significant relationship. The humidity displayed a positive relationship with distance from the entrance (AICc= -17.806, $R^2= 0.16894$, $p= 0.001$), while the shelter diversity exhibited a negative relationship with distance from the entrance (AICc= -6.4514, $R^2= 0.0811$, $p= 0.004$). Furthermore, the average humidity in the aphotic zone was 82.31% (sd= 11.58), which is higher than the 75.21% (sd= 12.146) observed in the photic zone. Additionally, despite temperature differences, the average temperature in the aphotic zone was slightly lower (24.14°C, sd= 1.426) than that in the photic zone (24.65°C, sd= 1.795).

Relationship between habitat structure and invertebrate richness in different cave lux zones

Our best models, in mesoscale, revealed that the species richness responses varied among the selected groups of invertebrates. In most cases, when we considered the richness of the whole fauna as the response variable, the humidity and trophic variables showed a positive effect, while the distance from entrance and retraction cracks had a negative effect on the richness. Table 3 lists the variables selected in each model, and some of the relationships are shown in Figure 7.

Whole fauna
Mesoscale

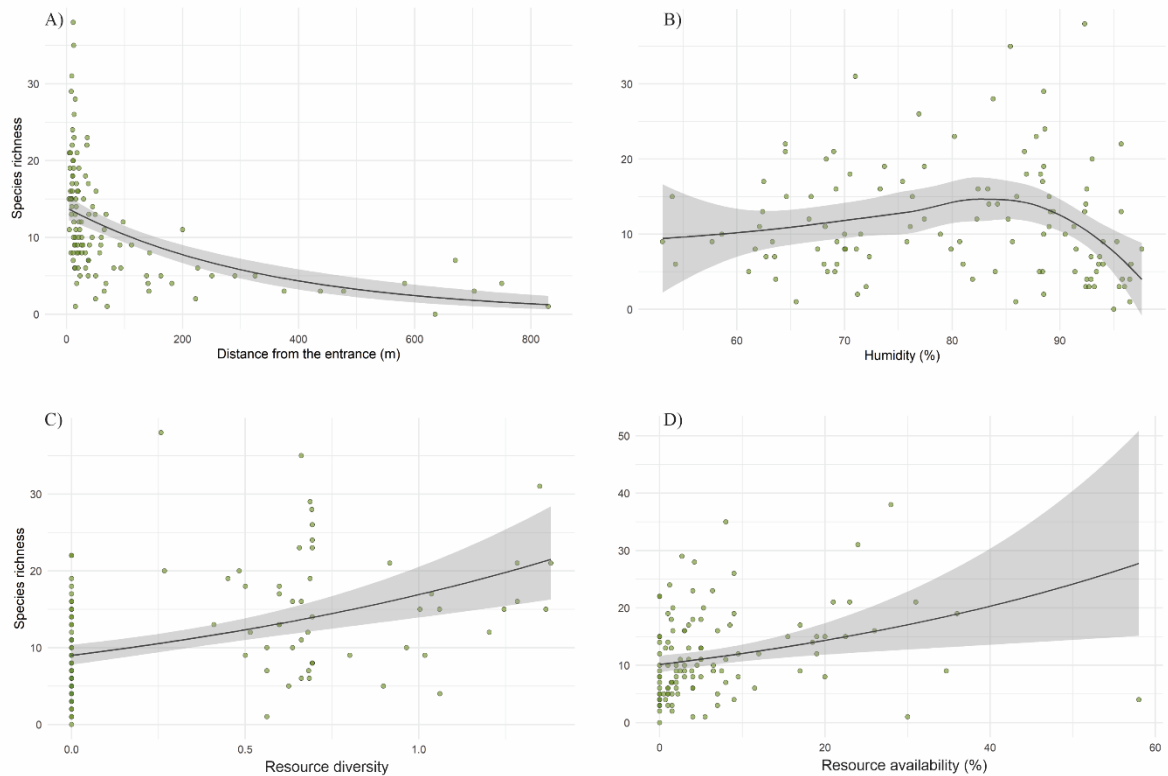


Figure 7: Relationships found by the best selected models in mesoscale for the whole fauna. A negative effect of the distance from the nearest entrance (A), positive effect with humidity (B), trophic resource diversity (C) and trophic resource availability (D).

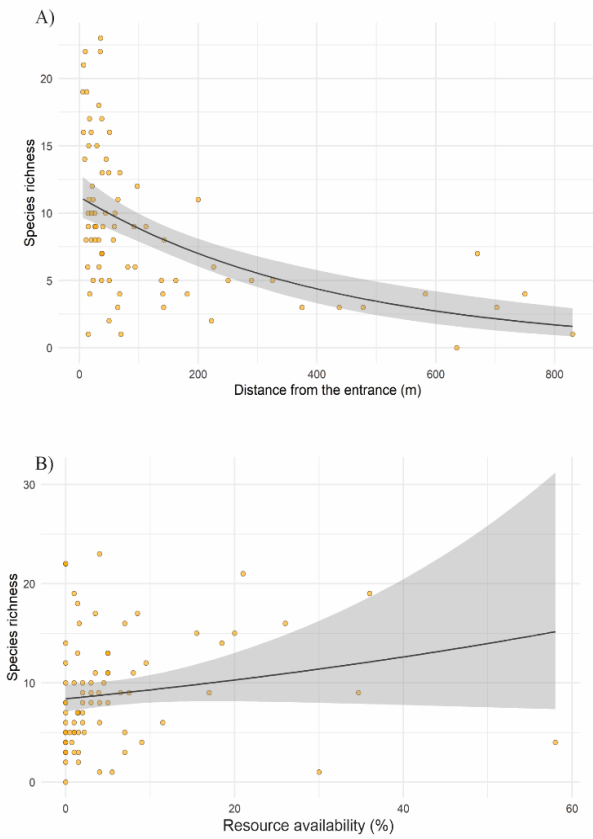
For the aphotic zone, the selected models revealed that the richness of invertebrates increased with the rise in the availability of organic resources and decreased with the distance from the entrance (Table 3, Figs 8-a, b). Considering the fauna sampled in the photic zone, our models indicated that species richness increased in response to rise of the humidity, availability of organic resources, and plant debris, while it decreased with distance from the entrance and rough rock percentage (Table 3, Figs 8-c, d).

Table 3: Results of the selected generalized linear models (GLM) investigating the effects of the predictors on the species richness of both the photic and aphotic zones (whole fauna), as well as the separately zones of light. (A) The best model including the available classes for whole fauna ($\text{adjR}^2 = 0.4808$, $\text{AIC} = 691.65$), aphotic ($\text{adjR}^2 = 0.3707$, $\text{AIC} = 447.05$), and photic ($\text{adjR}^2 = 0.46$, $\text{AIC} = 231.79$); (B) the best models including the substrate elements for general fauna ($\text{adjR}^2 = 0.544$, $\text{AIC} = 680.79$), aphotic ($\text{adjR}^2 = 0.3305$, $\text{AIC} = 449.86$) and photic ($\text{adjR}^2 = 0.5354$, $\text{AIC} = 230.41$). Distance from the entrance (Entr. dist.), Humidity (Humid.), trophic resource (Res.).

Species richness	Predictor variables	Estimate	SE	z	P
a) Model with trophic and shelter availability					

Whole fauna	Entr. dist.	-0.0031	0.0004	-7.28	3.36^{-13}
	Humid.	0.0152	0.0041	3.664	2.48^{-04}
	Res. Diversity	0.343	0.126	2.716	6.61^{-03}
	Res. Availability	0.0135	0.0058	2.329	0.02
Aphotic zone	Entr. Dist.	-0.0024	0.0004	-6.068	1.3^{-09}
	Res. Availability	0.014	0.0062	2.239	0.025
Photic zone	Humid.	0.025	0.005	4.929	8.25^{-07}
	Res. Availability	0.02	0.006	3.05	2^{-03}
b) Model with substrate elements					
Hole fauna	Entr. Dist.	-0.003	0.0004	-6.774	1.25^{-11}
	Humid.	0.015	0.004	3.803	1.43^{-04}
	Tr. Diversity	0.59	0.11	5.332	9.7^{-08}
	Plant Debris	0.0246	0.0093	2.656	7.9^{-03}
	Fine Gravel	0.0077	0.0039	1.969	0.049
	Crack	-0.0189	0.0063	-2.997	2.7^{-03}
Aphotic zone	Entr. Dist.	-0.0023	0.0004	-5.652	1.58^{-08}
Photic zone	Entr. Dist.	-0.029	0.012	-2.486	0.013
	Humid.	0.0229	0.0046	5.0	5.74^{-07}
	Plant Debris	0.0291	0.009	3.237	1.2^{-03}
	Rough Rock	-0.0135	0.0068	-1.992	0.0464

Aphotic zone
Mesoscale



Photic zone
Mesoscale

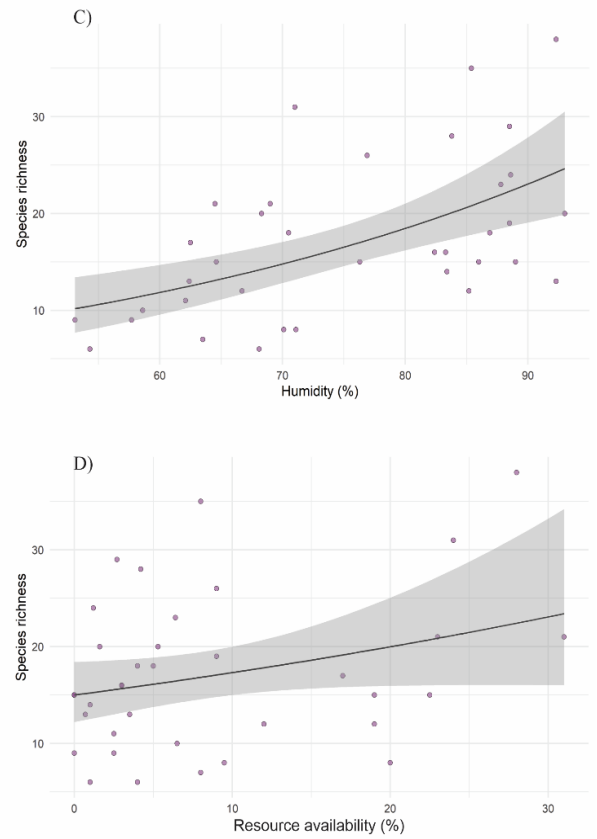


Figure 8: Relationship between the species richness with distance from nearest entrance (A) and trophic availability (B) in the aphotic zone. The effects of humidity (C) and trophic resource availability (D) on photic zone richness.

Despite the microscale analysis, we also found differences in the responses between the selected groups of invertebrates. For whole fauna, the distance from the entrance continued to negatively affect the species richness and it increased with the rise of the humidity (Table 4). Additionally, the models show that shelter diversity, substrate diversity, trophic resource diversity, and availability of resources had a positive influence on the species richness (Figure 9), whereas fine gravel had a negative effect on that.

Whole fauna
Microscale

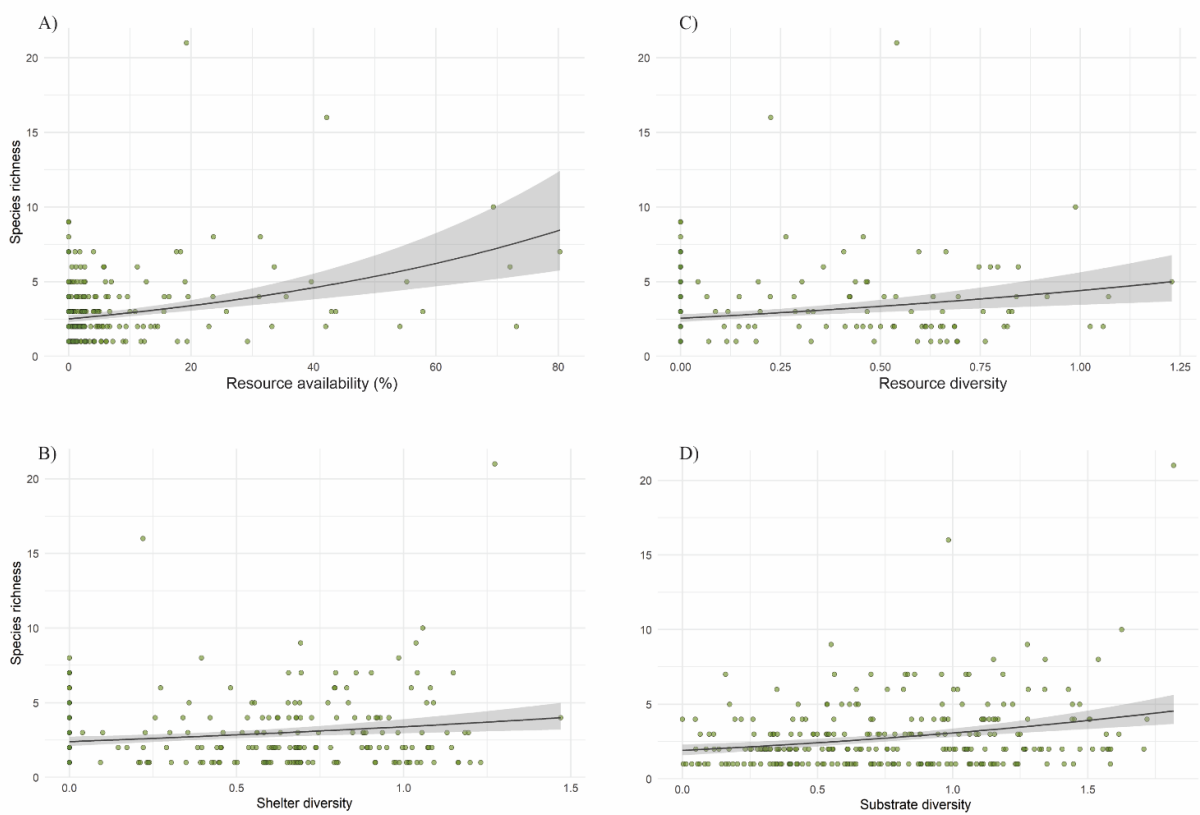


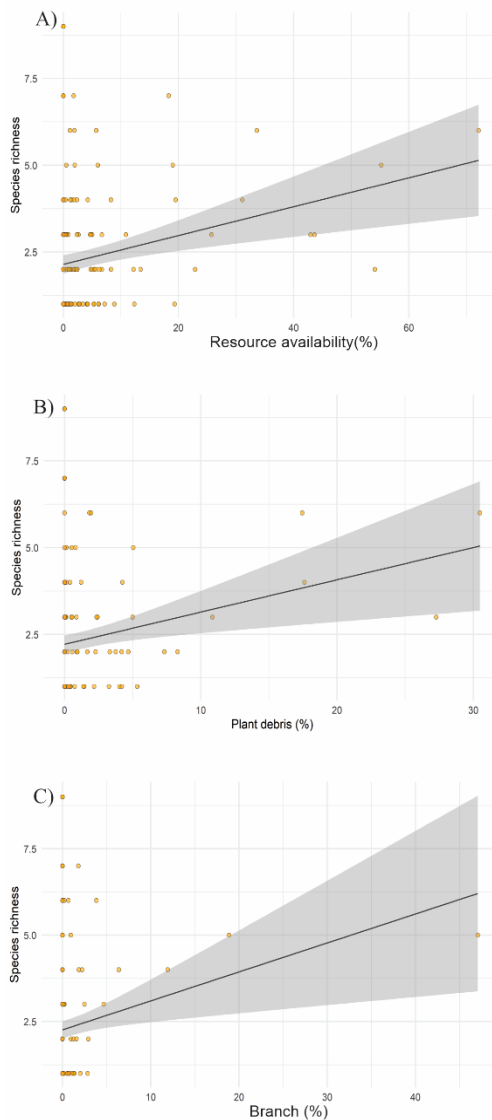
Figure 9: The relationships founded by the selected models in microscale for the whole fauna. Positive effects of trophic resource availability (A), shelter diversity (B), trophic resource diversity (C) and substrate diversity (D).

Based on the models used to investigate the response of the species richness in aphotic zone, we found that the distance from the entrance continued to negatively affect this community component. Nevertheless, we also observed that the predictors such as resource availability, plant debris, branches, and silt are important in increasing species richness in this zone (Figs 10A, B, C). Finally, the models used to investigate the response of species richness inside the photic zone, showed a positive relationship with humidity, shelter diversity, resource availability, roots, leaf litter, and branches (Figs 10D, E, F).

Table 4: Results of the selected generalized linear mixed models (GLM) of the effects of the predictors variables on the species richness of both the photic and aphotic zones (whole fauna), as well as the individual zones. (A) The best model including the classes of resource and shelter availability for whole fauna ($cR^2 = 0.3285$, AIC = 1262.2), aphotic ($cR^2 = 0.095$, AIC = 586.6), and photic ($cR^2 = 0.281$, AIC = 433.1); (B) the best models including the elements of the substrate for whole fauna ($cR^2 = 0.3142$, AIC = 1269.4), aphotic ($cR^2 = 0.1193$, AIC = 585) and photic ($cR^2 = 0.3426$, AIC = 424.3). Distance from the entrance (Entr. dist.), Humidity (Humid.), Shelter (Sh.), trophic resource (Res.), Substrate (Sub.).

Species richness	Predictor variables	Estimates	SE	z	P
a) Model with trophic and shelter availability					
Whole fauna	Entr. distance	-0.0029	0.0005	-5.766	8.14 ⁻⁹
	Humid.	0.0113	0.0042	2.726	6.4 ⁻³
	Sh. Diversity	0.3644	0.113	3.209	1.33 ⁻³
	Res. Diversity	0.381	0.173	2.201	0.028
	Res. Availability	0.0137	0.0034	4.052	5.08 ⁻⁵
Aphotic zone	Entr. Distance	-0.0011	0.0004	-2.415	0.016
	Res. Availability	0.0115	0.0037	3.075	2.11 ⁻⁰³
Photic zone	Humid.	0.0205	0.005	3.999	6.36 ⁻⁰⁵
	Sh. Diversity	0.506	0.148	3.415	6.38 ⁻⁰⁴
	Res. Availability	0.014	0.0033	4.156	3.24 ⁻⁰⁵
b) Model with substrate elements					
Whole fauna	Humid.	0.00994	0.0042	2.363	0.0181
	Entr. Distance	-0.0027	0.0005	-5.188	2.13 ⁻⁰⁷
	Sub. Diversity	0.4371	0.12	3.648	2.65 ⁻⁰⁴
	Res. Diversity	0.5121	0.1693	3.025	2.5 ⁻³
	Fine Gravel	-0.0112	0.0049	-2.291	0.022
Aphotic zone	Entr. Distance	-0.0011	0.000	-2.360	0.0183
	Plant debris	0.024	0.0098	2.482	0.0131
	Branch	0.019	0.0085	2.206	0.0274
	Silt	0.0028	0.0014	2.075	0.0380
Photic zone	Humid.	0.0197	0.0048	4.126	3.70 ⁻⁰⁵
	Sh. Diversity	0.535	0.138	3.869	1.09 ⁻⁰⁴
	Roots	0.032	0.007	4.683	2.83 ⁻⁰⁶
	Leaf Litter	0.0222	0.007	3.108	1.883 ⁻⁰³
	Branch	0.055	0.019	2.959	3.09 ⁻⁰³

Aphotic zone Microscale



Photic zone Microscale

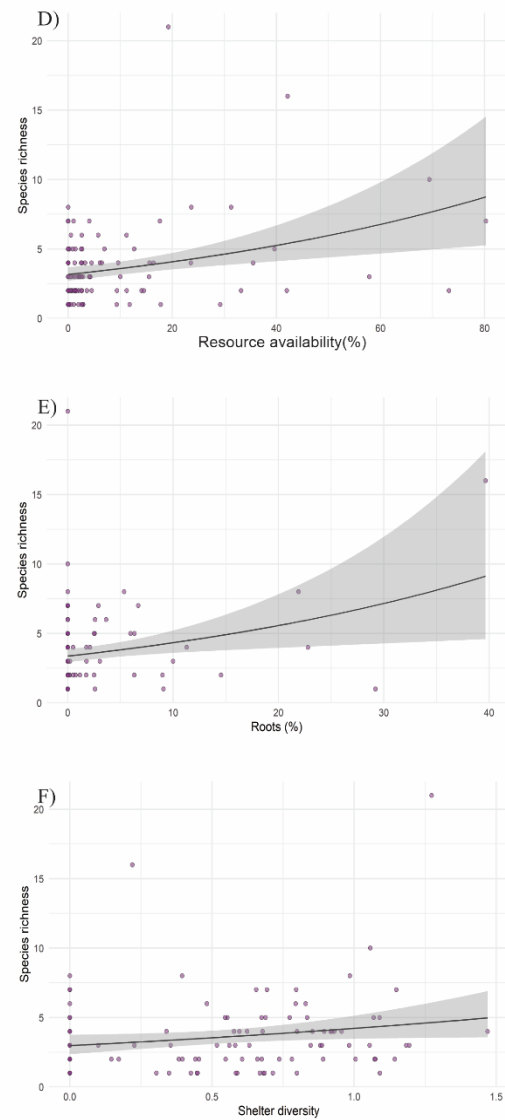


Figure 10: Relationship between the species richness with trophic resource availability (A), plant debris (B) and branch percentage (C) in the aphotic zone. The effects of trophic resource availability (D), roots percentage (E) and shelter diversity on photic zone richness (F).

In summary, we observed that humidity, rough rock, shelter diversity, roots, and leaf litter have a significant effect on the photic zone species richness but had no effect on the aphotic zone. Conversely, we found that the amount of silt was the sole predictor that exclusively influenced the richness of the aphotic zone.

Relationship between habitat structure and invertebrate composition in different cave lux zones

Considering the models in mesoscale, the geographic distance, microclimatic variables, and crack explained the composition variable for whole fauna. Despite the aphotic zone, geographic distance, microclimatic variables, organic matter (fish carcass and coconut),

and cracks, in the photic zone, only geographic distance and microclimatic variables explained the composition. All the selected variables are shown in Table 5.

Table 5: The selected predictors of the species composition variations in the different zones. (E.D) Distance from the entrance, (G.D) geographic distance, (Hu.) humidity, (T.) temperature, (Cr.) cracks, (O.M.) organic matter, (Sil.) silt, (S.D.) substrate diversity, (R.A.) resource availability, (Fe) feces, (P.D.) plant debris, (Sp.) speleothems, (F.G.) fine gravel, (S.B.) small boulder, (S.A.) shelter availability, (S.D.) substrate diversity, (R.R.) rough rock, (Br.) branches.

Spatial scale	Group	Predictor	adjR ²	R ²	P
Mesoscale	Whole fauna	E.D.+ G.D.+ Hu. + T.+ Cr.	9.52 ⁻⁰²	0.144	0.0001
	Aphotic zone	G.D.+ E.D.+ O.M.+ Hu. + T+ Cr.	0.1258	0.2064	0.0001
	Photic zone	G.D.+ Hu. + T.	0.1218	0.222	0.0001
Microscale	Whole fauna	G.D.+ Hu. + E.D.+ Sil. + T+ S.D.+ Cr+	6.76 ⁻⁰²	0.1022	0.0001
	Whole fauna	R.A.+ Fe			
	Aphotic zone	G.D.+ Hu. + E.D.+ Cr.+ Sil+ T+ P.D.+ Sp.+ F.G.+ S.B.+ S.A.+ S.D.+ R.R.+ Br.	0.1123	0.192	0.0001
	Photic zone	Hu. + G.D.+T.+ Sil. + E.D.+ Fe.	6.54 ⁻⁰²	0.13	0.0001

Furthermore, the models using microscale variables revealed that the composition of the whole fauna was influenced by geographic distance, microclimatic variables, and some components of the substrate (silt, cracks, and feces) (Table 5). Furthermore, despite the aphotic zone, the communities' composition was influenced by the combination of microclimatic variables, geographic distance and distance from entrances, and microhabitat structure. For the photic zone, the faunal composition was also influenced by geographic distance and from the entrances, microclimatic, and microhabitat variables.

Discussion

A multi-spatial approach is essential and recommended when trying to understand how communities are structured in space and time. This occurs because organisms of different body sizes and dispersal abilities perceive their environment in different ways (Pellegrini et al., 2016; Cardoso, 2017; Mammola et al., 2019a; Cardoso et al., 2022). Our study found consistent differences in habitat structure between the evaluated light zones, as well as differences in their trophic and microclimatic conditions. We found that the photic regions have greater environmental heterogeneity, and as the distance from the entrances increases, this heterogeneity gradually decreases, becoming a more homogeneous environment. In this sense, the gradient of environmental heterogeneity, microclimatic, and trophic directly affects the spatial structure of subterranean communities (as shown in Figure 11)

As expected, communities associated with the photic zones showed a high diversity of invertebrates when compared to communities in the aphotic regions, regardless of the spatial

scale analyzed. Our results support the hypothesis that communities associated with different zones of the cave respond differently to habitat structure and microclimatic and trophic conditions. Furthermore, we demonstrate that the fauna associated with the photic zones is more similar to each other, while communities in aphotic regions are more dissimilar.

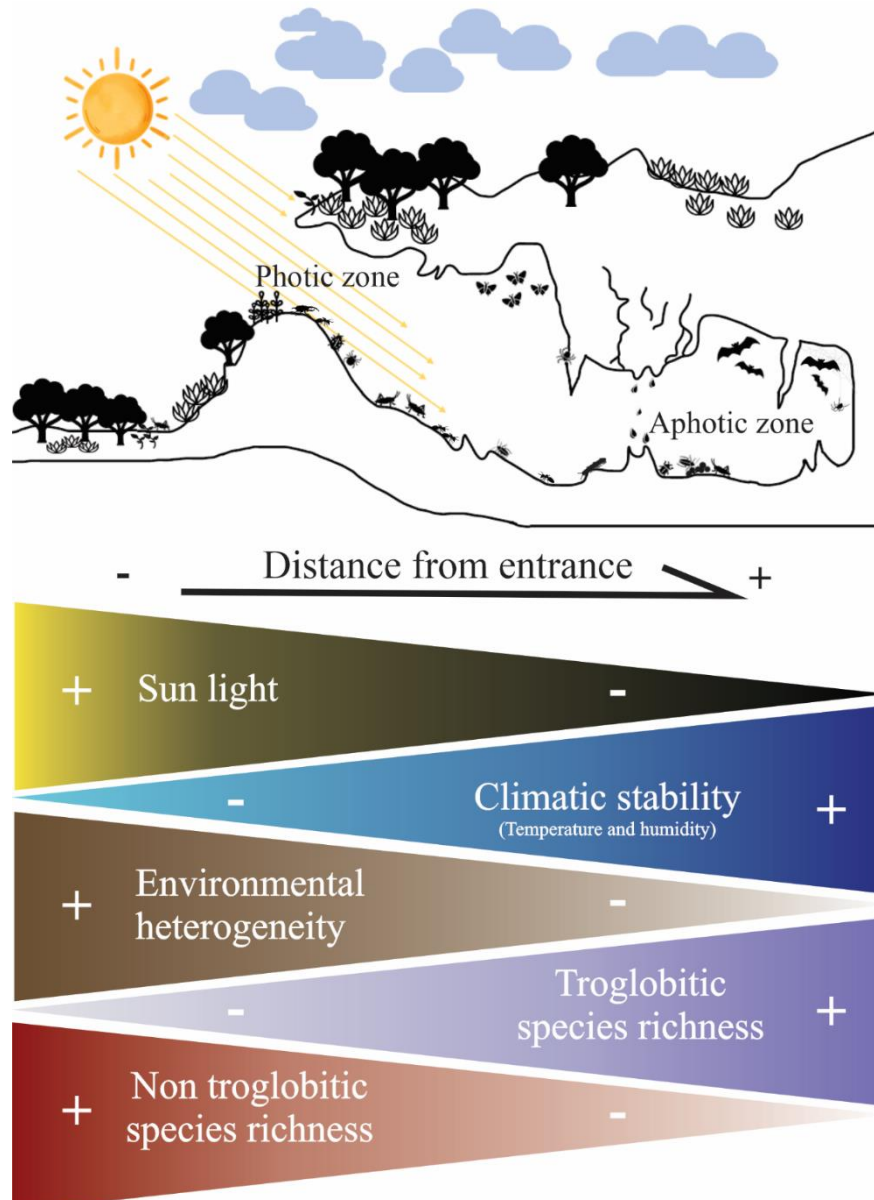


Figure 11: A infographic showing the environmental gradients found in a typical cave ecosystem in relation to distance from entrance and, their effects on the richness of troglobitic and non-troglobitic species. Stronger colors indicate greater values (+), while lighter colors indicate lesser values (-) off the selected variable.

Effects of habitat structure on invertebrates' communities

The photic zones, which are areas of the cave exposed to light and closely associated with the entrance regions, are transitional environments between the surface and subterranean realms, i.e., an ecotone (Prous, et al., 2004, 2015; Moseley, 2009). This environmental characteristic results in richer and more diverse communities, composed of para-epigean and

para-hypogean species (Prous, et al., 2004). Our study supports this relationship, as photic regions tend to have higher species diversity compared to the aphotic regions.

Cave entrances act as "windows" of resource catchment from the surface environment to the subterranean environment, increasing the quantity and diversity of organic and inorganic substrates in the cave (Peck, 1976; Prous, et al., 2004, 2015; Mammola, 2019; Rabelo, et al., 2021). As a result, entrance regions are considered to have high environmental heterogeneity, in contrast to deeper locations in the caves (Poulson & White, 1969; Mammola, 2018; Souza-Silva, et al., 2021). Environmental heterogeneity is related to the presence of irregularities, recesses, porosities, and discontinuities in the cave floor, as well as the micro and macro spaces created by the overlapping of gravel and blocks of different sizes, roughness, and shapes (Ferreira & Souza-Silva, 2001; Ferreira, et al., 2009, Reis-Venâncio, et al., 2022). These sites provide greater availability of potential habitats to be colonized and occupied by fauna, resulting in a high richness of non-troglobitic species (Souza-Silva, et al., 2021). Additionally, greater availability of habitats allows for a reduction in niche overlap and antagonistic ecological interactions, enabling the coexistence of potentially competing species (Tews, et al., 2004; Arellano, et al., 2016; Ferreira & Pellegrini, 2019; Souza-Silva, et al., 2021; Reis-Venâncio, et al., 2022). As demonstrated by Mammola, et al. (2016), niche-based dynamics are much more common than previously thought and are now considered expected rather than exceptions for subterranean environments.

In addition, the regional species pool (Rabelo, et al., 2021) and harsh surface environmental conditions, combined with the increasing rates of deforestation (Souza-Silva, et al., 2015; Cardoso, 2017; Cardoso et al., 2021, 2022), could cause epigeic species to move towards entrance regions (para-epigeic fauna) in search of trophic resources and more humid areas. This movement, in turn, may positively affect the local richness (Rabelo, et al., 2021). It should be noted that since the study was conducted in a semi-arid region with a known history of deforestation, relationships like this are more pronounced (Salazar, et al., 2007; Lessa, et al., 2018; Antongiovanni, et al., 2020; Cardoso, et al., 2021, 2022; Bento, et al., 2021). Cardoso, et al. (2021) studied caves in the karstic landscape of Iuiú and Malhada and highlighted the urgent need for conservation actions due to the high diversity of both troglobitic and non-troglobitic species and the various types and degrees of impact that the region has been experiencing, such as agro-pastoral activities, mining, road construction, and mainly deforestation. These activities have an impact on the entrance zone, as the removal of vegetation in its proximity can drastically affect the microclimatic conditions and energy supply of the area, which are vital for the maintenance and structuring of the fauna found

there (Prous, et al., 2015). The conversion of native forest can quickly lead to disturbances in the subterranean environment, leading to the extinction of troglobitic species (considered highly sensitive to changes in the environment) and endemic species (Reboleira, et al., 2011).

On the contrary, aphotic regions present lower richness when compared to photic communities. This fact is closely related to the characteristic and restrictive conditions of subterranean environments, such as permanent absence of light, high humidity, and oligotrophy. These conditions limit the presence and establishment of organisms without some sort of pre-adaptation or not specialized to the underground environment, resulting in a reduced diversity environment (Poulson & White, 1969, Souza-Silva, et al. 2011, 2021; White & Culver, 2011; Mammola, 2018; Moldovan, et al., 2018). Species that can explore and establishing themselves in these environments with scarce resources have physiological, morphological, and behavioral traits that promote greater effectiveness in consuming available resources, greater resistance to long periods of scarcity, among other means, promoting greater success in the underground environment (Howarth, 1983,1993; Hüppop, 2005; Culver & Pipan, 2015).

These species have a strong evolutionary history linked to subterranean environments, resulting in a high ecological specificity to the inherent characteristics of deep zones. This specificity leads to a high degree of endemism, with species occurring even in a single cave. In addition, due to their high ecological specificity related to the characteristics of deep zones in subterranean environments, these species have a limited spatial distribution (Mammola, et al, 2019b; Cuff, et al., 2021; Nicolosi, et al., 2021; Souza-Silva, et al., 2021; Furtado-Oliveira, et al., 2022), and are mainly found in distant regions, in the aphotic zones. Souza-Silva, et al. (2021) have observed a trend of decreasing overlap between troglobitic and non-troglobitic species, with the former being more common in deep regions with low resource availability and the latter being more common in regions closer to entrances with higher resource availability, indicating a decrease in the proportion of troglobite/non-troglobite species with increasing distance from the entrance.

Although invertebrate richness is lower in aphotic regions, our results indicate a positive relationship between the richness of invertebrates in aphotic zones and the availability of trophic resources, such as plant debris and branches, despite the lower richness of invertebrates in aphotic regions. This demonstrates that, even in notoriously oligotrophic environments, resources play an important role in structuring the fauna, resulting in increased local richness. Subterranean environments are strongly linked and dependent on their surroundings (Schneider, et al., 2011, Souza-Silva, et al., 2011; Culver & Pipan, 2019;

Rabelo, et al., 2021; Souza-Silva & Ferreira, 2022), since most of the available resources in the subterranean environment originate from the external environment. In Brazil, forest environments are an example where a large amount of organic matter produced on the surface in the form of animal and plant structures is transported into the subterranean ecosystem through distinct ways (Cardoso, et al., 2021, 2022; Souza-Silva, et al., 2021). This relationship can even be observed throughout sampling events, where a greater association of invertebrates with the available organic resources was verified (Pellegrini & Ferreira, 2012)

Large concentrations of resources in the subterranean environment are often rare and dispersed, and they can act not only as a source of organic matter but also as an "attractor" of cave fauna (Schneider, et al., 2011), providing the presence of predators searching for potential prey attracted by the available resource. From an ecosystem perspective, trophic resources also provide shelter for fauna, in addition to exhibiting favorable microclimatic conditions for reproduction purposes (Souza-Silva, et al., 2011; Souza-Silva & Ferreira, 2022). It is worth noting that the availability of resources, besides being crucial for the survival of subterranean species, is also essential for maintaining biodiversity and ecosystem stability. Habitat loss, both in the surface environment and within the caver realm itself, can reflect cascade effects throughout the subterranean ecosystem (Cardoso, et al., 2022).

Based on what has been presented, the presence of environmental gradients in relation to conditions and resources in subterranean environments is evident. Regions close to the entrance are more heterogeneous, whereas aphotic regions tend to be more homogeneous. The variations along these gradients reflect differently in the structuring of the communities associated with the different zones.

Compositional variations also show certain divergences in relation to photic and aphotic zones. This is mainly caused by the effects of physical and trophic elements that predominate in each region, directly influencing their heterogeneity and thus the composition of associated communities. In addition, the microclimatic gradient also varies depending on the distance from the entrance (Badino, 2010; Mammola, 2019), causing a compositional differentiation of species along this gradient, as different species have distinct physiological/ecological tolerances. Microclimatic conditions end up modulating the spatial distribution, especially of non-trogomorphic species, since seasonal and/or daily variations in conditions and resources lead species to search for habitats favorable to their survival (Mammola, et al., 2018; Mammola, et al., 2020; Ferreira, et al., 2015).

Considering only the communities of photic zones, microclimatic conditions (temperature and humidity), geographic distance, distance from the entrance, and feces of

mocó (*Kerodon rupestris*) influence the species composition. As discussed earlier, entrances have microclimatic conditions that are more favorable compared to surface environments, leading to an increase in species richness and diversity. Thus, these better conditions for not only favor invertebrates but also some vertebrate species.

In the study area, it was common to observe *K. rupestris* individuals using exclusively entrance regions as shelter and were absent in aphotic regions. By using these regions, they also produce large amounts of feces, which can be used by different species, significantly affecting the composition of invertebrates where these rodents are present (Souza-Silva & Ferreira, 2022). There are few published papers specifically addressing the species associated with these fecal deposits, with only one study describing the association of Psocodea order individuals with *K. rupestris* feces (Ferreira & Martins, 1999; Souza-Silva & Ferreira, 2022). Our study highlights the importance of this organic resource in the composition of communities associated with these deposits.

Geographic distance also plays an important role in structuring the faunal composition, especially in photic zones, where the regional species pool is crucial for maintaining this community. The regional species pool includes transient species that compose the communities associated with these regions, which are capable of transiting through the epigeal environment and, therefore, between entrances of different and even distant caves, leading to the sharing of individuals (Prous, et al., 2004, 2015; Rabelo, et al., 2021). As a result of this species sharing, the communities associated with different cave entrances exhibit greater faunal similarity (Souza-Silva, et al. 2020; Rabelo, et al., 2021; Reis-Venâncio, et al., 2022).

The composition of the communities in aphotic zones was also influenced by geographic distance, resulting in greater faunal dissimilarity between different caves (Mammola, et al., 2020; Souza-Silva, et al., 2020; Reis-Venâncio, et al., 2022). Despite caves being considered a habitat that integrate a network of fissures and subsurface channels permeating the karst system, they are still regarded as semi-isolated environments (Pipan & Culver, 2007; Mammola, 2019; Souza-Silva, et al. 2020), which limits species dispersion and mobility, even among nearby caves, reflecting in a low species sharing and consequently high compositional dissimilarity. Corroborating with the findings by the study of Reis-Venâncio, et al. 2022, spatially close caves have distinct faunal identities, especially in aphotic zones, and greater faunal similarity in regions near the entrance, and this finding has significant implications for cave biodiversity conservation.

In parallel, the distance from the entrance also leads to greater dissimilarities in aphotic regions, as the ecotonal region (present in cave entrances) acts as a semi-permeable filter (Moseley, 2009), imposing barriers and selecting species pre-adapted to the characteristic conditions of aphotic regions. This filter is composed of both biotic factors, such as predation, and abiotic factors, such as resource scarcity, absence of light, and other environmental conditions (Prous, et al., 2015). These barriers primarily act in selecting species capable of establishing viable populations in the deep subterranean realm, increasing the dissimilarity between communities present within a single cave and among different caves (Prous, et al., 2004, 2015).

The semi-permeable membrane present in entrance regions also constantly acts on the organisms already established in the subterranean environment. Many of these species choose to remain in this environment, avoiding movements and incursions to the epigeal region, even though it is a recognized richer environment in resources. This behavior is due to the filters imposed by the membrane (Prous, et al., 2015), leading once again to the greater dissimilarity of communities in aphotic regions.

The high and stable humidity throughout the year is an important structuring factor for the fauna associated with aphotic zones. Due to the high moisture saturation, these regions are favorable for troglotic species, which have an evolutionary history closely linked to the hypogean environment, making them more sensitive to desiccation. This intimate relationship with the saturated environment led these species to have a thin and extremely permeable cuticle (Howarth, 1983; Mammola, 2019, Mammola, et al., 2020, Souza-Silva, et al., 2021). However, humidity is also a limiting factor for communities in photic regions. As these regions are more humid compared to the epigeal environment, they are preferred by epigeal fauna, resulting in the differentiation of species established in more and less humid areas.

Finally, physical elements that contribute to the availability and variation of potential habitats play a significant role in the composition of fauna, even in regions considered more homogeneous. Small variations in the structure of these regions lead to a greater diversity of species (Furtado-Oliveira, 2019; Cardoso, et al., 2022; Furtado-Oliveira, et al., 2022). Organic resources are also important since a greater variety of resources are explored and consumed by species with different specializations and dietary preferences. Plant-based resources have a strong influence on species richness, emphasizing the importance of these allochthonous resources in the spatial structuring of subterranean fauna (Cardoso, et al., 2022). Therefore, the influence of these resources and habitat components should be considered and treated as

keystone elements (Tews, et al., 2004) in subterranean environments, essential for promoting greater richness and diversity.

Conclusions

It is crucial for researchers and managers to deeply consider the variations in habitat structure, microclimate conditions, and resource diversity present in the subterranean environments. These considerations are essential when developing and improving management methods that promote the conservation of a wide variety of organisms, ecological processes, and endangered species. Moreover, understanding these gradients is essential when seeking to enhance knowledge about the ecology, evolution, and prevailing processes in the underground ecosystem.

It is worth noting that communities living in different areas of caves respond differently to habitat structure, microclimatic conditions, and available resources. As a result, this variation must be considered in future studies and the development of management plans. Additionally, the external environment's resources play a critical role in supporting the invertebrate community, especially those associated with the deeper regions of caves. This underscores the importance of preserving the surrounding environment to maintain ecological processes within the cave ecosystems.

References

- Alvares, C. A., Stape, J. L., Sentelhas, P. C., de Moraes Gonçalves, J. L., & Sparovek, G. (2013). Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, 22(6), 711–728. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>
- Anderson, M. J. (2014). Permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA). Wiley statsref: statistics reference online, 1-15. <https://doi.org/10.1002/9781118445112.stat07841>
- Anderson, M. J., Gorley, R. N., & Clarke, K. R. (2008). PERMANOVA+ for PRIMER: Guide to software and statistical methods. Massey University, Albany Campus, Auckland, New Zealand.
- Antongiovanni, M., Venticinque, E. M., Matsumoto, M., & Fonseca, C. R. (2020). Chronic anthropogenic disturbance on Caatinga dry forest fragments. *Journal of Applied Ecology*, 57(10), 2064-2074. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13686>
- Apgaua, D. M. G., dos Santos, R. M., Pereira, D. G. S., de Oliveira Menino, G. C., Pires, G. G., Fontes, M. A. L., & Tng, D. Y. P. (2014). Beta-diversity in seasonally dry tropical forests (SDTF) in the Caatinga Biogeographic Domain, Brazil, and its implications for

- conservation. *Biodiversity and Conservation*, 23(1), 217–232. <https://doi.org/10.1007/s10531-013-0599-9>
- Arellano, G., Umaña, M. N., Macía, M. J., Loza, M. I., Fuentes, A., Cala, V., & Jørgensen, P. M. (2017). The role of niche overlap, environmental heterogeneity, landscape roughness and productivity in shaping species abundance distributions along the Amazon–Andes gradient. *Global Ecology and Biogeography*, 26(2), 191–202. <https://doi.org/10.1111/geb.12531>
- Badino, G. (2010). Underground meteorology—"What's the weather underground?" *Acta Carsologica*, 39(3), 427–448. <https://doi.org/10.3986/ac.v39i3.74>
- Bartoń, K. (2022). MuMIn: Multi-Model Inference. R package version 1.47.1. <https://CRAN.R-project.org/package=MumIn>
- Bento, D. M., Souza-Silva, M., Vasconcellos, A. C., Bellini, B. C., Prous, X., & Ferreira, R. L. (2021). Subterranean "oasis" in the Brazilian semiarid region: neglected sources of biodiversity. *Biodiversity and Conservation*, 30, 3837–3857. <https://doi.org/10.1007/s10531-021-02277-6>
- Borcard, D., Gillet, F., & Legendre, P. (2018). *Numerical ecology with R*. Springer. 688p.
- Cardoso, R. C., Ferreira, R. L., & Souza-Silva, M. (2021). Priorities for cave fauna conservation in the Iuiú karst landscape, northeastern Brazil: a threatened spot of troglobitic species diversity. *Biodiversity and Conservation*, 30(5), 1433–1455. <https://doi.org/10.1007/s10531-021-02151-5>
- Cardoso, R. C., Ferreira, R. L., & Souza-Silva, M. (2022). Multi-spatial analysis on cave ecosystems to predict the diversity of subterranean invertebrates. *Basic and Applied Ecology*, 65, 111–122. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2022.11.007>
- Christiansen, K. A. (1962). Proposition pour la classification des animaux cavernicoles. *Spelunca Mem.* 2, 76–78.
- Cuff, J. P., Aharon, S., Armiach Steinpress, I., Seifan, M., Lubin, Y., & Gavish-Regev, E. (2021). It's all about the zone: spider assemblages in different ecological zones of Levantine caves. *Diversity*, 13(11), 576. <https://doi.org/10.3390/d13110576>
- Culver, D. C., & Pipan, T. (2019). *The biology of caves and other subterranean habitats* (2nd ed.). Oxford University Press, 272 pp..
- Culver, D., & Pipan, T. (2015). Shifting paradigms of the evolution of cave life. *Acta Carsologica*, 44(3), 353–367. <https://doi.org/10.3986/ac.v44i3.1688>

- Ferreira, R. L. (2004). A medida da complexidade ecológica e suas aplicações na conservação e manejo de ecossistemas subterrâneos. Phd thesis, Universidade Federal de Minas Gerais, 158pp.
- Ferreira, R. L., & Martins, R. P. (1999). Trophic structure and natural history of bat guano invertebrate communities, with special reference to Brazilian caves. *Tropical Zoology*, *12*(2), 231–252. <https://doi.org/10.1080/03946975.1999.10539391>
- Ferreira, R. L., & Pellegrini, T. G. (2019). Species-area model predicting diversity loss in an artificially flooded cave in Brazil. *Journal of Applied Ecology*, *56*(1), 230–240. <https://doi.org/10.5038/1827-806X.48.2.2244>
- Ferreira, R. L., Prous, X., & Martins, R. P. (2007). Structure of bat guano communities in a dry Brazilian cave. *Tropical Zoology*, *20*(1), 55-74.
- Fick, S. E., & Hijmans, R. J. (2017). WorldClim 2: new 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, *37*(12), 4302–4315. <https://doi.org/10.1002/joc.5086>
- Furtado-Oliveira, L., Ferreira, R. L., Fernández, R. J. I., & Souza-Silva, M. (2022). Recreational caving impacts of visitors in a high-altitude cave in Bolivian Andes: main effects on microhabitat structure and faunal distribution. *International Journal of Speleology*, *51*(2), 93–103. <https://doi.org/10.5038/1827-806X.51.2.2418>
- Hartig, F. (2022). DHARMA: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level/Mixed) Regression Models (Version 0.4.6). R package. <https://CRAN.R-project.org/package=DHARMA>
- Hoch, H., & Ferreira, R. (2016). Iuiuia caeca gen. n., sp. n., a new troglobitic planthopper in the family Kinnaridae (Hemiptera, Fulgoromorpha) from Brazil. *Deutsche Entomologische Zeitschrift*, *63*(2), 171-181.
- Howarth, F. G. (1983). Ecology of cave arthropods. *Annual review of entomology*, *28*(1), 365-389.
- Howarth, F. G. (1993). High-stress subterranean habitats and evolutionary change in cave-inhabiting arthropods. *The American Naturalist*, *142*, 65-77. <https://doi.org/10.1086/285523>
- Hüppop, K. (2005). Adaptation to low food. In: Culver D., White W. B. (Eds.) *Encyclopedia of caves*. Elsevier, Amsterdam, 4:10.
- Kassambara, A. & Mundt, F. (2020). factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses (Version 1.0.7). R package. <https://CRAN.R-project.org/package=factoextra>.

- Legendre, P. and Legendre, L. (2012). Numerical ecology. 2nd ed. Elsevier.
- Lessa, T., Dos Santos, J. W., Correia, R. A., Ladle, R. J., & Malhado, A. C. (2019). Known unknowns: Filling the gaps in scientific knowledge production in the Caatinga. *PLoS One*, *14*(7), e0219359. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219359>
- Lienhard, C. & Ferreira, R.L. (2013). A new species of Neotroglia from Brazilian caves (Psocodea:'Psocoptera': Prionoglarididae). *Revue suisse de Zoologie*, *120*(1), 3-12.
- Mammola, S. (2019). Finding answers in the dark: caves as models in ecology fifty years after Poulson and White. *Ecography*, *42*(7), 1331-1351. [10.1111/ecog.03905](https://doi.org/10.1111/ecog.03905)
- Mammola, S., & Isaia, M. (2018). Day–night and seasonal variations of a subterranean invertebrate community in the twilight zone. *Subterranean Biology*, *27*, 31-51. <https://doi.org/10.3897/subtbiol.27.28909>
- Mammola, S., Amorim, I. R., Bichuette, M. E., Borges, P. A., Cheeptham, N., Cooper, S. J., ... & Cardoso, P. (2020). Fundamental research questions in subterranean biology. *Biological Reviews*, *95*(6), 1855-1872. <https://doi.org/10.1111/brv.12642>
- Mammola, S., Cardoso, P., Angyal, D., Balázs, G., Blick, T., Brustel, H., ... & Isaia, M. (2019). Local-versus broad-scale environmental drivers of continental β -diversity patterns in subterranean spider communities across Europe. *Proceedings of the Royal Society B*, *286*(1914), 20191579. <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.1579>
- Mammola, S., Chiappetta, N., Giachino, P. M., Antić, D., Zapparoli, M., & Isaia, M. (2020). Exploring the homogeneity of terrestrial subterranean communities at a local spatial scale. *Ecological Entomology*, *45*(5), 1053–1062. <https://doi.org/10.1111/een.12883>
- Mammola, S., Piano, E., & Isaia, M. (2016). Step back! Niche dynamics in cave-dwelling predators. *Acta Oecologica*, *75*, 35-42. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2016.06.011>
- Mammola, S., Piano, E., Malard, F., Vernon, P., & Isaia, M. (2019). Extending Janzen's hypothesis to temperate regions: a test using subterranean ecosystems. *Functional Ecology*, *33*(9), 1638-1650. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13396>
- Moldovan, O. T., Kovac, L., & Halse, S. (2018). Cave ecology. Basel, Switzerland: Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-98852-8>.
- Moseley, M. (2009). Are all caves ecotones ?. *Cave and Karst Science*, *36*(2), 53-58.
- Nicolosi, G., Mammola, S., Costanzo, S., Sabella, G., Cirrincione, R., Signorello, G., & Isaia, M. (2021). Microhabitat selection of a Sicilian subterranean woodlouse and its implications for cave management. *International Journal of Speleology*, *50*(1), 53-63. <https://doi.org/10.5038/1827-806X.50.1.2370>

- Oksanen, J., Simpson, G., Blanchet, F., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P., O'Hara, R., Solymos, P., Stevens, M., Szöcs, E., Wagner, H., Barbour, M., Bedward, M., Bolker, B., Borcard, D., Carvalho, G., Chirico, M., De Caceres, M., Durand, S., Evangelista, H., FitzJohn, R., Friendly, M., Furneaux, B., Hannigan, G., Hill, M., Lahti, L., McGlinn, D., Ouellette, M., Ribeiro Cunha, E., Smith, T., Stier, A., Ter Braak, C., Weedon, J. (2022). *_vegan: Community Ecology Package_*. R package version 2.6-4, <<https://CRAN.R-project.org/package=vegan>>.
- Oliver, I., Beattie, A. J. (1996a). Invertebrate morphospecies as surrogates for species: a case study. *Conservation Biology*, *10*(1), 99-109. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1996.10010099.x>
- Oliver, I., Beattie, A. J. (1996b). Designing a cost-effective invertebrate survey: a test of methods for rapid assessment of biodiversity. *Ecological Applications*, *6*(2), 594-607. <https://doi.org/10.2307/2269394>
- Peck, S. B. (1976). The effect of cave entrances on the distribution of cave-inhabiting terrestrial arthropods. *International Journal of Speleology*, *8*(4), 309-321. <http://dx.doi.org/10.5038/1827-806X.8.4.1>
- Pellegrini, T. G., Ferreira, R. L. (2012). Sampling effort in mite communities associated with cave bat guano. *Speleobiology Notes*, *4*, 10–16.
- Pellegrini, T. G., 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)*, 17–38. <https://doi.org/10.3897/SUBTBIOL.18.8335>
- Peterson, B.G. & Carl, P. (2020). *_PerformanceAnalytics: Econometric Tools for Performance and Risk Analysis_*. R package version 2.0.4, <<https://CRAN.R-project.org/package=PerformanceAnalytics>>.
- Pipan, T., & Culver, D. C. (2007). Copepod distribution as an indicator of epikarst system connectivity. *Hydrogeology Journal*, *15*, 817-822. <https://doi.org/10.1007/s10040-006-0114-4>
- Polak, S. (2005). Importance of discovery of the first cave beetle *Leptodirus hochenwartii* Schmidt, 1832. *Endins: publicació d'espeleologia*, 71-80.
- Poulson, T. L., & White, W. B. (1969). The Cave Environment: Limestone caves provide unique natural laboratories for studying biological and geological processes. *Science*, *165*(3897), 971-981.

- Prous, X., Ferreira, R. L., & Jacobi, C. M. (2015). The entrance as a complex ecotone in a Neotropical cave. *International Journal of Speleology*, 44(2), 177-189. <http://dx.doi.org/10.5038/1827-806X.44.2.7>
- Prous, X., Ferreira, R. L., & Martins, R. P. (2004). Ecotone delimitation: Epigean–hypogean transition in cave ecosystems. *Austral Ecology*, 29(4), 374-382. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2004.01373.x>
- R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- Rabelo, L. M., Souza-Silva, M., & Ferreira, R. L. (2018). Priority caves for biodiversity conservation in a key karst area of Brazil: comparing the applicability of cave conservation indices. *Biodiversity and conservation*, 27, 2097-2129. <https://doi.org/10.1007/s10531-018-1554-6>
- Rabelo, L. M., Souza-Silva, M., & Ferreira, R. L. (2021). Epigean and hypogean drivers of Neotropical subterranean communities. *Journal of Biogeography*, 48(3), 662-675. <https://doi.org/10.1111/jbi.14031>
- Ratton, P., Mahnert, V., & Ferreira, R. L. (2012). A new cave-dwelling species of *Spelaeobochica* (Pseudoscorpiones: Bochicidae), from Brazil. *The Journal of Arachnology*, 40(3), 274-280. <https://doi.org/10.1636/Ha12-39.1>
- Reboleira, A. S., Borges, P. A., Gonçalves, F., Serrano, A. R., & Oromí, P. (2011). The subterranean fauna of a biodiversity hotspot region-Portugal: an overview and its conservation. *International Journal of Speleology*, 40(1), 23-37. <http://dx.doi.org/10.5038/1827-806X.40.1.4>
- Recknagel, H., & Trontelj, P. (2022). From cave dragons to genomics: advancements in the study of subterranean tetrapods. *Bioscience*, 72(3), 254-266. <https://doi.org/10.1093/biosci/biab117>
- Reis-Venâncio, P. C., Rabelo, L. M., Pellegrini, T. G., & Ferreira, R. L. (2022). From light to darkness: the duality of influence of habitat heterogeneity on Neotropical terrestrial cave invertebrate communities. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 1-10. <https://doi.org/10.1080/01650521.2022.2095832>
- Salazar, L. F., Nobre, C. A., & Oyama, M. D. (2007). Climate change consequences on the biome distribution in tropical South America. *Geophysical Research Letters*, 34(9), 1-6. <https://doi.org/10.1029/2007GL029695>

- 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. <https://doi.org/10.1890/10-0157.1>
- Schober, P., Boer, C., & Schwarte, L. A. (2018). Correlation coefficients: appropriate use and interpretation. *Anesthesia & analgesia*, *126*(5), 1763-1768. <https://doi.org/10.1213/ANE.0000000000002864>
- Souza-Silva, M., Martins, R. P., & Ferreira, R. L. (2011). Trophic dynamics in a neotropical limestone cave. *Subterranean Biology*, *9*, 127-138. [doi: 10.3897/subtbiol.9.2515](https://doi.org/10.3897/subtbiol.9.2515)
- 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), 1-18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115021>
- Souza, M. F., & Ferreira, R. L. (2018). A new highly troglomorphic Loxosceles (Araneae: Sicariidae) from Brazil. *Zootaxa*, *4438*(3), 575-587. [10.11646/zootaxa.4438.3.9](https://doi.org/10.11646/zootaxa.4438.3.9)
- Souza-Silva, M., & Ferreira, R. L. (2022). Dinâmica trófica em Ambientes de Cavernas. In: Zampaulo, R. A., & Prous, X. (Eds.), *Fauna cavernícola do Brasil*. Belo Horizonte: Editora Rupestre, pp. 58-81.
- Souza-Silva, M., Cerqueira, R. F. V., Pellegrini, T. G., & Ferreira, R. L. (2021). Habitat selection of cave-restricted fauna in a new hotspot of subterranean biodiversity in Neotropics. *Biodiversity and Conservation*, *30*(14), 4223–4250. <https://doi.org/10.1007/s10531-021-02302-8>
- Souza-Silva, M., Iniesta, L. F. M., & Ferreira, R. L. (2020). Cave lithology effect on subterranean biodiversity: A case study in quartzite and granitoid caves. *Acta Oecologica*, *108*(103645), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2020.103645>
- Souza-Silva, M., Martins, R. P., & Ferreira, R. L. (2015). Cave conservation priority index to adopt a rapid protection strategy: a case study in Brazilian Atlantic rain forest. *Environmental Management*, *55*, 279-295. <https://doi.org/10.1007/s00267-014-0414-8>
- Tews, J., Brose, U., Grimm, V., Tielbörger, K., Wichmann, M. C., Schwager, M., & Jeltsch, F. (2004). Animal species diversity driven by habitat heterogeneity/diversity: the importance of keystone structures. *Journal of Biogeography*, *31*(1), 79-92. <https://doi.org/10.1046/j.0305-0270.2003.00994.x>
- Tobin, B. W., Hutchins, B. T., & Schwartz, B. F. (2013). Spatial and temporal changes in invertebrate assemblage structure from the entrance to deep-cave zone of a temperate

- marble cave. *International Journal of Speleology*, 42(3), 203-214. <https://doi.org/10.5038/1827-806X.42.3.4>
- White, W. B., & Culver, D. C. (Eds.) (2011). *Encyclopedia of Caves*. Academic Press.
- Wynne, J. J., Howarth, F. G., Sommer, S., & Dickson, B. G. (2019). Fifty years of cave arthropod sampling: Techniques and best practices. *International Journal of Speleology*, 48(1), 33–48. <https://doi.org/10.5038/1827-806X.48.1.2231>
- Wynne, J. J., Sommer, S., Howarth, F. G., Dickson, B. G., & Voyles, K. D. (2018). Capturing arthropod diversity in complex cave systems. *Diversity and Distributions*, 24(10), 1478-1491. <https://doi.org/10.1111/ddi.12772>
- Zagmajster, M., Eme, D., Fišer, C., Galassi, D., Marmonier, P., Stoch, F., ... & Malard, F. (2014). Geographic variation in range size and beta diversity of groundwater crustaceans: insights from habitats with low thermal seasonality. *Global Ecology and Biogeography*, 23(10), 1135-1145. <https://doi.org/10.1111/geb.12200>
- Zuur, A. F., Ieno, E. N., & Smith, G. M. (2007). *Analyzing ecological data*. Springer Science & Business Media.
- Zuur, A. F., Ieno, E. N., Walker, N. J., Saveliev, A. A., & Smith, G. M. (2009). *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. Springer, New York.

2º capítulo

Este capítulo foi escrito em formato de artigo (versão preliminar) e redigido conforme as normas da revista “Community Ecology”.

Direcionadores da estruturação de comunidades de invertebrados subterrâneos: uma perspectiva temporal **Drivers of subterranean invertebrate communities structuring: a temporal perspective.**

Introdução

Os sistemas cársticos ao redor do mundo enfrentam inúmeras ameaças antrópicas, incluindo o desmatamento, a perda de habitat, a exploração mineral e a alteração do uso do solo, entre outras. (Van Beynen & Townsend 2005, Sugai et al. 2015, Cardoso et al. 2021,2022). Essas atividades podem afetar de maneira direta e indireta todo o ecossistema subterrâneo, considerado frágil, alterando dinâmicas tróficas e clásticas, levando à perda de habitats, a disponibilidade e qualidade de recursos orgânicos carreados para seu interior, impactar populações epígeas consideradas potenciais colonizadores desse ambientes, além de ocasionar sua homogeneização estrutural (Furtado-Oliveira et al. 2022, Rabelo et al. 2021, Souza-Silva et al. 2021, Cardoso et al. 2022, Souza-Silva & Ferreira 2022). Entender como características físicas, tróficas e climáticas do ambiente influenciam na estruturação espacial e temporal de comunidades subterrâneas tem sido uma das questões norteadoras em estudos recentes (Simões et al. 2015, Mammola et al. 2020a, Pacheco et al. 2020, Souza-Silva et al. 2021, Cardoso et a. 2022, Furtado-Oliveira et al. 2022, Reis-Venâncio et al. 2022). Esse conhecimento pode gerar subsídios para elaboração e aperfeiçoamento de ações de conservação, além de aprimorar o entendimento sobre os processos ecológicos predominantes nos ecossistemas subterrâneos.

Os ambientes subterrâneos possuem uma série de características distintas em relação aos ambientes de superfície, tais como a ausência permanente de luz, tendência à oligotrofia, comunidades biológicas funcionalmente truncadas e apresentam uma simplificação da complexidade estrutural (Poulson & White 1969, Badino 2010, Mammola 2019, Simões et al. 2015, Souza-Silva & Ferreira 2022). Paralelamente a essas características, cavernas são consideradas semi-isoladas da superfície, permitindo seu uso como “laboratórios naturais”, facilitando o estudo de processos ecológicos e evolutivos (Poulson & White 1969, Mammola 2019). Fatores externos que podem prejudicar e enviesar os estudos acabam sendo amenizados e até mesmo controláveis no interior das cavernas.

No entanto, mesmo apresentando comunidade relativamente simples, sua caracterização e a descoberta dos processos predominantes nesse ecossistema ainda se mostram como desafios ecológicos bem interessantes. Esses sistemas apresentam uma ampla diversidade de microhabitats e recursos orgânicos, como clastos de variados tamanhos e formas, rachaduras, cascalhos, detritos vegetais, guano, dentre outros (Souza-Silva et al. 2011, Pacheco et al. 2020, Souza-Silva et al. 2021, Furtado-Oliveira et al. 2022, Reis-Venâncio et al. 2022) e mesmo relativamente isoladas da superfícies, respondem às variações sazonais e diárias (Ferreira et al. 2015, Bento et al. 2016, Simões et al. 2022). Essas variações refletem significativamente na maneira em que os invertebrados estão estruturados espacialmente.

Estudos que buscam entender a influência das características do habitat sobre a estruturação de comunidades em ambientes cavernícolas, têm demonstrado a forte relação da disponibilidade e diversidade de microhabitats e recursos orgânicos, da extensão da caverna e da presença de cursos d'água (Simões et al. 2015,2022, Pacheco et al. 2020, Souza-Silva et al. 2021, Cardoso et al. 2022, Furtado-Oliveira et al. 2022, Reis-Venâncio et al. 2022). A partir disso, a heterogeneidade ambiental, entendida como um dos direcionadores globais da biodiversidade (Tews et al. 2004, Tonetti et al. 2023), exerce papel fundamental na estruturação de comunidades subterrâneas, sendo recentemente investigada por pesquisadores da área (Pacheco et al. 2020, Souza-Silva et al. 2021, Cardoso et al. 2022, Furtado-Oliveira et al. 2022, Reis-Venâncio et al. 2022).

A diversidade e a disponibilidade de microhabitats e recursos têm uma influência positiva na composição e riqueza de invertebrados subterrâneos. No entanto, concentram-se exclusivamente na influência espacial, não considerando a influência temporal das relações ecológicas, ou seja, se tais relações se mantêm ou variam com o passar do tempo. Entender os traços temporais por trás dessas relações ecológicas possui fortes implicações na maneira em que entendemos a ecologia de ecossistemas subterrâneos, caminhando para o aprimoramento de técnicas e meios de conservação efetivos desse ambiente.

Nesse contexto, o presente trabalho objetivou avaliar como a composição e diversidade de substratos influencia na estruturação espaço-temporal de comunidades de invertebrados subterrâneos. Para isso, comparamos comunidades amostradas em dois eventos amostrais independentes, com cinco anos entre os eventos de amostragem. Para tanto, formulamos três hipóteses: i) a riqueza média de espécies irá se manter constante entre as amostragem; ii) elementos do substrato influenciarão na estruturação espacial das comunidades de invertebrados e, iii) a resposta das comunidades quanto à estruturação do habitat permanecerão similares entre os períodos de amostragem.

Material e Métodos

Área de estudo

O presente estudo foi realizado em sete cavernas distribuídas ao longo de quatro maciços calcários não contíguos na região cárstica de Iuiú e Malhada, situada na porção sudoeste do estado da Bahia, Brasil, à margem direita do Rio São Francisco. A formação calcária da região pertencente ao grupo geológico Bambuí, datado do Neoproterozóico, cerca de 750-600 milhões de anos atrás. Quatro cavernas (Baixão, Tapera D'água, Toca Valada e Lapa do Honorato) estão inseridas no maciço chamado “Serra de Iuiú”, duas (Urubú-Jatobá e Toca Fria) localizadas no maciço da “Serrinha” e, uma caverna, que leva o mesmo nome que o maciço no qual está inserida, “Sepultamento”, esá localizada na parte mais ao sul (Fig. 1).

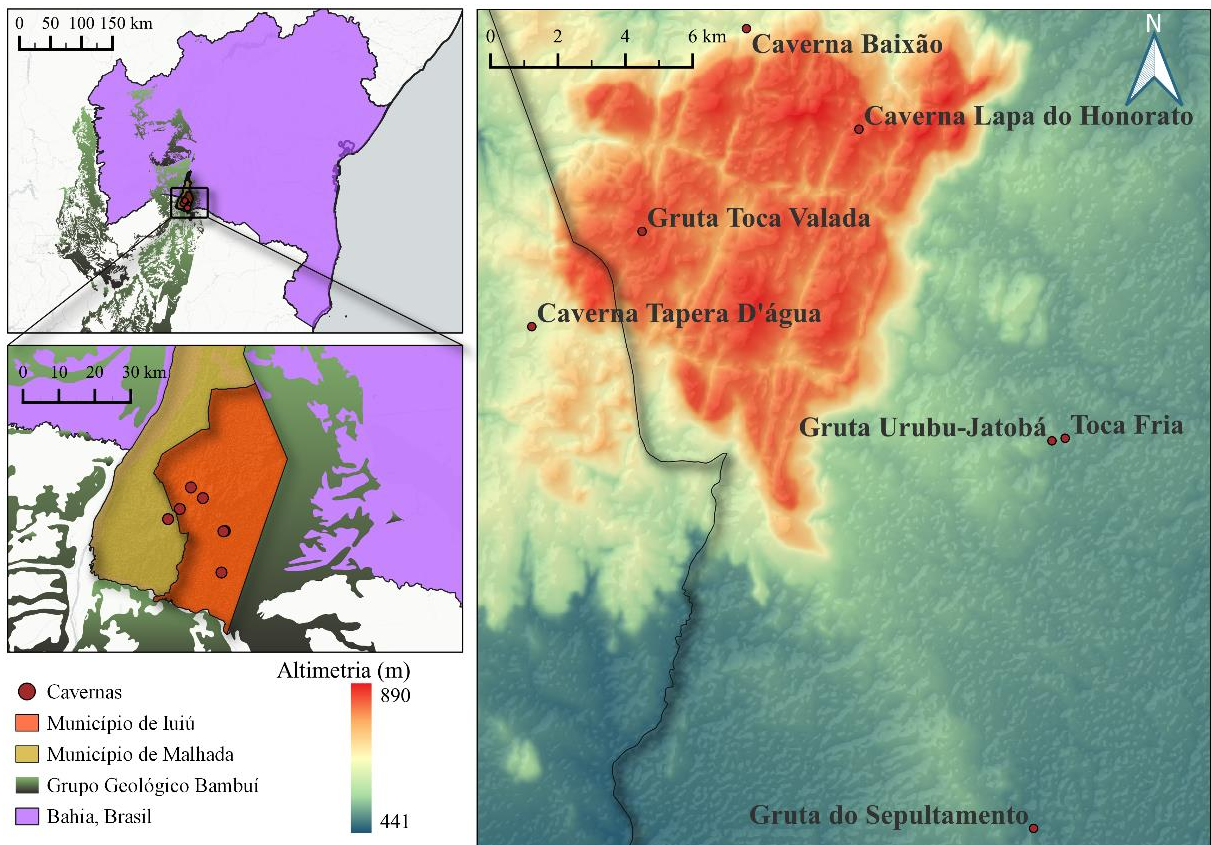


Figura 1. Localização da área onde o estudo foi realizado, nos municípios de Iuiú e Malhada, no estado da Bahia. Localização e extensão do grupo geológico Bambuí em destaque e a distribuição espacial das cavernas amostradas no estudo no mapa altimétrico.

A região está no domínio de Caatinga, com vegetação local predominantemente composta por florestas tropicais sazonalmente secas (Apgaua et al., 2014). O clima, de acordo com o sistema de classificação de Köppen-Geiger, é tropical semiárido quente “Bsh”, caracterizado por verões quentes e secos, com temperatura média de 24°C e apresentando precipitação anual média de 788 mm (Köppen, 1923; Alvares et al., 2013), e está em altitude média de 794 metros ao nível do mar. O período chuvoso ocorre entre março e outubro, e

período seco entre novembro e fevereiro (Hijmans et al., 2005). As coordenadas geográficas de cada caverna foram obtidas na entrada principal de cada cavidade, com o auxílio de GPS.

Coleta de dados abiótico e bióticos

Utilizamos quadrantes de 1m² para o cálculo da estruturação de habitat, assim como para a amostragem de invertebrados terrestres. As coletas foram realizadas durante duas expedições, a primeira no período seco de 2016, outra realizada no período seco de 2021.

Dados de riqueza de invertebrados terrestres e as variáveis de substrato foram medidas na porção interna de cada quadrante (Pacheco et al., 2020; Souza-Silva et al., 2021; Cardoso et al., 2022; Furtado Oliveira et al., 2022). Em ambos os eventos amostrais, o mesmo número de quadrantes foi utilizado para cada caverna, totalizando 80 quadrantes amostrados em cada expedição. Todos os quadrantes foram posicionados no nível do solo, uniformemente ao longo de toda a extensão acessível da caverna, partindo da entrada até as mais profundas.

Devido a extensões e morfologias distintas que caracterizam cada cavidade, o número de quadrantes posicionados em cada caverna foi diferente (Tabela 1).

Tabela 1. Cavernas calcárias amostradas na região de Iuiú e Malhada, Ba. Cada caverna fora amostrada uma vez no ano de 2016, e uma segunda amostragem realizada em 2021. (Quad.) Número de quadrantes amostrados durante as amostragens; (S¹) riqueza total de invertebrados amostrados durante a primeira coleta, em 2016; (S²) riqueza total de invertebrados amostrados durante a segunda coleta; (D.L.) desenvolvimento linear estimado, em metros.

Caverna	Latitude	Longitude	Quad.	S ¹	S ²	D.L.
Urubu-Jatobá	-14.548723	-43.539471	30	18	34	4600
Toca Fria	-14.548017	-43.535831	20	25	22	2500
Sepultamento	-14.655515	-43.544522	10	18	24	400
Toca Valada	-14.491043	-43.652444	5	8	8	700
Tapera D'água	-14.51727	-43.682842	5	22	4	150
Toca Baixão	-14.435169	-43.623675	5	6	8	150
Lapa do Honorato	-14.462879	-43.592667	5	10	23	30

Medição dos componentes de substrato

Todos os componentes inorgânicos e orgânicos em cada quadrante foram quantificados e qualificados mediante a análise de fotografias tiradas antes da amostragem dos invertebrados (Pacheco et al. 2020; Souza-Silva et al. 2021; Furtado-Oliveira et al. 2022; Reis-Venâncio et al. 2022). As fotografias foram feitas com o enquadramento mais paralelo possível do solo, de forma a incluir a área total do quadrante.

Em laboratório, as melhores imagens foram selecionadas e, a partir delas, identificamos e quantificamos os tipos de substrato com o software ImageJ. Atribuímos à área total do quadrante o valor de 100%, e dessa maneira, determinamos a porcentagem de cada componente do substrato em seu interior (Pacheco et al. 2020; Souza-Silva et al. 2021; Furtado-Oliveira et al. 2022, Reis-Venâncio et al. 2022). As classes de substratos obtidas nas

análises das fotografias foram sedimento (areia (0.06-2 mm) e hardpan (consolidado)), silte (silte e argila), cascalho (2-64 mm), greta de retração, matacão (64-1000 mm), matéria orgânica (fezes de *Kerodon rupestris*, serrapilheira, detritos vegetais e galhos), raízes, guano de morcego, rocha nua e corpos d'água.

Amostragem dos invertebrados terrestres

Os invertebrados foram coletados manualmente no interior dos quadrantes utilizando a metodologia de Busca Direta Intuitiva (DIS) (Wynne et al. 2019), com o auxílio de pinças e pincéis umedecidos em álcool (Fig.2). A coleta no interior de cada quadrante foi realizada por, pelo menos, um profissional com experiência em amostragem de fauna cavernícola. Todos os invertebrados coletados foram acondicionados em recipientes plásticos contendo álcool 70% e posteriormente, encaminhados até o laboratório.



Figura 1. Método de amostragem em quadrantes (1m²) empregado em ambos os eventos amostrais. É mostrada a utilização de pincéis e pinças para a coleta dos invertebrados. A coleta de dados abióticos fora realizada na mesma área de coleta dos invertebrados. Fotos: Lucas Mendes Rabelo e Paulo Reis-Venâncio.

Devido às diferenças estruturais de cada unidades amostral, o tempo de amostragem variou (Souza-Silva et al. 2021). É importante ressaltar que, com o intuito de evitar super-amostragem da fauna subterrânea, a qual pode apresentar populações com baixa densidade, apenas alguns espécimes foram efetivamente coletados quando um elevado número de indivíduos era encontrado, e sua abundância local foi anotada. A adoção dessa abordagem é importante para diminuir dos impactos potenciais sobre essas comunidades (Mammola et al. 2020b).

Identificação dos invertebrados

Em laboratório, com o auxílio de microscópios ópticos e estereomicroscópios, os indivíduos coletados foram identificados até o menor nível taxonômico possível e, posteriormente, agrupados em morfótipos (Oliver & Beattie, 1996a, 1996b). O método proposto por Oliver e Beattie (1996a, 1996b) tem sido amplamente empregado em estudos ecológicos para medidas de diversidade (Pacheco et al. 2020; Souza-Silva et al. 2021; Furtado-Oliveira et al. 2022; Reis-Venâncio et al. 2022), sendo ferramenta valiosa para pesquisadores não-especialistas nos grupos taxonômicos amostrados, proporcionando maior confiabilidade dos dados e, conseqüentemente, dos resultados obtidos. Visando maior acurácia na identificação, pesquisadores especialistas em determinados grupos foram consultados para refinamento taxonômico (Isopoda, Orthoptera, Polydesmida, Palpigradi, Coleoptera, Acari, Araneae, Pseudoscorpiones, Hemiptera, Pulmonata, Entomobryomorpha, Symphypleona and, Poduromorpha).

Para determinar espécies potencialmente troglóbias, seguimos a literatura disponível da fauna da região e pela presença de traços troglomórficos, por exemplo anofthalmia, alongamento de apêndices, redução de pigmentação, dentre outros específicos para cada grupo (Cristiansen 1962; Culver & Pipan 2019). De forma complementar, consultamos especialistas de alguns grupos taxonômicos, para uma maior precisão na identificação desses troglomorismos.

Ao fim da identificação dos invertebrados, todos os indivíduos amostrados foram depositados na Coleção de Invertebrados Subterrâneos de Lavras (ISLA), o qual está associado ao Centro de Estudos em Biologia Subterrânea da Universidade Federal de Lavras (<http://www.biologiasubterranea.com.br>).

Análises estatísticas

Para o cálculo da diversidade de substratos, aplicamos o índice de diversidade de Shannon, considerando todas as classes de substratos obtidas, para cada quadrante (Cardoso et al. 2022; Pellegrini et al. 2016; Souza-Silva et al. 2021, Furtado et al. 2022). Além dessa medida, também calculamos as diversidades de abrigos e de recursos orgânicos, também com o índice de Shannon.

Para o cálculo de diversidade de abrigos, consideramos as classes “cascalho”, “greta de retração” e “matação”. Para a medida de diversidade de recursos orgânicos, incluímos no cálculo as classes matéria orgânica (fezes de *K. rupestris*, serrapilheira, detritos vegetais e galhos), raízes e guano de morcegos.

Os valores de riqueza foram calculados a partir do somatório do número de morfótipos amostrados por quadrante e por caverna. Para verificar se existe variação na riqueza média dos quadrantes entre o primeiro e o segundo evento amostral, verificamos a normalidade dos dados por meio de sua visualização gráfica e, posteriormente, avaliada por meio do teste de normalidade Shapiro-Wilk. Como os dados não atingiram a normalidade, optamos por aplicar o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. As mesmas etapas e análises foram aplicadas visando avaliar a existência de variação nos valores de riqueza de espécies por caverna entre ambos os eventos amostrais.

A fim de entender a similaridade dos taxa entre os eventos amostrais, conduzimos uma análise de distinção taxonômica média ($\Delta+$) no software Primer 7 -Plymouth routine in Multivariate ecological research – (<http://www.primer-e.com>) utilizando 128 morfótipos dentre os 171 amostrados, identificados até família. Os níveis taxonômicos Filo (peso 100), Classe (Peso 83.3), Ordem (peso 66.67), Família (peso 50) e Morfótipo/espécie (peso 33.33) foram utilizados como variáveis inclusas em uma matriz de distribuição dos morfótipos ao longo dos quadrantes, para os dois eventos amostrais (Clarke & Warwick 1998; Anderson et al. 2008; Souza-Silva et al. 2020). Posteriormente, os valores obtidos de “ $\Delta+$ ” para cada quadrante foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Como os dados não apresentaram distribuição normal, aplicamos o teste não-paramétrico de Mann-Whitney com o objetivo de avaliar se a amplitude da variação da riqueza entre os eventos amostrais difere.

De forma a entender como as variáveis de substrato influenciam a riqueza de invertebrados, realizamos dois Modelos Lineares Generalizados Mistos (GLMMs). Em ambos os modelos, consideramos os quadrantes como efeito aleatório e a riqueza de espécies como variável resposta. A família de distribuição de erros de Poisson apresentou o melhor ajuste em ambos os modelos construídos. Verificamos a superdispersão em ambos os modelos, uma vez que essa condição pode levar a inferências errôneas, onde preditores sem efeito real mostraram-se significativos (Zuur et al. 2009).

Para verificarmos todas as combinações possíveis de preditoras, utilizamos o comando ‘dredge’ do pacote *MuMIn* (Bartoń 2022) e as ordenamos com base nos valores de Critério de Informação de Akaike de segunda ordem (AICc) obtidos para cada modelo. Feito isso, utilizamos uma abordagem multi-modal para identificar os modelos de maior poder de explicação e, então, calculamos os parâmetros médios dos modelos apresentando $\Delta AICc < 4$, buscando a maior explicação final das variáveis selecionadas nos melhores modelos (Burnham e Anderson 2002; Carrara et al. 2015; Solar et al. 2016; Coelho et al. 2020). Além disso, também apresentamos o modelo com o menor AIC, escolhido como o mais

parcimonioso dentre todas as combinações testadas. O valor do coeficiente de determinação (pseudoR² ajustado) dos dois melhores modelos foi calculado por meio do comando ‘r.squaredGLMM’ do pacote *MuMIn*.

Previamente à construção dos modelos generalizados, verificamos a presença de multicolinearidade entre as variáveis preditoras por meio do coeficiente de correlação de Spearman, com o comando ‘chart.correlation’ do pacote *PerformanceAnalytics* (Peterson e Carl 2020). Preditoras apresentando valores superiores à 70% ($r \geq \pm 0.7$) foram revisitadas e quando necessário, eliminadas dos modelos (Schober et al. 2018). De forma complementar, como o coeficiente de correlação de Spearman apenas nos mostra correlações pareadas (par-a-par) (Zuur et al. 2007, 2009), verificamos os fatores de inflação das variâncias (VIF) no modelo inicial, o qual engloba todas as variáveis preditoras. Todas as variáveis com VIF>3 foram removidas e o novo modelo, reanalisado. Todas as análises foram realizadas no software R (R core team, 2022).

Resultados

Riqueza de invertebrados cavernícolas

A amostragem realizada nas sete cavernas ao longo de 2016 revelou 77 morfótipos, distribuídos em 18 ordens taxonômicas; ao passo que, a amostragem ocorrida em 2021 foi capaz de nos revelar um total 94 morfótipos, pertencentes a 25 ordens de invertebrados (Fig. 3). É válido ressaltar que os grupos Isopoda, Haplotaxida, Spirostreptida, Scutigermorpha, Poduromorpha, Opiliones, Diplura e Archaeognatha só foram amostrados no segundo evento, por meio do método de quadrantes, enquanto Scorpiones (*Troglophalurus lacrau*) foi amostrado somente no primeiro evento.

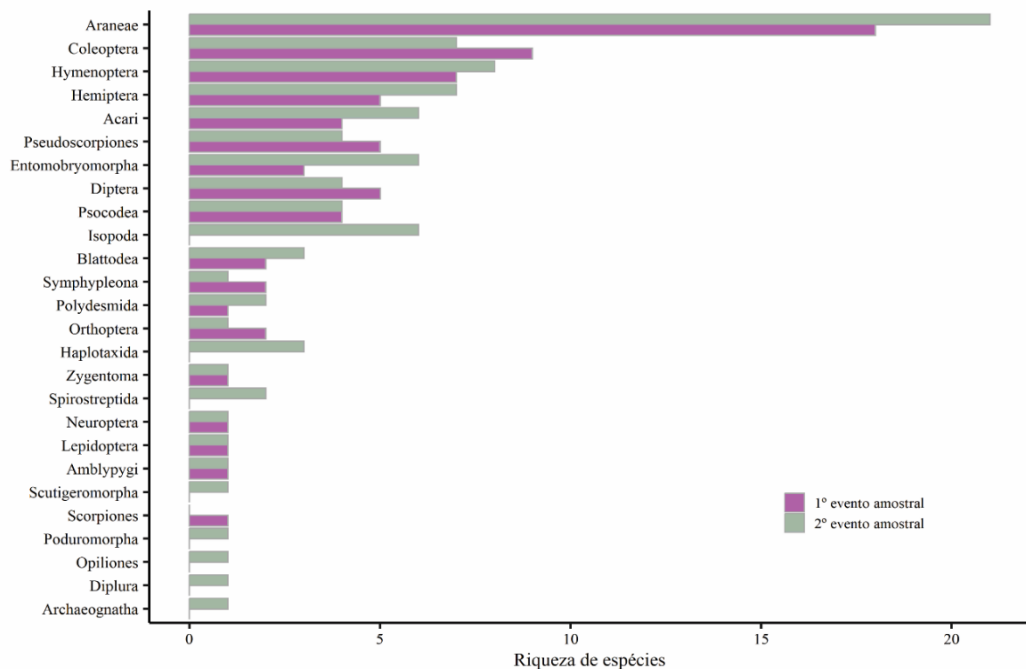


Figura 2. Riqueza total de espécies por ordem amostrada nas 7 cavernas estudadas, separada de acordo com os eventos amostrais.

Na primeira amostragem, Araneae foi a ordem com maior diversidade, tendo sido encontradas 18 espécies. Além disso, Coleoptera (9 espécies) e Hymenoptera (7 espécies) foram as ordens com maior número de espécies, depois de Araneae. Na segunda amostragem, a ordem Araneae também apresentou a maior diversidade, com 21 espécies coletadas. Nessa amostragem, Hymenoptera (8 espécies) foi a segunda ordem mais diversa, seguida por Coleoptera e Hemiptera, ambas com 7 espécies.

As análises não-paramétricas indicaram não haver diferença significativa entre a riqueza de invertebrados coletada entre os dois eventos amostrais, nem quando comparada a riqueza entre cavernas (Fig. 4A; $W = 21.5$, $p = 0.748$), nem para a riqueza por quadrante (Fig. 4B; $W = 2954.5$, $p = 0.394$).

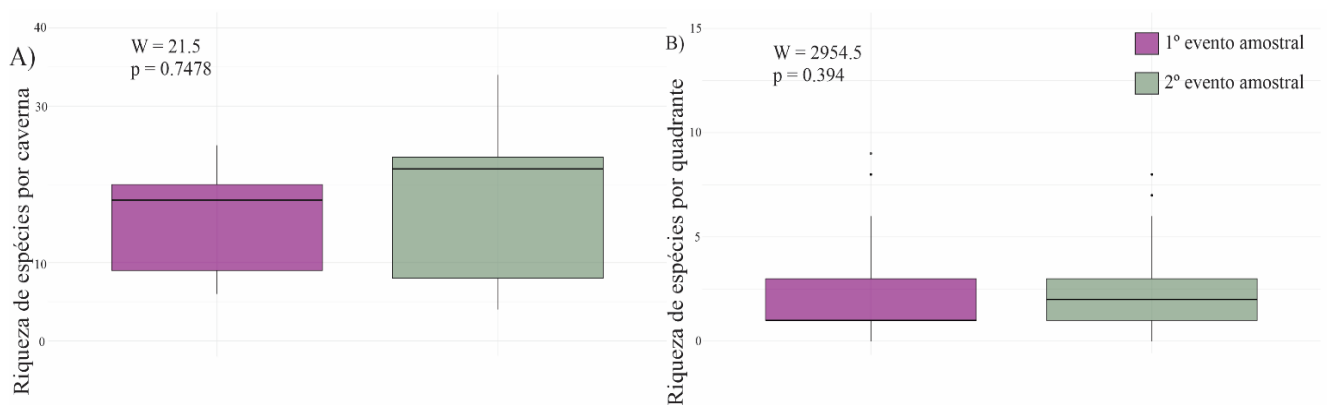


Figura 3. Boxplot exibindo a distribuição dos valores de riqueza de invertebrados entre os eventos amostrais, apresentando valores do teste de Mann-Whitney (W) e as probabilidades (p). (A) Diferença da riqueza de invertebrados entre cavernas; (B) diferença da riqueza de invertebrados por quadrantes.

O teste não-paramétrico revelou que os valores médios de distinção taxonômica ($\Delta+$) não variaram entre os dois eventos amostrais ($W = 1997$; $p = 0.641$). Os valores de $\Delta+$ para a primeira amostragem variaram de 0 a 83.33, com média de 36.332; ao passo que, os valores para a segunda amostragem variaram entre 0 e 83.33, com média de 35.29, sendo que a maioria dos pontos (quadrantes amostrados) está inclusa no intervalo de confiança de 0.95 (Fig. 5).

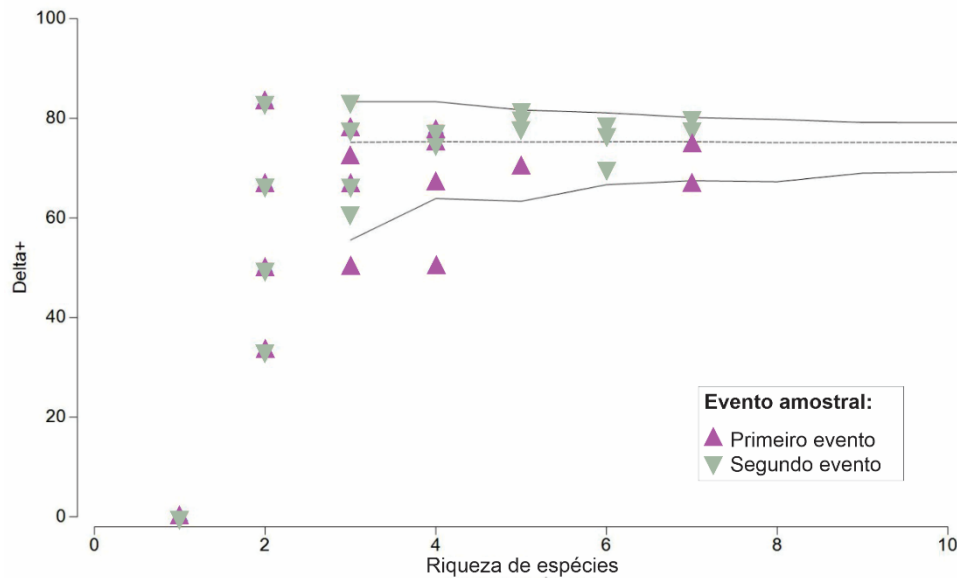


Figura 4. Valores de distinção taxonômica ($\Delta+$) para os quadrantes, representados em função da riqueza de espécies. As distintas cores representam os eventos amostrais.

Diversidade de invertebrados troglóbios

Ao todo, com a método de coleta por quadrantes, conseguimos acessar o total de nove espécies troglóbias. As espécies estão distribuídas em cinco ordens: Araneae (5 spp.), Entomobryomorpha (2 spp.), Hemiptera (2 spp.) Isopoda (1 sp.) e Polydesmida (1 sp.).

No primeiro evento amostral, foram coletadas apenas duas espécies troglóbias, *Loxosceles troglobia* (Araneae: Sicaridae) (Souza & Ferreira 2018) na caverna Tapera D'água e um Polydesmida na caverna Baixão. No entanto, durante o segundo evento amostral, acessamos sete espécies, sendo *L. troglobia* na Tapera D'água, *Matta* sp. (Araneae: Tretrablemmidae) na Caverna Sepultamento, Ochyroceratidae (Araneae) na Urubu-Jatobá, *Trogolaphysa* (Entomobryomorpha: Entomobryidae) na Tapera D'água, *Pseudosinella* (Entomobryomorpha: Entomobryidae) na Toca Fria, Styloniscidae (Isopoda) na Lapa do Honorato, *Iuiuia caeca* (Hemiptera: Kinnaridae) (Hoch & Ferreira 2016) na Tapera D'água e Urubu Jatobá e uma nova espécie de *Spelaeometra* (Hemiptera: Hydrometridae) encontrada na Toca Fria. Algumas das espécies amostradas já se encontram formalmente descritas, em quanto outras estão em processo de descrição. Algumas das espécies troglóbias amostradas são mostradas na Figura 6.

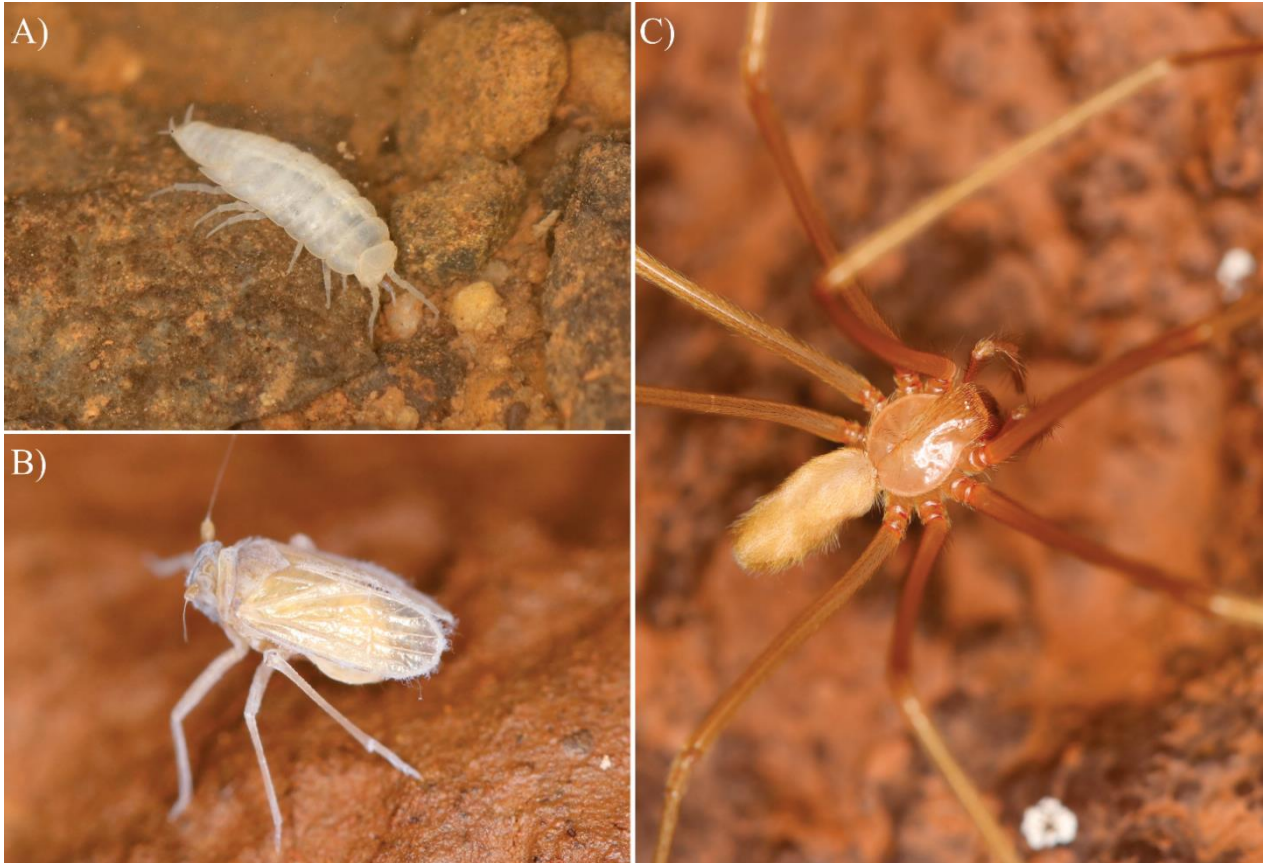


Figura 6. Algumas das espécies troglóbias amostradas durante os dois eventos amostrais em Iuiú, Ba. (A) *Styloniscidae* (Isopoda) da Lapa do Honorato; (B) *Luiiua caeca* (Hemiptera: Kinnaridae) encontrado na caverna Tapera D'água e (C) *Loxosceles troglobia* (Araneae: Sicaridae) espécie amostrada durante ambas as coletas, na Tapera D'água. Fotos: Rodrigo Lopes Ferreira.

Relação entre estruturação de habitat e riqueza de espécies

Nenhuma das variáveis apresentou correlação para o primeiro evento amostral, no entanto, as variáveis “silte” e “diversidade de recursos” foram correlacionados com “sedimento” ($r^2 = -0.7062$) e “raiz” ($r^2 = 0.802467$), respectivamente na segunda amostragem. Devido a esses altos valores de correlação, eliminamos “sedimento” e “raiz” dos modelos lineares generalizados mistos.

O melhor modelo explicou cerca de 49% da variação dos dados ($cR^2 = 0.494$; $AIC = 304.5$) no primeiro evento amostral, indicando relação positiva entre a riqueza invertebrados e a porcentagem de matacão (Fig. 7A), onde a riqueza diminui em função da quantidade de rocha exposta (Fig. 7B). O segundo modelo selecionado, com dados obtidos no segundo evento amostral, explicou 42% ($cR^2 = 0.42$; $AIC = 315.6$) da variação, incluindo as variáveis matéria orgânica e matacão. No entanto, somente matacão exerceu influência significativa e positiva na riqueza de espécies (Fig. 7-c).

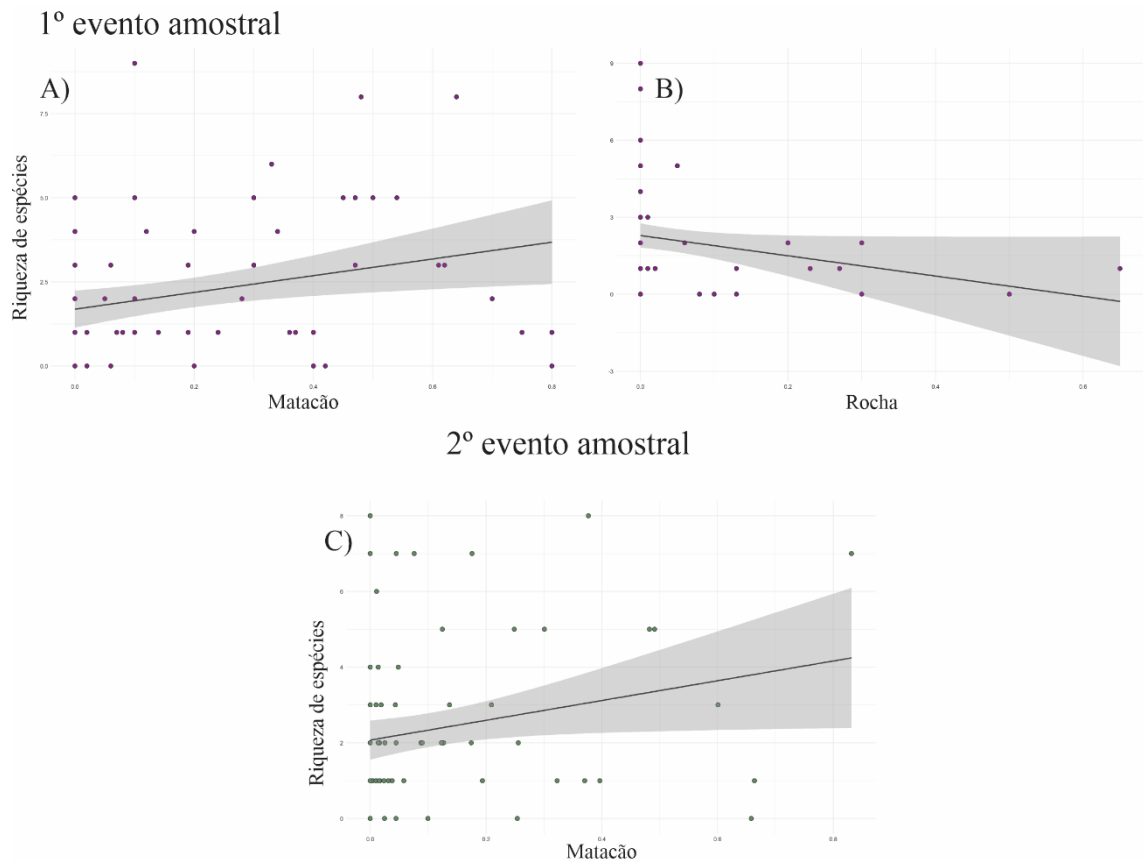


Figura 7. Relação encontrada entre a riqueza de invertebrados e as variáveis selecionadas pelo melhor modelo, para cada evento de amostragem. (A) Efeito positivo da porcentagem de matação sobre a riqueza de espécies amostradas ao longo do primeiro evento; (B) Efeito negativo da porcentagem de rocha nua sobre a riqueza de espécies amostradas durante o primeiro evento; (C) Relação positiva entre a porcentagem de matação e a riqueza de espécies amostradas durante o segundo evento amostral.

Os valores estimados para a classe “matação” são similares entre os dois eventos, sendo para o primeiro evento, 1.1374, enquanto para o segundo evento fora 1.0279. As variáveis preditoras inclusas em cada modelo selecionado encontram-se dispostas na Tabela 2.

Tabela 2: Resultado dos modelos lineares generalizados mistos selecionados a partir do menor valor de AIC. (A) modelo selecionado para os dados obtidos durante a primeira amostragem (2016); (B) modelo selecionado para os dados obtidos durante a segunda amostragem (2021), com os respectivos valores de AIC e R^2 condicional mostrados na frente. Nível de significância de $\alpha = 0.05$.

Preditora	Estimate	Erro padrão	Z	p
a) Primeiro evento amostral (AIC = 304.5, $cR^2 = 0.494$)				
Guano	3.8795	2.2670	1.711	0.08702
Matação	1.1374	0.4066	2.798	0.00515**
Rocha	-2.9132	1.3782	-2.114	0.03454*
b) Segundo evento amostral (AIC = 315.6, $cR^2 = 0.42$)				
Matação	1.0279	0.4842	2.123	0.0338*
Matéria orgânica	1.89094	1.1448	1.581	0.1140

As mesmas variáveis predictoras inclusas no melhor modelo foram selecionadas a partir dos resultados obtidos pela média dos melhores modelos ($\Delta AICc < 4$), em ambas as amostragens. “Rocha” influenciou negativamente a riqueza de espécies amostradas no primeiro evento, ao passo que “matação” influenciou positivamente (Figura 6A), e apenas matação influenciou de maneira positiva a riqueza de invertebrados no segundo evento (Figura 6B). A variável “matação” foi a única variável significativa para ambos os modelos.

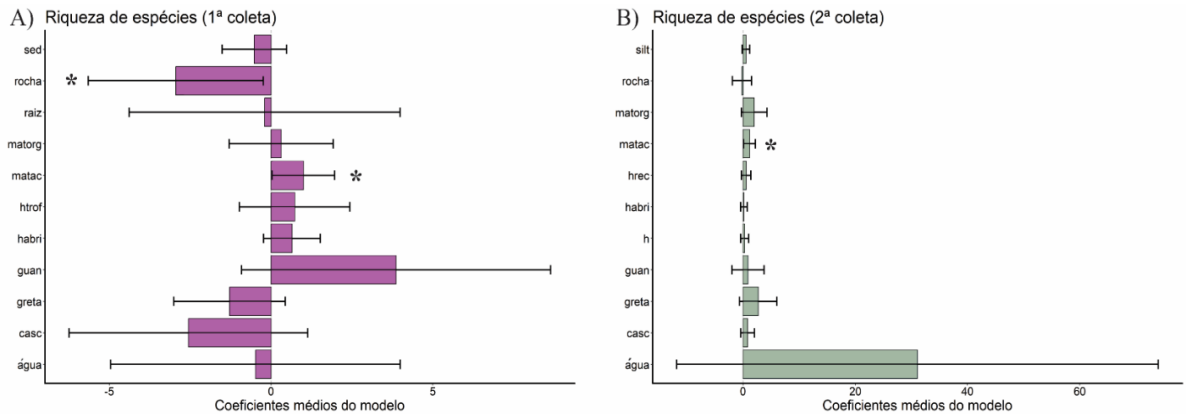


Figura 6: Média dos modelos selecionados com o recorte de $\Delta AICc < 4$. (A) Média do modelo para a riqueza de espécies coletada no primeiro evento amostral; (B) média do modelo para a riqueza de espécies coletada no segundo evento amostral. Variáveis inclusas nos modelos: (sed) sedimento, (silt) silte, rocha, raiz, (matorg) matéria orgânica, (matac) matação, (htrof) diversidade de recursos, (habri) diversidade de abrigos, (h) diversidade de substratos, (guan) guano, (greta) greta de retração, (casc) cascalho e água. * Sinaliza as variáveis estatisticamente significativas, com $p < 0.05$.

Discussão

Compreender a estruturação espacial de comunidades biológicas e sua variação ao longo do tempo é essencial, uma vez que suas respostas podem ser um reflexo de distúrbios ambientais ou fatores naturais (White & Jentsch 2001; Fraterrigo & Rusak 2008). O monitoramento sistemático efetivo dessas comunidades ao longo do tempo permite identificar se as variações observadas são decorrentes de distúrbios ou fatores antrópicos negativos, além de avaliar possíveis variações naturais na composição e dinâmica das comunidades. O monitoramento dessas respostas ao longo do tempo surge como uma ferramenta fundamental na elaboração e estabelecimento de padrões ecológicos (Hoffmann 2010), uma vez que relações ecológicas devem perdurar no tempo e serem detectáveis em diferentes escalas, para que sejam verdadeiros.

O conhecimento dos padrões ecológicos das comunidades pode ser usado como base para estudos comparativos, permitindo avaliar se determinada comunidade está em um estado natural ou se já sofreu influências antrópicas significativas. Dessa forma, entender como comunidades encontram-se estruturadas ao longo do tempo se configura um valioso conhecimento para a gestão e conservação da biodiversidade e dos ecossistemas em geral.

Encontramos que a riqueza de invertebrados não variou entre os eventos amostrais, nem ao avaliarmos a riqueza total por caverna, nem a riqueza por quadrante. Essa constância no número de espécies é consistente com estudos que demonstram que habitats subterrâneos suportam um número limitado de espécies, apresentando, assim, uma capacidade de carga ecológica (Simões et al. 2022). Apesar de valores elevados de substituição de espécies em comunidades subterrâneas poderem ser encontrados quando eventos são comparados, a riqueza de espécies pode sofrer baixa variação, onde maiores variações são encontradas apenas entre períodos úmidos e períodos seco (Simões et al. 2022). A disponibilidade de recursos e de microhabitats, juntamente às interações ecológicas, são os principais fatores que regulam e estabilizam a capacidade de suporte de um dado ambiente (Chesson 2000; Simões et al. 2022). Esses mecanismos regulatórios são fundamentais para a coexistência das espécies em um determinado habitat, especialmente de espécies que apresentam ecologias e preferências similares. O número de espécies presente em habitats subterrâneos está intimamente ligado à capacidade de carga do sistema (Mammola & Isaia 2018).

Em ecossistemas subterrâneos, uma maior riqueza de espécies é esperada durante o período chuvoso, em virtude de fatores limitantes, como condições climáticas favoráveis aos invertebrados e maior disponibilidade de recursos ao fim do período (Souza-Silva et al. 2011, 2013; Bento et al. 2016, Simões et al. 2022; Souza-Silva & Ferreira 2022). O presente estudo foi inteiramente realizado durante o período seco, quando a disponibilidade de recursos para a fauna era baixa, e as condições climáticas desfavoráveis prevalecem. Conseqüentemente, observamos uma riqueza de espécies baixa, ao contrário do esperado para períodos chuvosos. Períodos secos são rigorosos para as espécies, levando à diminuição na riqueza de espécies. Esse fator acaba influenciando também na baixa variação na diversidade de espécies encontrada entre os eventos amostrais.

Estudos que buscam compreender variações composicionais em ambientes subterrâneos costumam comparar comunidades em diferentes períodos do ano, como o período chuvoso e o período seco (Lunghi et al. 2015, Bento et al. 2016, Mammola et al. 2020b), ou são executados em curto período (Tobin et al. 2013), evidenciando variações consistentes em relação à composição faunística em virtude da sazonalidade. Nesse sentido, nossos resultados corroboram com estudos que investigaram a variação nas comunidades entre sucessivos períodos de seca (Di Russo et al. 1997, Salvidio et al. 2020, Simões et al. 2022), demonstrando relativa constância temporal na composição faunística. Portanto, baseado nos estudos citados e em nossos resultados, é correto afirmar que a composição

faunística varia entre os diferentes períodos do ano, mas se mantém relativamente constante quando comunidades de mesmo período são comparadas.

Com relação às variáveis de estruturação de habitat e a riqueza de invertebrados coletados na primeira campanha, observamos efeitos das classes “matacão” e “rocha nua”. Como esperado, a presença de rochas nuas tem efeito negativo na riqueza de espécies, resultando em menor diversidade de invertebrados em áreas onde esse tipo de substrato é predominante. Essa relação ocorre porque superfícies lisas e sem muitas reentrâncias, porosidades e espaços disponíveis, reduzem o número de microhabitats e, conseqüente, diminuem a heterogeneidade espacial e a disponibilidade de potenciais abrigos. Isso pode ocasionar em elevadas taxas de competição inter/intraespecíficas e taxas de predação, favorecendo a diminuição da riqueza local (Tews et al. 2004, Pacheco et al. 2020, Brothers & Blakeslee 2021, Souza-Silva et al. 2021, Furtado-Oliveira et al. 2022, Reis-Venâncio et al. 2022). Em suma, ambientes estruturalmente mais simples, mais homogêneos, tendem a comunidades biológicas menos ricas e diversas (Tews et al. 2004, Loke et al. 2015, Chang & Todd 2023).

Em contrapartida, a presença de “matacão” favorece o aumento da heterogeneidade ambiental, elevando a complexidade estrutural do ambiente (Loke et al. 2015, Tosseti et al. 2023). Os inúmeros macro e micro espaços criados pela presença e a sobreposição desses clastos de distintos tamanhos, formatos e porosidades levam à maior disponibilidade de microhabitats, que poderão ser utilizados pela fauna como abrigo, local de reprodução, além de espaços com condições microclimáticas (em relação à temperatura e umidade) mais favoráveis às espécies de invertebrados (Ferreira & Souza-Silva 2001, Ferreira et al. 2009, Cardoso et al. 2022, Reis-Venâncio et al. 2022). Essa série de benefícios gerada pela presença desses clastos promove aumento no estabelecimento das espécies, resultando em ambientes mais ricos (Souza-Silva et al. 2021). De maneira complementar, o maior número de habitats potenciais permite um maior número de nichos disponíveis, além de levar à redução na sobreposição de nichos (Tews et al. 2004, Souza-Silva et al. 2021, Reis-Venâncio et al. 2022). Esses fatores possibilitam que espécies potencialmente competidoras, com preferências e restrições ecológicas similares, co-existam em um mesmo sistema. As taxas de predação também podem ser reduzidas em ambientes de elevada heterogeneidade, o que pode gerar um aumento na riqueza de espécies (Brothers & Blakeslee 2021).

A relação entre disponibilidade de matacões e riqueza de espécies perdurou ao longo do tempo, sendo a mesma relação visualizada para ambos os eventos amostrais e, de maneira complementar, a magnitude do efeito da variável sobre a riqueza apresentou valores bem

similares (Tabela 2). Frente a isso, é plausível considerarmos esses elementos do ecossistema subterrâneo como “elementos-chave”, afetando a estruturação espaço-temporal de comunidades subterrâneas. Estrutura-chave pode ser definida, nesse caso, como certa característica física do ambiente que fornece abrigo e condições especiais para as espécies, sendo essencial para a manutenção da estrutura e funcionamento de comunidades biológicas (Tews et al. 2004). A identificação desses elementos-chave se dá, geralmente, através de aumentos significativos na riqueza de espécies, como é o caso da relação aqui estabelecida, que persiste ao longo dos anos. O estudo e a identificação desses elementos-chave é crucial quando o objetivo final é a manutenção da biodiversidade subterrânea e a conservação efetiva dos ecossistemas.

A perda de habitat por meio de atividades humanas está entre as principais ameaças aos ambientes cársticos (Van Beynen & Townsend 2005), não sendo diferente para a região de estudo. A região de Iuiú vem sofrendo fortemente com atividades agropastoris e mineração, além de apresentar um longo histórico de desmatamento (Cardoso et al. 2021, 2022), sendo atualmente entendida como uma região prioritária para conservação. Ambientes subterrâneos são intimamente ligados à processos no ambiente superficial (Prous et al. 2004, 2015, Souza-Silva et al. 2015, Rabelo et al. 2018, 2021, Cardoso et al. 2022). Áreas em torno de entradas de cavernas com elevadas taxas de desmatamento podem sofrer com a exposição do solo e subsequentes processos erosivos, resultando no transporte de sedimento fino para o interior das cavernas (Cardoso et al. 2022). Esse sedimento carregado pode ser depositado em camadas e se acumular nos espaços entre as rochas, inviabilizando esses possíveis habitats e tornando-os inacessíveis a fauna terrestre. Esse processo de assoreamento no interior das cavidades acaba afetando a sobrevivência das espécies locais, refletindo na diminuição da riqueza de espécies (Cardoso et al. 2022). Portanto, destacamos a importância do monitoramento das atividades que ocorrem no ambiente epígeo visando aperfeiçoar os meios de conservação e manutenção das comunidades subterrâneas. A preservação dos elementos-chave pode garantir a viabilidade e o equilíbrio dos ecossistemas subterrâneos, e sua estruturação tanto no espaço como no tempo.

Referência bibliográficas

- Alvares, C. A., Stape, J. L., Sentelhas, P. C., de Moraes Gonçalves, J. L., & Sparovek, G. (2013). Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, 22(6), 711–728. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>

- Anderson, M.J., Gorley, R.N., Clarke, K.R., 2008. PERMANOVA+ for PRIMER: Guide to software and statistical methods. Massey University, Albany Campus, Auckland: New Zealand.
- Apgaua, D. M. G., dos Santos, R. M., Pereira, D. G. S., de Oliveira Menino, G. C., Pires, G. G., Fontes, M. A. L., & Tng, D. Y. P. (2014). Beta-diversity in seasonally dry tropical forests (SDTF) in the Caatinga Biogeographic Domain, Brazil, and its implications for conservation. *Biodiversity and Conservation*, 23(1), 217–232. <https://doi.org/10.1007/s10531-013-0599-9>
- Badino, G. (2010). Underground meteorology-“What’s the weather underground?”. *Acta carsologica*, 39(3), 427-448.
- Bartoń K (2022). *_MuMIn: Multi-Model Inference_*. R package version 1.47.1. <https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn>.
- Bento, D. D. M., Ferreira, R. L., Prous, X., Souza-Silva, M., Bellini, B. C., & Vasconcellos, A. (2016). Seasonal variations in cave invertebrate communities in the semiarid Caatinga, Brazil. *Journal of Cave and Karst Studies*, 78(2), 61-71. DOI: 10.4311/2015LSC0111
- Brothers, C. A., & Blakeslee, A. M. (2021). Alien vs predator play hide and seek: How habitat complexity alters parasite mediated host survival. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 535, 151488. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2020.151488>
- Burnham, K. P., Anderson, D. R. (2002). Model selection and multimodel inference: a practical informationtheoretic approach. *J Wildl Manag* 67:677
- Cardoso, R. C. (2017). Ecologia e conservação de cavernas na região cárstica de Iuiú – BA. Dissertação, Universidade Federal de São João del-Rei, São João del-Rei, 117 p..
- Cardoso, R. C., Ferreira, R. L., & Souza-Silva, M. (2021). Priorities for cave fauna conservation in the Iuiú karst landscape, northeastern Brazil: a threatened spot of troglobitic species diversity. *Biodiversity and Conservation*, 30(5), 1433-1455.
- Cardoso, R. C., Ferreira, R. L., & Souza-Silva, M. (2022). Multi-spatial analysis on cave ecosystems to predict the diversity of subterranean invertebrates. *Basic and Applied Ecology*, 65, 111–122. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2022.11.007>
- Carrara, E., Arroyo-Rodríguez, V., Vega-Rivera, J. H., Schondube, J. E., de Freitas, S. M., & Fahrig, L. (2015). Impact of landscape composition and configuration on forest specialist and generalist bird species in the fragmented Lacandona rainforest, Mexico. *Biological Conservation*, 184, 117-126. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.01.014>
- Chang, C. C., & Todd, P. A. (2023). Reduced predation pressure as a potential driver of prey diversity and abundance in complex habitats. *npj Biodiversity*, 2(1), 1. <https://doi.org/10.1038/s44185-022-00007-x>

- Chesson, P. (2000). Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annual review of Ecology and Systematics*, 31(1), 343-366.
- Christiansen, K. A. (1962). Proposition pour la classification des animaux cavernicoles. *Spelunca Mem.* 2, 76-78.
- Clarke, K. R., & Warwick, R. M. (1998). A taxonomic distinctness index and its statistical properties. *Journal of applied ecology*, 35(4), 523-531. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2664.1998.3540523.x>
- Coelho, A. J. P., Magnago, L. F. S., Matos, F. A. R., Mota, N. M., Diniz, É. S., & Meira-Neto, J. A. A. (2020). Effects of anthropogenic disturbances on biodiversity and biomass stock of Cerrado, the Brazilian savanna. *Biodiversity and Conservation*, 29, 3151-3168.
- Culver, D. C., & Pipan, T. (2019). *The Biology of Caves and Other Subterranean Habitats (Second edi)*. Oxford University Press, <https://doi.org/10.1093/oso/9780198820765.001.0001>
- Culver, D. C., & Pipan, T. (2019). *The biology of caves and other subterranean habitats* (2nd ed.). Oxford University Press, 272 pp..
- Di Russo, C., Carchini, G., Rampini, M., Lucarelli, M., & Sbordoni, V. (1997). Long term stability of a terrestrial cave community. *International Journal of Speleology*, 26(1), 75-88. <http://dx.doi.org/10.5038/1827-806X.26.1.7>
- Ferreira, R. L., Martins, V. M., Paixão, E. A., & Silva, M. S. (2015). Spatial and temporal fluctuations of the abundance of Neotropical cave-dwelling moth *Hypena* sp.(Noctuidae, Lepidoptera) influenced by temperature and humidity. *Subterranean Biology*, 16, 47-60.
- Fraterrigo, J. M., & Rusak, J. A. (2008). Disturbance-driven changes in the variability of ecological patterns and processes. *Ecology letters*, 11(7), 756-770. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01191.x>
- Furtado-Oliveira, L., Lopes Ferreira, R., Rodríguez Fernández, J. I., & Souza Silva, M. (2022). Recreational caving impacts of visitors in a high-altitude cave in Bolivian Andes: main effects on microhabitat structure and faunal distribution. *International Journal of Speleology*, 51(2), 93–103. <https://doi.org/10.5038/1827-806X.51.2.2418>
- Hijmans, R.J., Cameron, S.E., Parra, J.L., Jones, P.G., Jarvis, A., 2005 - Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International journal of climatology*, 25(15): 1965-1978.
- Hoch, H., & Ferreira, R. (2016). *Iuiuia caeca* gen. n., sp. n., a new troglobitic planthopper in the family Kinnaridae (Hemiptera, Fulgoromorpha) from Brazil. *Deutsche Entomologische Zeitschrift*, 63(2), 171-181.

- Hoffmann, B. D. (2010). Using ants for rangeland monitoring: global patterns in the responses of ant communities to grazing. *Ecological Indicators*, 10(2), 105-111. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2009.04.016>
- Köppen, W. P. (1923). Die klimate der erde: Grundriss der klimakunde. Walter de Gruyter 46pp.
- Loke, L. H., Ladle, R. J., Bouma, T. J., & Todd, P. A. (2015). Creating complex habitats for restoration and reconciliation. *Ecological Engineering*, 77, 307-313. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.01.037>
- Lunghi, E., Manenti, R., & Ficetola, G. F. (2015). Seasonal variation in microhabitat of salamanders: environmental variation or shift of habitat selection?. *PeerJ*, 3, e1122. <https://doi.org/10.7717/peerj.1122>
- Mammola, S. (2019). Finding answers in the dark: caves as models in ecology fifty years after Poulson and White. *Ecography*, 42(7), 1331-1351. 10.1111/ecog.03905
- Mammola, S., Amorim, I.R., Bichuette, M.E., Borges, P.A.V., Cheeptham, N., Cooper, S.J.B., Culver, D.C., Deharveng, L., Eme, D., Ferreira, R.L., Fišer, C., Fišer, Ž., Fong, D.W., Griebler, C., Jeffery, W.R., Jugovic, J., Kowalko, J.E., Lilley, T.M., Malard, F., Manenti, R., Martínez, A., Meierhofer, M.B., Niemiller, M.L., Northup, D.E., Pellegrini, T.G., Pipan, T., Protas, M., Reboleira, A.S.P.S., Venarsky, M.P., Wynne, J.J., Zagamajster, M. and Cardoso, P. (2020a). Fundamental research questions in subterranean biology. *Biol Rev*, 95: 1855-1872. <https://doi.org/10.1111/brv.12642>
- Mammola, S., Chiappetta, N., Giachino, P. M., Antić, D., Zapparoli, M., & Isaia, M. (2020b). Exploring the homogeneity of terrestrial subterranean communities at a local spatial scale. *Ecological Entomology*, 45(5), 1053–1062. <https://doi.org/10.1111/een.12883>
- Mammola, S., Isaia, M. (2018) Cave communities and species interactions. In *Cave Ecology; Ecological Studies 235*; Moldovan, O.T., Kováč, L., Halse, S., Eds.; Springer Nature: Cham, Switzerland pp. 255–267.
- Oliver, I., Beattie, A. J. (1996a) Invertebrate morphospecies as surrogates for species: a case study. *Conservation Biology*, 10(1): 99-109. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1996.10010099.x>
- Oliver, I., Beattie, A. J. (1996b) Designing a cost-effective invertebrate survey: a test of methods for rapid assessment of biodiversity. *Ecological applications* 6(2): 594-607. <https://doi.org/10.2307/2269394>
- Pacheco, G. S. M., Souza-Silva, M., Cano, E., Ferreira, R. L. (2020). The role of microhabitats in structuring cave invertebrate communities in Guatemala. *International Journal of Speleology*, 49(2): 161-169. <https://doi.org/10.5038/1827-806X.49.2.2333>

- Pellegrini, T. G., Sales, L. P., Aguiar, P., & Ferreira, R. L. (2016). Linking spatial scale dependence of land-use descriptors and invertebrate cave community composition. In *Subterranean Biology* (Vol. 18, pp. 17–38). Pensoft Publishers. <https://doi.org/10.3897/SUBTBIOL.18.8335>
- Peterson, B.G. & Carl, P. (2020). *_PerformanceAnalytics: Econometric Tools for Performance and Risk Analysis_*. R package version 2.0.4, <<https://CRAN.R-project.org/package=PerformanceAnalytics>>.
- Poulson, T. L., & White, W. B. (1969). The Cave Environment: Limestone caves provide unique natural laboratories for studying biological and geological processes. *Science*, *165*(3897), 971-981.
- Prous, X., Ferreira, R. L., & Jacobi, C. M. (2015). The entrance as a complex ecotone in a Neotropical cave. *International Journal of Speleology*, *44*(2), 177-189. <http://dx.doi.org/10.5038/1827-806X.44.2.7>
- Prous, X., Ferreira, R. L., & Martins, R. P. (2004). Ecotone delimitation: Epigeal–hypogean transition in cave ecosystems. *Austral Ecology*, *29*(4), 374-382. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2004.01373.x>
- R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- Rabelo, L. M., Souza-Silva, M., & Ferreira, R. L. (2018). Priority caves for biodiversity conservation in a key karst area of Brazil: comparing the applicability of cave conservation indices. *Biodiversity and conservation*, *27*, 2097-2129. <https://doi.org/10.1007/s10531-018-1554-6>
- Rabelo, L. M., Souza-Silva, M., & Ferreira, R. L. (2021). Epigeal and hypogean drivers of Neotropical subterranean communities. *Journal of Biogeography*, *48*(3), 662-675. <https://doi.org/10.1111/jbi.14031>
- Reis-Venâncio, P. C., Rabelo, L. M., Pellegrini, T. G., & Ferreira, R. L. (2022). From light to darkness: the duality of influence of habitat heterogeneity on Neotropical terrestrial cave invertebrate communities. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*. <https://doi.org/10.1080/01650521.2022.2095832>
- Salvidio, S., Costa, A., Oneto, F., & Pastorino, M. V. (2019). Variability of a subterranean prey-predator community in space and time. *Diversity*, *12*(1), 17.
- Schober, P., Boer, C., & Schwarte, L. A. (2018). Correlation coefficients: appropriate use and interpretation. *Anesthesia & analgesia*, *126*(5), 1763-1768.

- Simões, M. H., Souza-Silva, M., & Ferreira, R. L. (2015). Cave physical attributes influencing the structure of terrestrial invertebrate communities in Neotropics. *Subterranean Biology*, *16*, 103-121. <https://doi.org/10.3897/subtbiol.16.5470>
- Simões, M. H., Souza-Silva, M., & Ferreira, R. L. (2022). Species-area relationship and richness persistence as a proxy of environmental carrying capacity: A case study in a neotropical show cave. *Acta Oecologica*, *116*, 103848. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2022.103848>
- Solar, R. R. de C., Barlow, J., Andersen, A. N., Schoederer, J. H., Berenguer, E., Ferreira, J. N., & Gardner, T. A. (2016). Biodiversity consequences of land-use change and forest disturbance in the Amazon: A multi-scale assessment using ant communities. *Biological Conservation*, *197*, 98-107.
- Souza, M. F., & Ferreira, R. L. (2018). A new highly troglomorphic Loxosceles (Araneae: Sicariidae) from Brazil. *Zootaxa*, *4438*(3), 575-587.
- Souza-Silva, M., & Ferreira, R. L. (2022). Dinâmica trófica em Ambientes de Cavernas. In: Zampaulo, R. A., & Prous, X. (Eds.), *Fauna cavernícola do Brasil*. Belo Horizonte: Editora Rupestre, pp. 58-81.
- Souza-Silva, M., Cerqueira, R. F. V., Pellegrini, T. G., & Ferreira, R. L. (2021). Habitat selection of cave-restricted fauna in a new hotspot of subterranean biodiversity in Neotropics. *Biodiversity and Conservation*, *30*(14), 4223–4250. <https://doi.org/10.1007/s10531-021-02302-8>
- Souza-Silva, M., Iniesta, L. F. M., & Ferreira, R. L. (2020). Invertebrates diversity in mountain Neotropical quartzite caves: which factors can influence the composition, richness, and distribution of the cave communities?. *Subterranean Biology*, *33*, 23-43.
- Souza-Silva, M., Júnior, A. S., & Ferreira, R. L. (2013). Food resource availability in a quartzite cave in the Brazilian montane Atlantic Forest. *Journal of Cave & Karst Studies*, *75*(3), 177-188.
- Souza-Silva, M., Martins, R. P., & Ferreira, R. L. (2011). Trophic dynamics in a neotropical limestone cave. *Subterranean Biology*, *9*, 127-138. [doi: 10.3897/subtbiol.9.2515](https://doi.org/10.3897/subtbiol.9.2515)
- Souza-Silva, M., Martins, R. P., & Ferreira, R. L. (2015). Cave conservation priority index to adopt a rapid protection strategy: a case study in Brazilian Atlantic rain forest. *Environmental Management*, *55*, 279-295. <https://doi.org/10.1007/s00267-014-0414-8>
- Sugai, L. S. M., Ochoa-Quintero, J. M., Costa-Pereira, R., & Roque, F. O. (2015). Beyond aboveground. *Biodiversity and Conservation*, *24*, 2109-2112.
- Tews, J., Brose, U., Grimm, V., Tielbörger, K., Wichmann, M. C., Schwager, M., & Jeltsch, F. (2004). Animal species diversity driven by habitat heterogeneity/diversity: the importance of

keystone structures. *Journal of Biogeography*, 31(1), 79-92. <https://doi.org/10.1046/j.0305-0270.2003.00994.x>

- Tobin, B. W., Hutchins, B. T., & Schwartz, B. F. (2013). Spatial and temporal changes in invertebrate assemblage structure from the entrance to deep-cave zone of a temperate marble cave. *International Journal of Speleology*, 42(3), 4.
- Tonetti, V., Pena, J. C., Scarpelli, M. D., Sugai, L. S., Barros, F. M., Anunciação, P. R., ... & Ribeiro, M. C. (2023). Landscape heterogeneity: concepts, quantification, challenges and future perspectives. *Environmental Conservation*, 1-10. <https://doi.org/10.1017/S0376892923000097>
- Van Beynen, P., & Townsend, K. (2005). A disturbance index for karst environments. *Environmental Management*, 36, 101-116. <https://doi.org/10.1007/s00267-004-0265-9>.
- White, P. S., & Jentsch, A. (2001). The search for generality in studies of disturbance and ecosystem dynamics. *Progress in botany: Genetics physiology systematics ecology*, 399-450.
- Wynne, J. J., Howarth, F. G., Sommer, S., & Dickson, B. G. (2019). Fifty years of cave arthropod sampling: Techniques and best practices. *International Journal of Speleology*, 48(1), 33-48. <https://doi.org/10.5038/1827-806X.48.1.2231>
- Zuur, A. F., Ieno, E. N., & Smith, G. M. (2007). Analyzing ecological data. Springer Science & Business Media.
- Zuur, A. F., Ieno, E. N., Walker, N. J., Saveliev, A. A., & Smith, G. M. (2009). Mixed effects models and extensions in Ecology with R. New York: Springer, 574 p..