



Pós-Graduação
ZOOLOGIA
MPEG/UFPA



**MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA
CURSO DE DOUTORADO EM ZOOLOGIA**

**EPHEMEROPTERA (INSECTA) NO BRASIL: ESTADO DA ARTE,
AMOSTRAGEM, INFLUÊNCIAS E DISTRIBUIÇÃO**

YULIE SHIMANO FEITOZA

Belém - Pará

Julho, 2015

YULIE SHIMANO FEITOZA

**EPHEMEROPTERA (INSECTA) NO BRASIL: ESTADO DA ARTE,
AMOSTRAGEM, INFLUÊNCIAS E DISTRIBUIÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia do Museu Paraense Emílio Goeldi e Universidade Federal do Pará, como requisito final para obtenção do título de Doutor em Zoologia.

Orientador: Dr. Leandro Juen

Belém - Pará

Julho, 2015

YULIE SHIMANO FEITOZA

**EPHEMEROPTERA (INSECTA) NO BRASIL: ESTADO DA ARTE,
AMOSTRAGEM, INFLUÊNCIAS E DISTRIBUIÇÃO**

Dr. Carlos Molineri
Instituto de Biodiversidad Neotropical

Dr. Frederico Falcão Salles
Universidade Federal do Espírito Santo - UFES

Dr. Victor Lemes Landeiro
Universidade Federal do Mato Grosso - UFMT

Dra. Cristiane de Paula Ferreira
Universidade Federal do Pará - UFPA

À minha amada e eterna mãe, Maria Luíza Shimano (*in memoriam*),
por sempre ter nos dado o seu melhor.
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Nos três anos e cinco meses que se passaram durante a confecção dessa tese, muitas coisas inesperadas aconteceram, e felizmente pude contar com grandes pessoas para poder dar continuidade à este trabalho. Grandes pessoas, pois, sem querer nada em troca, puderam contribuir, ajudar, orientar, aconselhar, e o mais importante de tudo, sempre confiaram na realização desta tese. Espero não esquecer de ninguém, afinal precisei de todas essas pessoas para conseguir terminar. Nunca gostei de escrever grandes homenagens nos meus agradecimentos, mas dessa vez, devido à importância desse título e à dificuldade que foi alcançá-lo, sinto-me na necessidade de escrever algumas linhas.

Em primeiro lugar, mesmo que alguém possa achar desnecessário agradecer alguém que não está mais entre nós, gostaria de expor à quem um dia puder (e quiser) ler essa tese quem foi a pessoa mais importante no desenvolvimento deste trabalho. Minha mãe (*in memoriam*), que sem sombra de dúvidas foi a pessoa mais correta que já conheci, e nunca poupou esforços para que nossa educação fosse a melhor, mesmo que nossa condição financeira não fosse. Ela abriu mão de muitas coisas para poder nos oferecer o melhor estudo, os melhores cursos, as melhores chances. Obrigada por tudo, mãe... sem você, nada disso teria sido possível.

Gostaria de agradecer imensamente o meu orientador e amigo, Leandro Juen, que foi o responsável por esse grande desafio em minha vida, que foi sair do Cerrado e vir rumo à Amazônia. Muito obrigada pela confiança, pela orientação, pelos ensinamentos, pela paciência e pela amizade. Obrigada, fessor!

À minha família, Tiara e Nicole, por estarem presentes nesse processo, amenizando minhas angústias e compartilhando minhas alegrias. Bem que poderíamos ter estado mais perto né, rs.

Gostaria de agradecer à todos integrantes do Laboratório de Ecologia e Conservação (LABECO) da Universidade Federal do Pará. Todos (Naraiana, Márcio, Híngara, Max, Erlane, Gilberto, Cláudio, Lenize, Ana Paula, Ana Luíza, Thiago, Fernando, Mylena, Prudente, Begot, Carina, Felipe, Jhosi, Denis, e demais integrantes) somos responsáveis pelo montante de dados que temos hoje disponível no laboratório. Muito obrigada pela contribuição de todos, seja nas coletas, tabulação de dados, criação de projetos, triagem, organização da coleção, aplicação do protocolo, ou até mesmo pela companhia. Também, gostaria de agradecer à todos os nossos assistentes de campo, que com certeza foram essenciais para o sucesso de nossas coletas.

À Mylena, minha ótima e eficiente companheira de efemerópteros. My, muito obrigada pela ajuda, pelo seu tempo dedicado à confirmação dos meus bichos e pela disposição. Gostaria de agradecer meu eterno orientador Fred, por ter olhado e confirmado o material com a Mylena. Também gostaria de agradecer ao Lucas Lima (star), por ter ajudado na identificação no pouco tempo em que estive de passagem por Belém.

Gostaria de agradecer aos meus co-autores, Mylena, Denis, Erlane, Gilberto, Ana Paula, Thiago, Fred. Sem a ajuda de vocês eu jamais conseguiria ter terminado esse trabalho, muitíssimo obrigada!

Ao meu novo chefe, Alexandre Bonaldo, por disponibilizar o seu laboratório para o desenvolvimento desta tese, por compreender minha correria e estresse, por me liberar tantas e tantas vezes por questões “de doutorado”, por incentivar o término desta tese, e também, pela paciência e ensinamentos no novo mundo dos aracnólogos.

Aos meus novos companheiros de laboratório, pessoal do Laboratório de Aracnologia no Museu Paraense Emílio Goeldi, Bruno, Regiane, Moisés, Lúciu, Nithomas, Manoel, Dani, Pato, e demais integrantes, por terem sido tão receptivos, por serem tão companheiros e por existirem! Haha! Amo vocês! Fizeram minha vida muito mais alegre!

Ao grande amigo que fiz aqui em Belém, Fernando Carvalho, que sempre esteve ali no quarto ao lado, com sua infinita felicidade e generosidade. Meu eterno xuxu, muito obrigada por sua amizade! Também gostaria de agradecer à minha gangue de prontidão, Híngara, Jaqueline, Priscilla e Ana Luiza. Muito obrigada pelos momentos e amizade, meninas! Também não posso esquecer-me dos amigos que mesmo distantes estiveram presentes sempre, Dinei, Ricardo, Carlos, Ananda, tia Sirlene, Jaque e Bellinha.

Gostaria de agradecer às pessoas com o qual pude fazer parcerias profissionais nesses três anos, Mylena, José Max, Karina, pessoal do Laboratório de Aracnologia e meus eternos orientadores Leandro e Fred. Também gostaria de agradecer o professor Raphael Ligeiro pelas contribuições e sugestões e Gilberto Nicacio pela revisão dos abstracts.

Aos membros da banca de qualificação que fizeram ótimas sugestões e correções para a melhoria deste trabalho, e aos membros da banca de defesa, por terem aceitado contribuir para o resultado final.

Por fim, gostaria de agradecer às empresas financiadoras dos nossos projetos, que possibilitou a coleta de grande parte dos nossos dados, Agropalma, 33forest, Conservation Internacional e PPbio-ocidental.

À todos, muito obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	xi
RESUMO GERAL	1
ABSTRACT	2
INTRODUÇÃO GERAL	3
FORMATAÇÃO	5
REFERÊNCIAS	5

SECCÃO 1: REVISANDO O CONHECIMENTO DE EPHEMEROPTERA NO BRASIL

CAPÍTULO 1: . <i>Study of the mayfly order Ephemeroptera (Insecta) in Brazil: a scientiometric review</i>	7
<i>Introduction</i>	8
<i>Material and methods</i>	8
<i>Results and discussion</i>	9
<i>References</i>	12

SECCÃO 2: ESCLARECIMENTOS METODOLÓGICOS

CAPÍTULO 2:

CAPITULO 2: <i>Sampling protocol for stream benthic insects</i>	15
<i>Introduction</i>	17
<i>Sample design</i>	18
<i>References</i>	19
<i>Supplementary material</i>	21

CAPÍTULO 3: Biodiversidade de Ephemeroptera (Insecta) em córregos tropicais: Qual é o esforço de coleta necessário para uma boa representação?	25
Introdução	28
Material e métodos	30
Resultados	34
Discussão	39
Conclusão	41
Referências	42
Material suplementar	46

SECCÃO 3: DISTRIBUIÇÃO DE EPHEMEROPTERA E OS FATORES ESTRUTURADORES

CAPÍTULO 4: Diferenças ambientais e históricas dos interflúvios Amazônicos e seus efeitos sobre as comunidades de Ephemeroptera em diferentes escalas	48
Introdução	50
Material e métodos	52
Resultados	59

Discussão.....	68
Referências	73
Material suplementar	77
CAPÍTULO 5: Drenagens dos grandes rios amazônicos conectam ou isolam comunidades de insetos aquáticos? Um estudo de caso com os efemerópteros	79
Introdução.....	81
Métodos	83
Resultados	86
Discussão.....	90
Referencias	95
Material suplementar	98
CAPÍTULO 6: <i>The response of mayfly (Insecta: Ephemeroptera) assemblages to the cultivation of oil palm: Thresholds and indicator groups</i>	104
<i>Introduction</i>	106
<i>Material and methods</i>	108
<i>Results</i>	111
<i>Discussion</i>	114
<i>References</i>	118
<i>Tables, figures and appendices</i>	121
CONCLUSÃO GERAL	128

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Fig. 1.** *Number of manuscripts with the order Ephemeroptera (Insecta) published and cited in Brazil, between 1992 and 2011. Bold numbers above represent cited manuscripts and italic numbers below represent published ones*.....9
- Fig. 2.** *Number of manuscripts published with the order Ephemeroptera (Insecta) in Brazilian regions (below right) and in the Brazilian States, between 1992 and 2011. White states do not have published papers*.....10
- Fig. 3.** *Percentage and number of published manuscripts in each of the most popular periodicals with the order Ephemeroptera (Insecta) in Brazil, between 1992 and 2011*..... 10
- Fig. 4.** *Percentage and number of published manuscripts according to: Ephemeroptera families (A); taxonomic resolution (B); main objective (C) and life stage of mayflies (D), between the years 1992 and 2011*.....11

CAPÍTULO 2

- Figura 1.** *Benthic macroinvertebrate collection equipment, kick net*..... 23
- Figura 2.** *Sketch of the delineation used for the collection of benthic macroinvertebrates in streams for ecological studies. 150-meter sampling stretch, subdivided into 10 15-meter sections; each section is subdivided into 5-meter segments, and only the two first segments are sampled. Segments marked with an x are used for moving inside the sections, thus avoiding trampling* 23
- Figura 3.** *Benthic macroinvertebrate collection in streams for ecological studies. (A) use of kick net for collection; (B) substrate samples; (C and D) field sorting*.....24

CAPÍTULO 3

- Fig. 1.** *Pontos de amostragem de ninfas de Ephemeroptera no período de setembro a outubro de 2012, em Paragominas, Pará, Brasil*.....31
- Fig. 2.** *Figura esquemática mostrando (A) como a coleta de substrato foi realizada; e como ela pode vir a ser realizada com a diminuição do esforço amostral, podendo ser contínua com a diminuição do trecho amostrado para (B) cinco segmentos, (C) 10 segmentos ou (D) 15 segmentos; e (E) descontínua, com a manutenção do trecho amostrado e diminuição no número de segmentos para 10*.....33
- Fig. 3.** *Análise de variância comparando (A) a abundância e (B) a riqueza observada de ninfas de Ephemeroptera amostrados em 39 córregos conservados da Amazônia, em grupos de cinco (5-s), dez (10-s), 15 (15-s) e 20 (20-s) réplicas por córrego*.....35
- Fig. 4.** *Ordenações (PCoA) realizadas com os dados de abundância ($\log[x+1]$) de ninfas de Ephemeroptera amostrados em grupos diferentes de réplicas: com (A) cinco, (B) dez*

réplicas contínuas, (C) 15, (D) 20 e (E) dez réplicas descontínua em transecção de 150 metros.....	37
Fig. 5. Ordenações (PCoA) realizadas com os dados de abundância ($\log[x+1]$) de ninfas de Ephemeroptera identificados em nível de (A) família, (B) gênero, (C) espécies/morfoespécies e (D) grupos funcionais.....	38

CAPÍTULO 4

Fig. 1. Localização dos pontos de coleta (córregos) na Floresta Amazônica Brasileira, em quatro diferentes interflúvios: (1) Reserva Florestal Adolfo Ducke amostrado no interflúvio Negro-Trombetas, (2) Reserva Nacional de Juruena amostrado no interflúvio Tapajós-Xingu, (3) Floresta Nacional de Caxiuanã no interflúvio Xingu-Tocantins e (4) córregos em floresta no município de Tailândia, Pará e (4') córregos em floresta conservada no município de Paragominas, Pará no interflúvio Tocantins-Gurupi.....	53
Fig. 2. Figura esquemática da área amostral utilizada para coleta de efemerópteros e aplicação do protocolo de integridade física. (A) trecho de 150 m demarcados nos córregos, subdivididos em (B) dez secções longitudinais e (C) onze transecções.....	54
Fig. 3. Análise de Componentes Principais (PCoA) realizada para as métricas ambientais dos grupos de (A) <i>Estrutura do canal</i> , (B) <i>Variáveis limnológicas</i> , (C) <i>Substrato</i> e (D) <i>Vegetação ripária</i> . Setas e indicações nos gráficos indicam correlações das variáveis com os eixos acima de 0.7. Interflúvios: (1) Negro-Trombetas, (2) Tapajós-Xingu, (3) Xingu-Tocantins e (4) Tocantins-Gurupi.....	60
Fig. 4. Comparação da abundância (A) e riqueza estimada (B) de Ephemeroptera em diferentes interflúvios da Amazônia brasileira. Interflúvios: (1) Negro-Trombetas, (2) Tapajós-Xingu, (3) Xingu-Tocantins e (4) Tocantins-Gurupi.....	62
Fig. 5. Ordenação da composição de Ephemeroptera ($\log[\text{abundância}+1]$) de acordo com os interflúvios da bacia do rio Amazonas. Interflúvios: (1) Negro-Trombetas, (2) Tapajós-Xingu, (3) Xingu-Tocantins e (4) Tocantins-Gurupi.....	63
Fig. 6. Resultados de r^2 da Regressão Multivariada de Matrizes de Distância para cada métrica avaliada regionalmente (os quatro interflúvios juntos) e localmente dos quatro grupos de variáveis ambientais testados (<i>Estrutura do canal</i> , <i>Variáveis limnológicas</i> , <i>Substrato</i> e <i>Vegetação ripária</i>) e sua influencia sobre a riqueza de Ephemeroptera em córregos de diferentes interflúvios da Amazônia brasileira. * resultados significativos de acordo com 9999 aleatorizações. Interflúvios: (1) Negro-Trombetas, (2) Tapajós-Xingu, (3) Xingu-Tocantins e (4) Tocantins-Gurupi.....	66
Fig. 7. Resultados de r^2 da Regressão Multivariada de Matrizes de Distância para cada métrica avaliada regionalmente (os quatro interflúvios juntos) e localmente dos quatro grupos de variáveis ambientais testados (<i>Estrutura do canal</i> , <i>Variáveis limnológicas</i> , <i>substrato</i> e <i>Vegetação ripária</i>) e sua influencia sobre a composição de Ephemeroptera em córregos de diferentes interflúvios da Amazônia brasileira. * representa resultados significativos. Interflúvios: (1) Negro-Trombetas, (2) Tapajós-Xingu, (3) Xingu-Tocantins e (4) Tocantins-Gurupi.....	67

CAPÍTULO 5

- Figura 1** Mapa demonstrando a distribuição das 143 espécies de Ephemeroptera para a Amazônia brasileira e os respectivos locais de registros de ocorrência a partir de dados coletados da bibliografia (em conjunto com os dados de distribuição apresentados no capítulo 5).....84
- Figura 2** Mapa demonstrando a divisão da Amazônia brasileira (em cinza) quanto (A) as áreas de endemismo propostos para outros grupos animais (e.g. aves, primatas, plantas – ver Silva et al. 2005) e quanto (B) às bacias de drenagem de acordo com a classificação da Agência Nacional de Águas.....85
- Figura 3** Análise de agrupamento (método de ligação UPGMA) das áreas de endemismo de acordo com a presença e ausência das espécies de Ephemeroptera da Amazônia brasileira (Índice de Sorensen).88
- Figura 4** Análise de agrupamento (método de ligação UPGMA) das bacias de drenagem de acordo com a presença e ausência das espécies de Ephemeroptera da Amazônia brasileira (Índice de Sorensen).90

CAPÍTULO 6

- Fig. 1* Sampling points for the collection of ephemeropteran specimens in areas of oil palm plantation and forest in the Agropalma Agroindustrial Complex in Tailândia, Pará (Brazil).....124
- Fig. 2* Density of ephemeropteran genera collected in Amazonian streams, ranked by the presence (gray background) and absence (white) of oil palm plantations. (*) genera found only in areas with oil palm plantations and (**) genera present only where plantations are absent.....124
- Fig. 3* Ranking of the study streams in the eastern Amazon basin based on the presence or absence of the ephemeropteran genera surveyed in the present study.....125
- Fig. 4* Diagram showing the physical and limnological variables of the plantation and forest streams, and their relationships (positive or negative) with conservation levels.....125
- SM.* Ephemeroptera genera associated to Forest (A, B) and oil palm cultivation (C, D). (A) *Miroculis* and (B) detail of the gill; (C) *Ulmeritoides* and (D) detail of the gill.....126

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

MS1. *Main macroinvertebrate groups collected by using the methodology proposed.....*24

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Grau de concordância entre os escores da PCoA realizada para composição e abundância de ninfas de Ephemeroptera e os grupos de cinco (5-s), dez (10-s), 15 (15-s) e 20 (20-s) réplicas por córrego. *resultados significativos.....36

Tabela 2. Grau de concordância entre os escores da PCoA realizada para composição e abundância de ninfas de Ephemeroptera e as resoluções taxonômicas a nível de espécie/morfoespécie, gênero, família e categorias funcionais.* resultados significativos.....38

MS. Espécies e morfoespécies de ninfas de Ephemeroptera (Insecta) amostradas no período de setembro a dezembro de 2012 e 2013, em Paragominas, Pará, Brasil.....46

CAPÍTULO 4

Tabela 1. Resultados da Análise PERMANOVA para a comparação das matrizes de Distância Euclidiana dos conjuntos de preditores ambientais comparados entre os quatro interflúvios estudados.....61

Material Suplementar I. Espécies e morfoespécies de ninfas de Ephemeroptera (Insecta) amostradas em interflúvios dos rios da Bacia Amazônica.....77

CAPÍTULO 5

Tabela 1. Total de espécies de Ephemeroptera registradas para cada área de endemismo da região Amazônica, com suas respectivas quantidades e porcentagens de espécies exclusivas.87

Tabela 3. Total de espécies de Ephemeroptera registradas para cada área de endemismo e para cada bacia de drenagem da região Amazônica, com suas respectivas quantidades e porcentagens de espécies exclusivas.89

Tabela S1 Espécies de Ephemeroptera registradas para a Amazônia brasileira e suas respectivas ocorrências de acordo com as áreas de endemismo.....98

Tabela S2 Espécies de Ephemeroptera registradas para a Amazônia brasileira e suas respectivas ocorrências de acordo com as bacias de drenagem.....101

CAPÍTULO 6

Table 1 Ephemeropteran genera associated with the environmental variables that increase (+) or decrease (-) in the plantation streams.....	121
Table 2 Ephemeropteran genera associated with environmental variables that increase (+) or decrease (-) in the forest streams.....	121
Table 3 Results of TITAN showing the change points for each genus (only those environmental variables for which significant values were recorded). * Physical variables.....	122
Appendix 1 Results of the <i>t</i> tests for the limnological and physical variables (only those which presented significant differences) measured in the plantation and forest streams. DF = Degrees of Freedom; <i>t</i> -value separ. var. = <i>t</i> test with separated variance.....	126

RESUMO GERAL

Ephemeroptera (Insecta) no Brasil: estado da arte, amostragem, influências e distribuição. Essa tese teve como objetivo contribuir para o conhecimento ecológico da ordem Ephemeroptera no Brasil no intuito de minimizar os déficits Wallaceano, Prestoniano e Hutchinsoniano desses organismos. Para isso, trabalhamos com dados bibliográficos e coletas em campo, resultando na elaboração de seis capítulos. Para o primeiro capítulo, sintetizamos informações bibliográficas, e para os demais capítulos utilizamos dados coletados na Amazônia brasileira, com exceção do quinto capítulo, o qual foi usado dados da literatura de ocorrência das espécies já registradas para a Amazônia. No primeiro capítulo fizemos uma análise cienciométrica sobre o estudo da ordem no Brasil, onde apontamos como principais lacunas a ausência de estudos em alguns estados brasileiros e com famílias específicas, a necessidade de estudos com as relações filogenéticas, melhorar a resolução taxonômica em estudos ecológicos e ausência ou conhecimento ainda insuficiente a respeito das variáveis ambientais que podem afetar a distribuição desses organismos; No segundo capítulo nós propomos um amostrador (rapiché circular) e um delineamento de coleta (trecho de 150 m ao longo do córrego) para ser utilizado em estudos ecológicos; no terceiro capítulo testamos a metodologia que é utilizada para a coleta dos dados e verificamos que 15 sub-amostras são o suficiente para representar a fauna (ao invés de 20), onde a descontinuidade da coleta é preferencial e que a resolução taxonômica entre espécies e gênero são altamente concordantes; o capítulo 4 foi realizado em uma escala regional, onde nós verificamos diferenças na estrutura ambiental dos córregos e na composição de Ephemeroptera nos diferentes interflúvios amazônicos, encontrando diferentes efeitos das variáveis ambientais de acordo com o interflúvio e de acordo com a escala utilizada (local e regional). No quinto capítulo, nós testamos se a Hipótese de Rios é válida para as comunidades de Ephemeroptera da Amazônia brasileira, onde encontramos que os grandes rios atuam como barreiras geográficas estruturando a distribuição dos efemerópteros, e da mesma forma, as conexões das bacias de drenagem também parecem exercer efeito estruturador para esses organismos. E por fim, no quarto capítulo realizamos um estudo de caso através de uma nova abordagem de espécies indicadoras de limiares (*Threshold Indicator Taxa Analysis*). Nesse capítulo nós verificamos que *Miroculis* é um gênero associado à áreas florestadas e *Ulmeritoides* é associado à áreas de plantação de palma de dendê, e que a comunidade como um todo, não é tão prejudicada pelo plantio, uma vez que a composição de espécies é similar entre tratamentos de floresta e palma. Com essa tese, nós aumentamos o número de registros de ocorrência e distribuição de Ephemeroptera para a Amazônia brasileira, amenizando lacunas com relação à distribuição (déficit Wallaceano), abundância (déficit Prestoniano) e respostas ambientais desses organismos (déficit Hutchinsoniano), além de contribuir para a unificação ou padronização de amostragem da ordem em estudos ecológicos.

Palavras-chave: Amazônia; esforço amostral; variáveis ambientais; escala local e regional; hipótese de rios.

ABSTRACT

Ephemeroptera (Insecta) in Brazil: state of the art, sampling, influences and distribution. In this thesis we aimed to contribute to the ecological knowledge about the Ephemeroptera order in Brazil in order to decrease Wallacean, Prestonian and Hutchinsonian shortfalls related to these organisms. For this purpose, we worked with bibliographic data and field sampling, which resulted in six chapters. We summarized bibliographic information about Brazilian Ephemeroptera studies in the first chapter and for the others, we used data from collections performed in Brazilian Amazonia, also for the last chapter, we have used both dataset from collected and bibliographic source. In the first chapter, we performed a scientiometric analysis about Ephemeroptera studies in Brazil, then we have found the main gaps: absence of studies in some Brazilian states and records of families, need of studies about phylogeny, need of improvement of taxonomic resolution in ecological studies, and deficit of knowledge about environmental variables affecting Ephemeroptera distribution. In the second chapter, we proposed new sampler (circular handnet) and sampling design (150-meters along streams) to be used in ecological studies. We tested in the third chapter the effectiveness of our own methodology, where applied to verify whether 15 subsamples are enough to represent mayflies fauna (instead 20 subsamples), also discontinuos sampling are better than continuous, and if the taxonomic resolution between species and genera are highly concordants. In the fourth chapter, the community was analysed in a regional scale, where we verified differences in environment structure of streams and species composition according to interfluves and scales (local or regional). In the fifth chapter, we tested if River Hypothesis is valid for mayflies communities in Brazilian Amazon, where we found the largest rivers acting as geographic barriers structuring mayflies distribution, as well as the connection of drainage basins also affected Ephemeroptera distribution. Finally, in the last chapter we made a study of case through a new approach of Threshold Indicator Taxa Analysis (TITAN). In this chapter, we found *Miroculis* as a genus associated to forested areas while *Ulmeritoides* was associated related to oil palm plantation areas; With this thesis, we increased records and knowledge of Amazonian mayflies, by reducing gaps in relation to distribution (Wallacean deficit), abundance (Prestonian deficit) and environmental answers from these organisms (Hutchinsonian deficit).

Keywords. Amazon, scientiometric, sampling effort; environmental variables; River Hypothesis.

INTRODUÇÃO GERAL

Os insetos da ordem Ephemeroptera compõem um pequeno grupo de insetos aquáticos que possuem o estágio ninfal dominante e aquático (Barber-james et al., 2008) e uma fase adulta breve (seis horas à dois dias de vida dependendo da espécie), com função principal de cópula, oviposição e dispersão (Domínguez et al., 2006). Apesar da baixa diversidade de espécies (cerca de 3.330 espécies registradas para o mundo e 320 para o Brasil - Salles et al., 2015; Sartori and Brittain, 2015) quando comparados com as outras ordens de insetos, os efemerópteros constituem a maior parte da biomassa e produção dos macroinvertebrados em ecossistemas aquáticos (Sartori and Brittain, 2015), e são responsáveis pela transferência de uma grande quantidade de fosfatos e nitratos do ecossistema aquático para o terrestre através da emergência das ninfas (Edmunds et al., 1976). As ninfas possuem integrantes em todas as categorias funcionais alimentares, sendo que são em maioria coletores ou raspadores e se alimentam de uma variedade de detritos e algas (Waltz and Burian 2007). Além disso, os representantes dessa ordem apresentam diferentes respostas à alteração ambiental, e em virtude da sua grande sensibilidade, estão entre os grupos mais utilizados em programas de biomonitoramento de qualidade de água (Buss and Salles, 2007; Domínguez et al., 2006).

A ordem teria surgido no final do período Carbonífero ou começo do Permiano e representa a ordem mais antiga dos insetos alados existentes, atingido sua maior diversidade durante o período Mesozóico (Barber-James et al., 2008; Brittain and Sartori, 2003). Algumas famílias possuem distribuição cosmopolita enquanto outras são restritas a um único continente ou até mesmo à um único grupo de ilhas, sendo que, a distribuição das famílias existente é basicamente o resultado da deriva continental desde a quebra da Pangea, à mais de 200 ma (Sartori and Brittain, 2015), juntamente com os requisitos ecológicos e capacidade de dispersão desses organismos. Apesar de ser uma ordem de grande importância para se entender a evolução dos insetos alados, pouco se sabe a respeito dos processos ecológicos e evolutivos que atuaram e atuam sobre a distribuição das espécies.

O estudo da ecologia desses organismos no Brasil avançou nos últimos anos (e.g. Brasil et al., 2013; Costa et al., 2014; Shimano et al., 2013). Por ser uma ordem muito sensível às modificações ambientais em especial relacionadas ao uso antrópico, muitas espécies estão sendo extintas e em consequência disso, muita informação ecológica a

respeito desses organismos pode se perder antes mesmo de ser conhecida e estudada. A perda de espécies frequentemente implica em perda da diversidade funcional e na provisão de serviços ecossistêmicos, gerando consequências não só para a biodiversidade mas também para os seres humanos (Cardoso et al., 2011).

Entre os déficits existentes no conhecimento ecológico desses organismos, podemos destacar três: o déficit Wallaceano (Lomolino, 2004), que se refere ao conhecimento inadequado sobre a distribuição das espécies em todas as escalas, com uma quantidade razoável de informações sobre a distribuição das espécies poderia concentrar esforços para conservação; o déficit Prestoniano (Cardoso et al., 2011) que se refere à falta de conhecimento sobre dados de abundância das espécies no tempo e espaço, impossibilitando o conhecimento sobre espécies raras e comuns; e o déficit Hutchinsoniano (Mokany and Ferrier, 2011) que se refere ao desconhecimento sobre os habitats e nichos das espécies, papéis funcionais e sensibilidade à mudanças no ambiente, que possibilitaria saber qual a contribuição de cada espécie para os serviços ecossistêmicos e quais as reais consequências de suas extinções. De acordo com Roque et al. (2014), o déficit Wallaceano, por exemplo, é uma restrição particularmente importante para a inclusão de dados sobre insetos aquáticos na elaboração de alguns instrumentos de conservação, tais como, seleções regionais de áreas prioritárias e zoneamentos ambientais.

Para tentar amenizar os déficits citados acima, o primeiro passo seria saber onde estão as lacunas a respeito do conhecimento desses organismos, para depois podermos centrar esforços para poder solucioná-los. Por esse motivo, trabalhos de cienciometria podem contribuir significativamente para uma análise geral da situação (Hood and Wilson, 2001). Sendo assim, nós tentamos agregar informações a respeito do conhecimento ecológico dos efemerópteros no Brasil quanto à respostas ecológicas às variações ambientais naturais e de origem antrópicas. Tentamos ainda responder quais são os processos de estruturação da fauna, propondo formas mais práticas de coleta e identificação desses organismos no intuito de incentivar o avanço dos estudos ecológicos. Com base no exposto acima, nosso objetivo geral com essa tese foi contribuir para o conhecimento ecológico da ordem Ephemeroptera através de estudos cienciométrico, metodológico, de padrões de distribuição e de influência da alteração ambiental. Em grande parte, nossos estudos foram realizados na Amazônia, a maior floresta úmida e onde se localiza a maior biodiversidade do planeta, na qual são registradas 143 espécies de Ephemeroptera (ver capítulo 5), correspondendo a mais de 40% da diversidade brasileira.

FORMATAÇÃO

Essa tese está dividida em três seções, uma seção de revisão, uma de cunho metodológico e uma seção criada com o desafio de sanar parte dos déficits ecológicos encontrados no estudo da ordem Ephemeroptera no Brasil. Cada seção é composta por capítulos em formato de artigos. Ao todo a tese é composta por seis artigos/notas científicas.

A primeira seção é composta por um artigo, já publicado, onde nós buscamos procurar as falhas e lacunas no conhecimento da ordem no Brasil e foi chamada de **Revisando o conhecimento de Ephemeroptera no Brasil**.

A seção dois é composta por dois capítulos, uma nota científica e um artigo, que propõe e testa metodologias e delineamento de coleta de Ephemeroptera, no intuito de padronizar e sugerir melhores delineamentos para futuros trabalhos ecológicos. Essa seção foi chamada de **Esclarecimentos metodológicos**.

Por fim, a seção três é composta por três capítulos em formato de artigos. Os três capítulos reúnem dados de distribuição e abundância de Ephemeroptera, na tentativa de amenizar os déficits Wallaceano e Prestoniano, e suas relações com variáveis estruturadoras, como fatores ambientais, históricos e espaciais e a influência da alteração ambiental, permeando a barreira do déficit Huchinsoniano. Ela foi chamada de **Distribuição de Ephemeroptera e fatores estruturadores**.

Os capítulos foram formatados de acordo com revistas científicas. Porém, o tamanho da letra e os espaçamentos entrelinhas foram padronizados para melhor aproveitar o espaço. As figuras, tabelas e legendas foram inseridas no corpo dos artigos para facilitar a leitura e revisão da tese, com exceção do sexto capítulo, que foi recentemente submetido e mantido a formatação exigida pela revista.

REFERÊNCIAS

- Barber-james, H.M., Gattolliat, J., Sartori, M., Hubbard, M.D., 2008. Global diversity of mayflies (Ephemeroptera , Insecta) in freshwater. *H* 595, 339–350. doi:10.1007/s10750-007-9028-y
- Brasil, L.S., Shimano, Y., Batista, J.D., Cabette, H.S.R., 2013. Effects of environmental factors on community structure of Leptophlebiidae (Insecta , Ephemeroptera) in Cerrado streams , Brazil. *Iheringia. Série Zool.* 103, 260–265.

- Brittain, J.E., Sartori, M., 2003. Ephemeroptera (Mayflies), in: Resh, V.H., Cardé, R.T. (Eds.), *Encyclopedia of Insects*. Academic Press (Elsevier), Orlando, Florida, pp. 373–380.
- Buss, D.F., Salles, F.F., 2007. Using Baetidae Species as Biological Indicators of Environmental Degradation in a Brazilian River Basin 365–372. doi:10.1007/s10661-006-9403-6
- Cardoso, P., Erwin, T.L., Borges, P. a V, New, T.R., 2011. The seven impediments in invertebrate conservation and how to overcome them. *Biol. Conserv.* 144, 2647–2655. doi:10.1016/j.biocon.2011.07.024
- Costa, L.D.S.M., Branco, C.C.Z., Bispo, P.D.C., 2014. O Papel dos Fatores Ambientais e Espaciais Sobre a Fauna de Ephemeroptera (Insecta) em Riachos de Mata Atlântica. *EntomoBrasilis* 7, 86–92. doi:10.12741/ebrasilis.v7i2.368
- Domínguez, E., Molineri, C., Pescador, M.L., Hubbard, M.D., Nieto, C., 2006. *Ephemeroptera of South America*, Pensoft. ed. Moscow.
- Edmunds, G.F., Jensen, S.L., Berner, L., 1976. *The mayflies of North and Central America*. Minneapolis.
- Hood, W.W., Wilson, C.S., 2001. The literature of bibliometrics, scientometrics and informetrics. *Scientometrics* 52, 921–314.
- Lomolino, M. V., 2004. Conservation biogeography, in: *Frontiers of Biogeography: New Directions in the Geography of Nature*. Sinauer Associates, Massachusetts, pp. 293–293.
- Merritt, R.W., Cummins, K.W., Resh, V.H., Batzer, D.P., 2008. Sampling aquatic insects: collection devices, statistical considerations and rearing procedures, in: Merritt, R.W., Cummins, K.W., Berg, M.B. (Eds.), *An Introduction to the Aquatic Insects of North America*. Kendall/Hunt Publishing Company, pp. 15–38.
- Mokany, K., Ferrier, S., 2011. Predicting impacts of climate change on biodiversity: a role for semi-mechanistic community-level modelling. *Divers. Distrib.* 17, 374–380.
- Roque, F.O., Buss, D.F., Albes, S.S., Stefanos, M., Juen, L., Siqueira, T., 2014. Insetos aquáticos no âmbito de instrumentos de gestão ambiental: caminhos ainda pouco explorados, in: Hamada, N., Nessimian, J.L., Querino, R.B. (Eds.), *Insetos Aquáticos Na Amazônia Brasileira: Taxonomia, Biologia E Ecologia*. Editora do INPA, Manaus, pp. 129–140.
- Salles, F.F., Massariol, F.C., Nascimento, J.M.C., Boldrini, R., Raimundi, E.A., Angeli, K.B., 2015. *Ephemeroptera do Brasil [WWW Document]*. List. das espécies Ephem. do Bras. URL <http://ephemeroptera.com.br/lista/> (accessed 3.2.15).
- Sartori, M., Brittain, J.E., 2015. Order Ephemeroptera, in: Thorp, J.H., Rogers, D.C. (Eds.), *Ecology and General Biology: Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates*. Elsevier, pp. 873–891.
- Shimano, Y., Juen, L., Salles, F.F., Nogueira, D.S., Cabette, H.S.R., 2013. Environmental and spatial processes determining Ephemeroptera (Insecta) structures in tropical streams. *Ann. Limnol. - Int. J. Limnol.* 49, 31–41. doi:10.1051/limn/2013036.
- Waltz, R.D., Burian, S.K., 2008. Ephemeroptera, in: Merritt, R.W., Cummins, K.W., Berg, M.B. (Eds.), *An Introduction to the Aquatic Insects of North America*. Kendall/Hunt Publishing Company, Dubuque, pp. 181–236.

SECÇÃO 1

REVISANDO O CONHECIMENTO DE EPHEMEROPTERA NO BRASIL

CAPÍTULO 1: Shimano, Y., F. F. Salles & L. Juen, 2013. Study of the mayfly order Ephemeroptera (Insecta) in Brazil: a scientiometric review. **Revista Brasileira de Entomologia** **57**: 359-364.

Revista Brasileira de Entomologia
<http://dx.doi.org/10.1590/S0085-56262013005000043>

Study of the mayfly order Ephemeroptera (Insecta) in Brazil: a scientiometric review

Yulie Shimano¹, Frederico F. Salles² & Leandro Juen³

¹Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Universidade Federal do Pará, Rua Augusto Correia, nº 1 Bairro Guamá, 66075-110 Belém-PA, Brazil. shimano.yulie@gmail.com

²Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas, Universidade Federal de Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Rodovia BR 101 Norte, Km 60, Bairro Litorâneo, 29932-540 São Mateus-ES, Brazil. ffsalles@gmail.com

³Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Rua Augusto Correia, nº 1 Bairro Guamá, 66075-110 Belém-PA, Brazil. leandrojuen@ufpa.br

ABSTRACT. Study of the mayfly order Ephemeroptera (Insecta) in Brazil: a scientiometric review. Despite an increase in the number of studies in recent years of the aquatic insect order Ephemeroptera (the mayflies) much still remains to be learnt. In order to identify the current state of knowledge of this group in Brazil, we performed a scientiometric analysis with the purpose of identifying the strong and weak points of Brazilian research into the group. Our research used the “Institute for Scientific Information – ISI” database and was based on the abstracts, titles and keywords of manuscripts published between 1992 and 2011. We selected the papers with the combination of the words “Ephemeroptera” and “Brazil*” based on a search in February 2012. We analyzed 92 articles, and noted a lack of studies in some Brazilian states, no specific studies about some families, and an absence of phylogenetic studies. To improve ecological studies, it is necessary to fine-tune taxonomic resolution. Moreover, there is a lack of studies investigating the environmental variables which influence the distribution of mayflies. Despite these gaps, if the rate of publication with mayflies proceeds at the same pace, we anticipate that many of these knowledge gaps will be closed.

KEYWORDS. Biogeographic database; citation analyses; knowledge gaps; knowledge states; sampling effort.

The interest in the study of aquatic insects started in the 1930s and 1940s because of studies with sport fishing interests (Merritt *et al.* 2008). Nowadays, these aquatic insects have become one of the groups most utilized in aquatic ecosystem and ecology research, often as water quality bio-indicators (*e.g.* Cummins 1973; Vison & Hawkins 1998; Voelz & McArthur 2000; Melo 2009; Dias-Silva *et al.* 2010; Juen & De Marco 2011; Couceiro *et al.* 2012; Monteiro-Júnior *et al.* 2013).

One of the most important insect orders in aquatic ecosystems is the Ephemeroptera—the mayflies. These insects spend most of their life as immatures in water and emerge only to copulate and disperse; living first as subimagos, then imagos for a brief period, just two or three days in most of the species (Edmunds *et al.* 1976). The order is notable for including members in all functional feeding groups, and by being abundant and inhabiting most aquatic freshwater regions (Barber-James *et al.* 2008). The interest in studying the potential of mayfly nymphs as biologic indicators has increased in recent years. Following the accumulation of organic pollutants in streams and lakes there are concurrent changes in their abundance, sometimes resulting in local extinction (Da-Silva & Salles 2012).

The first comprehensive study concerning mayflies in the Neotropical realm was published in 1924 (Needham & Murphy 1924). Almost 100 years have passed and the taxonomy of the group is still considered poorly-known in Brazil (Da-Silva & Salles 2012). According to Hubbard (1982), until the referred year, no general catalog of Ephemeroptera was published for

the region. Recently, however, it has been possible to observe a progress in the study of this order in Brazil following the growing number of publications (*e.g.* Brito *et al.* 2011; Gonçalves *et al.* 2011a; Gonçalves *et al.* 2011b; Lima *et al.* 2011; Mariano 2011; Molineri *et al.* 2011; Salles & Lima 2011; Souto *et al.* 2011; Boldrini *et al.* 2012; Couceiro *et al.* 2012).

Our goal was to carry out a scientiometric analysis of the order Ephemeroptera in Brazil. We aim to answer the following questions: (i) What is the rate of growth in scientific production with Ephemeroptera in recent years in Brazil? (ii) Are these papers being cited by others authors? (iii) In which regions and states of Brazil are these studies being carried out? (iv) In which journals are these studies being published? (v) Which are the most studied groups in Brazil? (vi) Which are the main characteristics and gaps in scientific production, taxonomic resolution, study type and life stage? Through this research it will be possible to identify the main knowledge gaps in the current literature of Brazilian mayflies once most part of knowledge will be summarize in this manuscript. By pointing the gaps, we hope to call attention to what remains to be done and studied within the order, encouraging new researches in poorly known areas.

MATERIAL AND METHODS

Our bibliographic research was carried out through the database of the “Institute for Scientific Information – ISI” (<http://portal.isiknowledge.com>). The research was based on

the abstracts, titles and keywords of papers published between 1992 and 2011. Papers presenting the combination of words “Ephemeroptera” and “Brazil*” were selected.

To answer our questions, we analyzed information about the year of publication, the number of citations per year, journal, region and state where mayflies were sampled and the taxa studied in each paper. Papers involving more than one geographic region were counted once only for each region or state. Taxonomic groups were divided into three classes: Ephemeroptera (papers dealing with just one taxon inside the order), other groups (papers with groups cited like “macroinvertebrates”, “benthos”, “Insecta”, “aquatic insects” or “aquatic invertebrates”) and EPTs (papers dealing with the entire local community of Ephemeroptera, or Ephemeroptera and Trichoptera, or Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera).

For information about taxonomic resolution, type of study and life stage, the following categories were used: (1) Taxonomic resolution. “Species”, “morphospecies”, “genus” or “family”. When this information was not found in the abstract, we consulted the main body of the paper. When more than one resolution was used in the same article, we considered resolution applied for more than 50% of the identified taxa. (2) Study type. “Ecological with field approach”, “ecological with experimental/observational approach”, “taxonomical”, “phylogenetic” or “species lists”. We considered field approaches when the paper utilized a systematic methodology resulting in standardized and independent samples. We considered differences in experimental/observational approaches where results were either conducted in the laboratory or by direct observation (field or laboratory). “Taxonomical” were those papers that present species description or redescription, taxonomic recombination or identification keys. “Phylogenetic” were ones that presented character matrices and phylogenetic analyses. Finally, “species lists” were considered when the paper presented species lists or when only new records were reported. Papers that encompassed more than one category counted for more than one category (example: papers of species description accompanied by a phylogenetic analysis). (3) Life stage. “Nymph”, “imago” or “both”.

RESULTS AND DISCUSSION

We found 114 papers concerning the Ephemeroptera in Brazil. Five of them, however, were carried out by Brazilian authors, but not in Brazil, three did not focus on Ephemeroptera as the study group, and 14 dealt with stomach contents of fish (of which mayflies were found in their diet). These papers were removed from the analysis, and 92 papers remained to be analyzed. Although recognizing that our research method left out non-indexed papers, we believe that the standardization of the research is valid for our aim. In case of adopting a manual search to add information, we could inadvertently insert gaps in our results by adding non-indexed papers or by inserting papers that have not been reviewed by

qualified referees. Using only papers within the ISI database, we ensure that all papers analyzed have been carefully reviewed. There are many examples of previous papers using only data from the ISI database (*e.g.* Melo *et al.* 2006; Carneiro *et al.* 2008; Padial *et al.* 2010; Thomaz *et al.* 2010).

Between 1992 and 2011, in four different years in the decade of the 1990s (1993, 1994, 1995 and 1998) there were no papers published on mayflies in Brazil (Fig. 1). After 2008, there was a rapid increase in the number of publications, and 2011 was the most productive year, with 23 published papers. More than one third of the papers were published in the last two years (36 papers). This tendency is concurrent with the increase of scientific papers of aquatic macrophytes in the Neotropics (Padial *et al.* 2008) and with international journals on limnology (Melo *et al.* 2006). A reason for the ascendant interest in aquatic insects can be related to the use of these orders as water bioindicators, as argued by Rosenberg & Resh (1993), Hynes (1984), Merritt *et al.* (1984) and Resh & Rosenberg (1984), as well as an increased interest in stream ecology (Allan 1995).

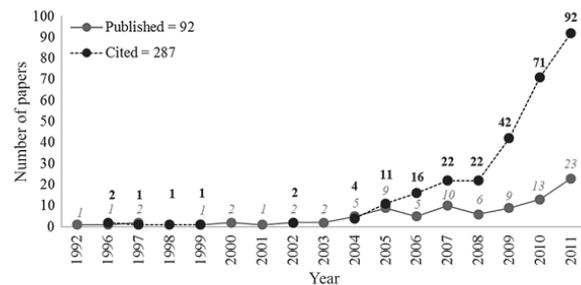


Fig. 1. Number of papers with the order Ephemeroptera (Insecta) published and cited in Brazil, between 1992 and 2011. Bold numbers above represent cited papers and italic numbers below represent published ones.

The 92 published papers were cited 287 times (Fig. 1), of which the most cited was Buss *et al.* (2002), cited 35 times, followed by Melo (2005) (cited 23 times) and Moulton *et al.* (2004) (cited 22 times). These three papers have an ecological approach. The first one investigated the influence of environmental factors on the macroinvertebrate fauna, the second one, on the impact of changes in taxonomic resolution on spatial patterns of macroinvertebrates and the third one investigated the relation between mayfly and shrimp communities and periphyton and sediment. It is clear that ecological papers are most cited than others. Thirty of the 92 studied papers were not cited at all, and the remaining papers were cited one (18 papers), two (11 papers), three (nine papers), four (seven papers), five (two papers), six (four papers), seven (three papers), eight (two papers) and 12, 14, 15, 22, 23 and 35 times (one paper each of them). This is the general pattern of the distribution of citations for scientific papers as proposed by Padial *et al.* (2010), in which few papers receive a high number of citations, whereas most articles receive few or no citations at all.

When we analyzed the regions in which the studies were conducted (Fig. 2), southeastern Brazil was the most studied, with more than 50% of the Brazilian publications (48) and Rio de Janeiro was the most-studied state, largely the result of the researchers J. Nessimian and E. Da-Silva. In the northern region, the laboratory coordinated by N. Hamada in Amazonas state occupied the second place in the publication rank. The high number of publications in Amazonas is also a result of the partnership accomplished by research groups led by N. Hamada and F. F. Salles. Ten of the 15 published papers incorporating data from the Amazon basin were made in association with these specialists. The large amount of work performed in the other northern states is reflective of the new researchers' formation by the *Instituto de Pesquisa da Amazônia* – INPA, that is currently working in Roraima and Amazonas.



Fig. 2. Number of papers published with the order Ephemeroptera (Insecta) in Brazilian regions (below left) and in the Brazilian States, between 1992 and 2011. White states do not have published papers.

The northeast region is the least studied. Less than 10% of the papers published in Brazil were with mayflies sampled in this region, and three of the nine states still did not have any work up to the date of our search (Rio Grande do Norte, Paraíba and Sergipe). We also found a lack of knowledge in the northern region, with three states without published papers (Acre, Amapá and Tocantins), despite being the region with the second highest number of papers, as noted by Salles *et al.* (2004). In the midwest region we could not find studies carried out in the Distrito Federal.

The 92 papers were published in 23 journals. The most used journals were *Zootaxa*, *Aquatic Insects* and *Annales de Limnologie* (all non-Brazilian journals, Fig. 3). The first one

focus on systematics papers, the second one, on systematics and ecology papers with aquatic insects, and the last one, only on ecology papers. Among the Brazilian journals, the most frequently used were *Revista Brasileira de Zoologia* (currently *Zoologia*), *Revista Brasileira de Entomologia* and *Iheringia Série Zoologia*. All of them publish in both systematics and ecology.

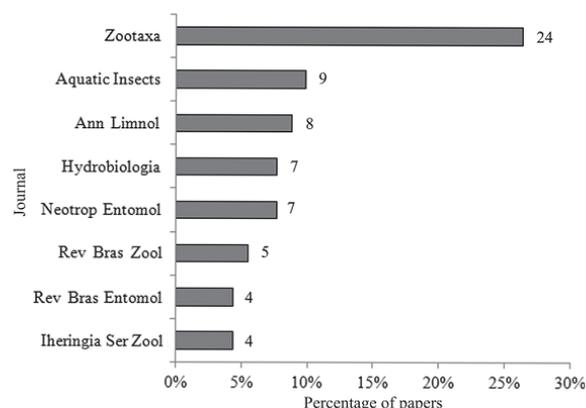


Fig. 3. Percentage and number of published papers in each of the most popular periodicals with the order Ephemeroptera (Insecta) in Brazil, between 1992 and 2011.

When we analyzed the taxonomic groups, 64 papers (more than 70%) dealt exclusively with a single family of Ephemeroptera, 17 papers comprised Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera (EPT) and 11 papers dealt with others groups too. The papers dealing with more than one family, in general, were ecology papers or species lists. Only five of the ten families found in Brazil had at least one paper dedicated to them (Fig. 4A). Our results show that Caenidae, Coryphoridae, Euthyplociidae, Ephemeridae and Melanemerellidae did not have a single paper dealing specifically with them, being only mentioned in species checklists. However, we are aware of a paper that cover one of these families in Brazil, Molineri & Domínguez (2003), that were not included in the ISI results. It must be also pointed that Coryphoridae and Melanemerellidae are monotypic, minimizing the possibility of taxonomic papers being carried out. Euthyplociidae and Ephemeridae, in spite of being non-monotypic, have a low diversity in South America (Domínguez *et al.* 2006). Euthyplociidae has four recorded species to Brazil and Ephemeridae just one (Salles *et al.* 2012). Finally, Caenidae is little studied in Brazil with respect to taxonomy as well as to ecology. In Brazil, 12 of the 19 recorded species have been cited only in the paper containing their respective original description (see <http://ephemeroptera.com.br>).

Baetidae, on the other hand, was the most studied family, with almost 45% of the papers (27). Probably, the available resources allowing for identification at the larval stage of this family have contributed to this result once the knowl-

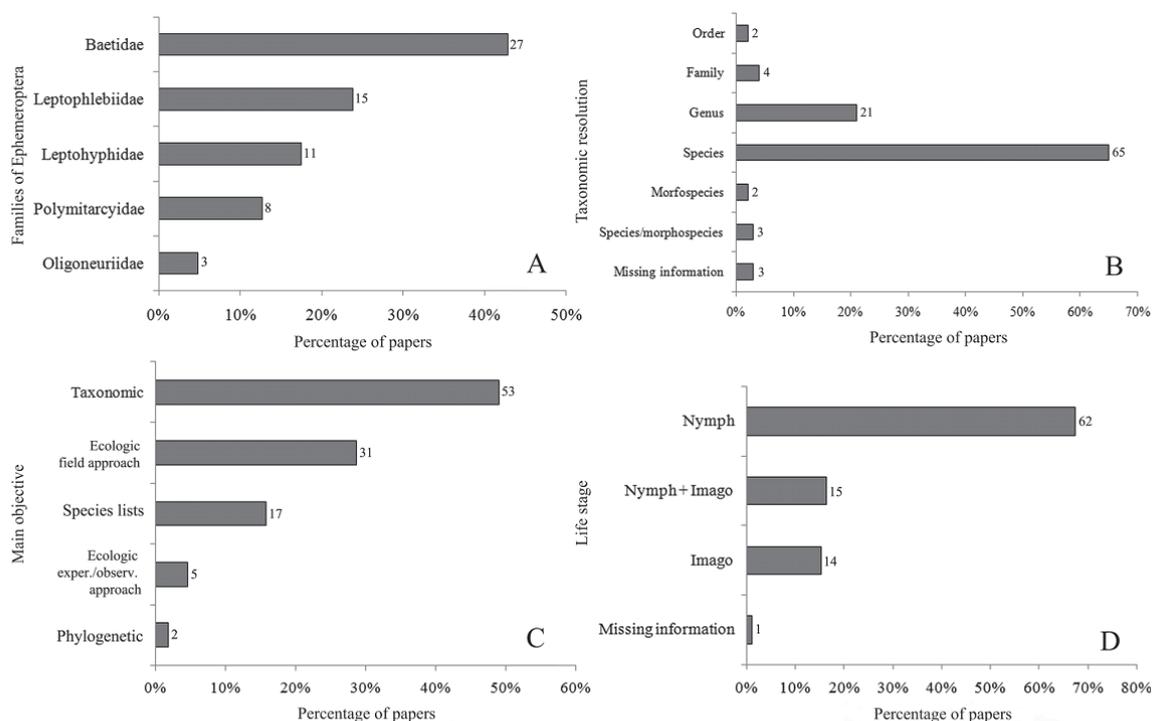


Fig. 4. Percentage and number of published papers according to: Ephemeroptera families (A); taxonomic resolution (B); main objective (C) and life stage of mayflies (D), between the years 1992 and 2011.

edge regarding nymphal stage characters useful for identifying genera and species of Baetidae has increased substantially (Waltz & Burian, 2008). Also, the high diversity of the taxon (83 species recorded from Brazil in Salles *et al.* 2012) may have contributed almost 50% of papers about Ephemeroptera. Another important factor is the high quantity of specialist researchers working on Baetidae, at least five nowadays (employed specialists plus doctoral students).

We believe that the five most studied families provide representative ecological data for the order since all functional feeding groups are found in these families (Shimano *et al.* 2012). Gathering-collectors are represented by Baetidae, Euthyplociidae and Leptohyphidae, filtering-collectors by Oligoneuriidae and Leptophlebiidae, predators by Baetidae, scrapers by Baetidae and Leptophlebiidae, and finally, shredders by Leptophlebiidae.

Most papers (65%) provided identifications at species level (Fig. 4B). The increase of studies with species-level identification is probably a consequence of the publication of an identification key for the Brazilian mayflies (Salles 2006) and of the book "Ephemeroptera of South America" (Domínguez *et al.* 2006). Salles' (2006) identification key has images of relevant body structures, allowing for reliable genus-level identification, and therefore making species identification possible. Domínguez *et al.* (2006), in turn, offers species keys for most South American taxa. Furthermore, there has been more papers dealing with taxonomy, there-

fore reflecting in more papers with species level identifications. According to Merritt *et al.* (2008), identification at the species level is important in ecological studies as congeneric species do not necessarily have the same ecological requirements or identical water quality tolerance.

Considering the type of study, almost 50% of the papers are species descriptions or identification keys (Fig. 4C). There is also a considerable amount of papers dealing with the ecology of Ephemeroptera (31; 30%), but most were conducted together with others orders (Trichoptera and Plecoptera), aquatic insects or even with macroinvertebrates in general. Only one ecological paper evaluated the environmental influence on the Ephemeroptera community (Buss *et al.* 2002). According to Buss *et al.* (2002), Riparian Channel Environment index, dissolved oxygen and dissolved chloride were acting on Ephemeroptera communities together with those of other macroinvertebrates.

The review papers, those including species lists and new or additional records, also represent a considerable percentage of studies (17%). The first list of Brazilian mayfly species (Salles *et al.* 2004) reported 10 families, 63 genera and 166 species. Today, 10 families, 68 genera and 233 species have been recorded (Salles *et al.* 2012). Even so, according to Da-Silva & Salles (2012) it is assumed that twice as many species still remain to be described or recorded in Brazil. A large current gap is found in the study of Ephemeroptera systematics (only 2% of the papers), with only two papers

published in the studied period (Nieto & Salles 2006; Salles *et al.* 2009).

The majority of the papers (almost 70%) studied nymphs (Fig. 4D). According to Waltz & Burian (2008), the major part of taxonomical and ecological papers with Ephemeroptera is focused on nymphs because of the brief adult life and their limited activity. Moreover, in ecological cases, nymphs are much more important due their role in aquatic nutrient cycle (Cummins *et al.* 2008). Only one ecological paper dealt with imagoes, but, mayflies were identified at the order level (Silva *et al.* 2011). The high number of taxonomic papers dealing with nymphs is probably due to the paucity of information in old descriptions (sometimes only a single paragraph). One way to solve part of the taxonomic uncertainties for aquatic insects is through the association between nymphs and imagoes (Merritt *et al.* 2008), what is reflected in the higher percentage of studies dealing with nymph-imago associations (16.3%) compared to the percentage of studies involving only imagoes (15.2%). In addition, apparently, nymphs are easier to sample than imagoes, and require less financial resources.

Concluding, the main gaps found with research on Ephemeroptera in Brazil are: (1) a lack of mayflies studies in some Brazilian states (Rio Grande do Norte, Paraíba, Sergipe, Acre, Amapá, Tocantins and the Distrito Federal), (2) absence of specific studies with some families in Brazil, such as: Caenidae, Coryphoridae, Euthyplociidae, Ephemeridae and Melanemerellidae, (3) absence of studies dealing with phylogenetic relationships, (4) need for improvement of the taxonomic resolution in ecological studies, especially when considering future conservation actions, and (5) lack of knowledge about the environmental variables which may be affecting the distribution of these organisms.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to express our gratitude to Andre Padiál for reviewing an early draft of this manuscript and to Alexander C. Lees for the English review. Y. Shimano is grateful to *Fundação Amazônia Paraense* for a scholarship.

REFERENCES

- Allan, J.D., 1995. **Stream ecology: structure and function of running waters**. London, Chapman & Hall, 388 p.
- Barber-James, H.M., Gattolliat, J.-L., Sartori, M. & Hubbard, M.D. 2008. Global diversity of mayflies (Ephemeroptera, Insecta) in freshwater. **Hydrobiologia** **595**: 339–350.
- Boldrini, R., Cruz, P.V., Salles, F.F., Belmont, E.L. & Hamada, N. 2012. Baetidae (Insecta: Ephemeroptera) from northeastern Brazil. **Check List** **8**: 88–94.
- Brito, P., Salles, F.F. & Dolder, H. 2011. Characteristics of the male reproductive system and spermatozoa of Leptophlebiidae (Ephemeroptera). **Neotropical Entomology** **40**: 103–107.
- Buss, D.F., Baptista, D.F., Silveira, M.P., Nessimian, J.L. & Dorvillé, L.F.M. 2002. Influence of water chemistry and environmental degradation on macroinvertebrate assemblages in a river basin in south-east Brazil. **Hydrobiologia** **481**: 125–136.
- Carneiro, F.M., Nabout, J.C. & Bini, L.M. 2008. Trends in the scientific literature on phytoplankton. **Limnology** **9**: 153–158.
- Couceiro, S.R.M., Hamada, N., Forsberg, B.R., Pimentel, T.P. & Luz, S.L.B. 2012. A macroinvertebrate multimetric index to evaluate the biological condition of streams in the Central Amazon region of Brazil. **Ecological Indicators** **18**: 118–125.
- Cummins, K.W. 1973. Trophic relations of aquatic insects. **Annual Review of Entomology** **18**: 183–206.
- Cummins, K.W., Merritt, R.W. & Berg, M.B. 2008. Ecology and distribution of aquatic insects, p. 105–122. In: Merritt, R.W., Cummins, K.W. & Berg, M.B. (eds.). **An introduction to the aquatic insects of North America**. Fourth edition, Dubuque, Kendall/Hunt Publishing Company, 1214 p.
- Da-Silva, E.R. & Salles, F.F. 2012. Ephemeroptera Hyatt & Arms, 1891, p. 231–244. In: Rafael, J.A., Melo, G.A.R., Carvalho, C.J.B., Casari, S.A. & Constantino, R. (eds.). **Insetos do Brasil: Diversidade e taxonomia**. Ribeirão Preto, Holos, 810 p.
- Dias-Silva, K., Cabette, H.S.R., Juen, L. & DeMarco, P. 2010. The influence of habitat integrity and physical-chemical water variables on the structure of aquatic and semi-aquatic Heteroptera. **Zoologia** **27**: 918–930.
- Domínguez, E., Molineri, C., Pescador, M.L., Hubbard, M.D. & Nieto, C. 2006. **Aquatic Biodiversity of Latin America. Vol. 2. Ephemeroptera of South America**. Sofia, Pensoft, 646 p.
- Edmunds Jr., G.E., Jensen, S.L. & Berner, L. 1976. **The Mayflies of North and Central America**. Minnesota, University of Minnesota Press, 330 p.
- Gonçalves, I.C., Cid, B., Mortati, A.F., Quesado, L.B. & Nessimian, J.L. 2011a. Relative size of gills of *Cloodes jaragua* Salles & Lugo-Ortiz, 2003 (Ephemeroptera, Baetidae) on pool and riffle areas of streams at the Atlantic Rainforest. **Biota Neotropica** **11**: 217–220.
- Gonçalves, I.C., Da-Silva, E.R. & Nessimian, J.L. 2011b. *Oligoneuria macabaiba* sp. nov. (Insecta: Ephemeroptera) from Brazil. **Revista de Biologia Tropical** **59**: 1553–1557.
- Hubbard, M.D. 1982. Catálogo abreviado de Ephemeroptera da América do Sul. **Papéis Avulsos de Zoologia** **34**: 257–282.
- Hynes, H.B.N. 1984. The relationships between the taxonomy and ecology of aquatic insects, p. 9–23. In: Resh, V.H. & Rosenberg, D.M. (eds.). **The Ecology of Aquatic Insects**. New York, Praeger Publishers, 625 p.
- Juen, L. & DeMarco, P. 2011. Odonata biodiversity in terra-firme forest streamlets in Central Amazonia: on the relative effects of neutral and niche drivers at small geographical extents. **Insect Conservation and Diversity** **4**: 265–274.
- Lima, L.R.C., Salles, F.F. & Pinheiro, U.S. 2011. New species of Leptohiphidae (Ephemeroptera) from northeastern Brazil. **Zootaxa** **3050**: 63–68.
- Mariano, R. 2011. A new species of *Paramaka* Savage & Domínguez, 1992 (Ephemeroptera: Leptophlebiidae: Atalophlebiinae) from Brazil. **Zootaxa** **3038**: 45–50.
- Melo, A.S. 2005. Effects of taxonomic and numeric resolution on the ability to detect ecological patterns at a local scale using stream macroinvertebrates. **Archiv für Hydrobiologie** **164**: 309–323.
- Melo, A.S. 2009. Explaining dissimilarities in macroinvertebrate assemblages among stream sites using environmental variables. **Zoologia** **26**: 79–84.
- Melo, A.S., Bini, L.M. & Carvalho, P. 2006. Brazilian articles in international journals on Limnology. **Scientometrics** **67**: 187–199.
- Merritt, R.W., Cummins, K.W. & Burton, T.M. 1984. The role of aquatic insects in the processing and cycling of nutrients, p. 134–163. In: Resh, V.H. & Rosenberg, D.M. (eds.). **The Ecology of Aquatic Insects**. New York, Praeger Publishers, 625 p.
- Merritt, R.W., Cummins, K.W. & Berg, M.B. 2008. **An introduction to the aquatic insects of North America**. Dubuque, Kendall/Hunt Publishing Company, 1214 p.
- Molineri, C. & Domínguez, E. 2003. Nymph and egg of *Melanemerella brasiliensis* (Ephemeroptera: Ephemerelloidea: Melanemerellidae), with comments on its systematic position and the higher classification of Ephemerelloidea. **Journal of North American Benthological Society** **22**: 263–275.

- Molinieri, C., Cruz, P.V. & Emmerich, D. 2011. A new species of *Asthenopus* (Ephemeroptera: Polymitarcyidae: Asthenopodinae) from Brazil and Colombia. **Zootaxa** **2750**: 33–38.
- Monteiro Júnior, C.S., Couceiro, S.R.M., Hamada, N. & Juen, L. 2013. Effect of vegetation removal for road building on richness and composition of Odonata communities in Amazonia, Brazil. **International Journal of Odonatology** **16**: 135–144.
- Moulton, T.P., Souza, M.L., Silveira, R.M.L. & Krsuloviae, F.A.M. 2004. Effects of ephemeropterans and shrimps on periphyton and sediments in a coastal stream (Atlantic forest, Rio de Janeiro, Brazil). **Journal of the North American Benthological Society** **23**: 868–881.
- Needham, J.G. & Murphy, H.E. 1924. Neotropical mayflies. **Bulletin of the Lloyd Library of Botany, Pharmacy and Materia Medica** **24** (Entomological Series 4): 1–79.
- Nieto, C. & Salles, F.F. 2006. Revision of the Genus *Paracloeodes* (Ephemeroptera: Baetidae) in South America. **Zootaxa** **1303**: 1–33.
- Padial, A.A., Nabout, J.C., Siqueira, T., Bini, L.M. & Diniz-Filho, J.A.F. 2010. Weak evidence for determinants of citation frequency in ecological articles. **Scientometrics** **85**: 1–12.
- Padial, A.A., Bini, L.M. & Thomaz, S.M. 2008. The study of aquatic macrophytes in Neotropics: a scientometrical view of the main trends and gaps. **Brazilian Journal of Biology** **68**: 1051–1059.
- Resh, V.H. & Rosenberg, D.M. 1984. **The Ecology of Aquatic Insects**. New York, Praeger Publishers, 625 p.
- Rosenberg, D.M. & Resh, V.H. 1993. Introduction to freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates, p. 1–9. In: Rosenberg, D.M. & Resh, V.H. (eds.). **Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates**. New York, Chapman & Hall, 488 p.
- Salles, F.F. & Lima, M.M. 2011. New species and new records of *Miroculis* Edmunds (Ephemeroptera: Leptophlebiidae) from Southeastern Brazil. **Zootaxa** **2740**: 53–58.
- Salles, F.F. 2006. **A ordem Ephemeroptera no Brasil (Insecta): taxonomia e diversidade**. Ph. D. dissertation. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 300 p.
- Salles, F.F., Francischetti, C.N. & Soares, E.D.G. 2009. The presence of *Homoeoneuria* s.s. (Ephemeroptera: Oligoneuriidae) in South America with the description of a new species. **Zootaxa** **2146**: 53–60.
- Salles, F.F., Da-Silva, E.R., Hubbard, M.D. & Serrão, J.E. 2004. As espécies de Ephemeroptera (Insecta) registradas para o Brasil. **Biota Neotropica** **4**: 1–34.
- Salles, F.F., Boldrini, R., Nascimento, J.C.M., Raimundi, E.A. & Shimano, Y. 2012. Ephemeroptera do Brasil. Available at: <https://sites.google.com/site/ephemeropterabr> (accessed 14 May 2012).
- Shimano, Y., Salles, F.F., Faria, L.R.R., Cabette, H.S.R. & Nogueira, D.S. 2012. Distribuição espacial das guildas tróficas e estruturação da comunidade de Ephemeroptera (Insecta) em córregos do Cerrado de Mato Grosso, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, **102**: 187–196.
- Silva, N.A.P., Frizzas, M.R. & Oliveira, C.M. 2011. Seasonality in insect abundance in the “Cerrado” of Goiás State, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia** **55**: 79–87.
- Souto, R.M.G., Facure, K.G., Pavanin, L.A. & Jacobucci, G.B. 2011. Influence of environmental factors on benthic macroinvertebrate communities of urban streams in Vereda habitats, Central Brazil. **Acta Limnológica Brasiliensia** **23**: 293–306.
- Thomaz, S.M., Michelan, T.S., Carvalho, P. & Bini, L.M. 2010. The influence of “Homage to Santa Rosalia” on aquatic ecology: a scientometric approach. **Hydrobiologia** **653**: 7–13.
- Vison, M.R. & Hawkins, C.P. 1998. Biodiversity of stream insects: Variation at local, basin and regional scales. **Annual Review of Entomology** **43**: 271–193.
- Voelz, N.J. & McArthur, J.V. 2000. An exploration of factors influencing lotic insect species richness. **Biodiversity and Conservation** **9**: 1543–1570.
- Waltz, R.D. & Burian, S.K. 2008. Ephemeroptera, p. 181–236. In: Merritt, R.W., Cummins, K.W. & Berg, M.B. (eds.). **An introduction to the aquatic insects of North America**. Dubuque, Kendall/Hunt Publishing Company, 1214 p.

Received 9 December 2012; accepted 4 November 2013

Associate Editor: Marcio R. Pie

Revista Brasileira de Entomologia 57(4): 359–364, December 2013

SECÇÃO 2

ESCLARECIMENTOS METODOLÓGICOS

CAPÍTULO 2: Shimano, Y; Faria, A.P.J.; Cunha, E.J.; Nicacio, G.; Cardoso M.; Mendes, T.P. & Juen, L. 2015. Protocolo de coleta de insetos bentônicos em córregos (Nota científica formatada nas normas da revista Entomobrasilis);

CAPÍTULO 3: Shimano, Y; Cardoso M. & Juen, L. 2015. Biodiversidade de Ephemeroptera (Insecta) em córregos tropicais: Qual é o esforço de coleta necessário para uma boa representação? (artigo científico formatado nas normas da revista Ecological Indicators).

2
3
4 **Sampling protocol for stream benthic insects**

5
6 Yulie Shimano¹, Ana Paula Justino de Faria², Erlane José Cunha¹, Gilberto Nicacio¹,
7 Mylena Cardoso², Thiago Pereira Mendes¹ and Leandro Juen³

8
9 ¹Programa de Pós-graduação em Zoologia, Universidade Federal do Pará/Museu Paraense
10 Emílio Goeldi, Rua Augusto Correia, nº 1 Bairro Guamá, 66.075-110, Belém, PA, Brazil.

11 ²Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca, Universidade Federal do
12 Pará/Museu Paraense Emílio Goeldi, Rua Augusto Correia, nº 1 Bairro Guamá, 66.075-
13 110, Belém, PA, Brazil.

14 ³Laboratório de Ecologia e Conservação, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade
15 Federal do Pará/Museu Paraense Emílio Goeldi, Rua Augusto Correia, nº 1 Bairro Guamá,
16 66.075-110, Belém, PA, Brazil.

17
18 **Figures:** A total of 3 figures

19
20 **Keywords.** Environmental monitoring; Sample delineation; Sampler; Sampling
21 methodology; Streams.

22 **Palavras-chave:** Amostrador; Delineamento amostral; Monitoramento ambiental;
23 Metodologia de coleta; Riachos.

24
25 Corresponding author: shimano.yulie@gmail.com

27 **Abstract.** We propose a new sampler and a sampling delineation to collect stream benthic
28 macroinvertebrates. The sampler has a circular base and a surface area of 118 cm² and the
29 stream sampling area comprises 150 m in continuous length, which is subdivided into 30
30 segments, 20 of which were sampled in two portions of different substrates. The purpose of
31 this methodology is to include higher environmental variability and more types of
32 substrates available. This sampling methodology is proposed for ecological studies and has
33 been successfully reproduced in several different groups of benthic macroinvertebrates.

34

35 **Sampling protocol for stream benthic insects**

36

37 **Resumo.** Nós propomos um amostrador e um delineamento de coleta para amostragem de
38 macroinvertebrados bentônicos em igarapés e riachos. O amostrador possui uma base
39 circular e uma área de superfície de 118 cm² e a área de amostragem do igarapé é de 150 m
40 de comprimento contínuo do igarapé, subdividido em 30 segmentos, no qual 20 são
41 amostrados duas porções de diferentes tipos de substratos. A intenção dessa metodologia é
42 abranger uma maior variedade ambiental e maior quantidade de substratos disponíveis.
43 Essa metodologia de coleta é proposta para trabalhos ecológicos e foi reproduzido com
44 sucesso em diversos grupos de macroinvertebrados bentônicos.

45

46 Over the past years, aquatic invertebrates have been extensively used in ecological
47 studies, mainly to assess the quality of aquatic ecosystems (e.g. Baptista, 2008; Buss,
48 2008). However, despite advances in the study of these organisms, there are still issues
49 with their sampling methodology, with emphasis on (i) the large amount of samples that
50 quantitative studies require, which makes them quite burdensome; (ii) the fact that
51 organisms are subject to seasonal variations, which might hinder data comparison (Resh
52 and Jackson, 1993; Martins *et al.* 2014); (iii) and the existence of a large amount of
53 samplers available (e.g. surber, sieve, D-shaped net, manual collection, dredge, artificial
54 substrates).

55 In the case of rapid inventory application studies for biomonitoring programs (RAP
56 - *Rapid Assessment Process*), Carter and Resh (2001) observed that the most frequently
57 used scan sampling method is the D-shaped net. This instrument consists of a "D"-shaped
58 iron or aluminum structure, attached to a cable made of the same material, which supports
59 a resilient screen (Oliveira and Pes, 2014); it is frequently used in quantitative and
60 qualitative studies (e.g. Belmont *et al.* 2012) and samples a surface area of 570 cm². Most
61 studies use around 10 samples, totaling an area of 57m² per stream. However, for sampling
62 in lotic environments, 10 subunits might not be enough to encompass all variation because
63 these are very heterogeneous environments. On the other hand, due to the difficulty in
64 sorting and identifying benthic macroinvertebrates, it is practically impossible or
65 unfeasible to broaden this effort. One alternative to solve this deadlock is to divide the
66 "D"-shaped net area into more subunits, thus having a better representation of the
67 biodiversity without increasing the size of the sampled area, and improving the spatial
68 distribution of sampling.

69 In this study, we present a new type of sampler adapted from the D-shaped net that
70 enables a better representation of the environmental heterogeneity, and which is also a
71 sample delineation to be employed in the collection of benthic macroinvertebrates in
72 ecological studies of small streams.

73 *Sampler*

74 Our sampler consists of an 18-cm circular sieve with surface area of approximately
75 113 cm² and a 0.05-mm mesh, attached to an aluminum structure (Figure 1A). The circular
76 rim has made sampling easier in irregular stretches of the assessed streams, mainly when
77 sampling more complex substrates, such as fine entangled roots or in very particular
78 mesohabitats (excavated margins, under rocks and roots). This is an advantage compared

79 to the D-shaped net and its large base. The capture area of substrates in the circular kick
80 net is smaller than the one usually used in the D-shaped net, even when the latter samples a
81 smaller area, and it has the great advantage of providing a more specialized sampling,
82 which potentializes a better representation of the environmental variability. The circular
83 kick net has already been used successfully in several ecological studies in the State of
84 Mato Grosso (e.g. Brasil *et al.* 2014; Giehl *et al.* 2014), where it proved to be very
85 effective.

86 *Sample design*

87 The sampling protocol is applied in a fixed area of 150 meters of continuous stretch
88 in a stream, which is used as a sampling unit. The 150 meters are subdivided into 10 15-
89 meter sections, designated by letters from A to K and marked on the field with colored
90 tapes in the downstream-upstream direction (Figure 2). Each section is subdivided into
91 three five-meter segments, totaling 30 segments, and sampling is performed only in 20
92 (always the two first segments of each section) (Figure 2). The third segment of each
93 section is used as access to the other segments, thus preventing segments from being
94 trampled upon before they are sampled. The size of the sampling area (150 meters) and the
95 sampling delineation were chosen and adapted according to the Environmental Monitoring
96 Program of the U.S. Environmental Protection Agency (Kaufmann *et al.* 1999), so that the
97 environmental protocol proposed by the agency (Peck *et al.* 2009) might easily be applied
98 together with the collection of organisms.

99 Sampling must always be carried out from downstream to upstream not to change
100 the substrates and organisms which are still to be collected; otherwise, the current would
101 carry the sediments revolved during the down-river movement (Figure 3A). Whenever
102 possible, the sampler must be positioned outside the stream or on the already sampled
103 substrates to prevent the non-collected substrates from being trampled upon. However, this
104 is not always possible. Therefore, we recommend using an extender cable for the kick net
105 because it enables sampling in deeper or relatively inaccessible locations. Before starting
106 the sampling, the field ecologist must scan (visual assessment) along the segment and
107 check which types of substrates are available, seeking to sample the greatest possible
108 environmental variability.

109 The field ecologist must obtain a portion of different substrates available in the
110 environment, and the substrate shall fill the entire kick net, thus comprising one sample
111 (kick nets = 226 cm² of sampled area per segment; 20 segments = 45.2 m² sampled per

112 stream). Randomization is used in sampling with the purpose of minimizing the organism
113 association effect in certain substrates (e.g. Shimano *et al.* 2012, Kikuchi and Uieda,
114 2005). Therefore, a larger number of organisms are sampled, associated to a wide variety
115 of differentiated habitats. For a larger collection range per sampling subunit, the guideline
116 is to drag the kick net for a distance of 30 m in each substrate.

117 After collection, the samples are placed on white trays or in plastic bags (Figure
118 3B). Sorting is performed on the field using the white trays and entomological pliers,
119 which enables a better preservation of the specimens and minimizes the breaking of
120 organisms during sample transportation, which is relevant for their identification. The
121 collected specimens are fixed in 85% alcohol (Figure 3C).

122 If sampling in 20 segments is not feasible for logistic reasons, we suggest that the
123 greatest number possible of segments is sampled. These samples, however, should be
124 distributed randomly along the 150 meters because maintaining the same sampling section
125 is more effective for the sampling of species composition (Shimano *et al.* unpublished
126 data).

127 This methodology must always be applied during the dry season, as seasonality
128 changes the community structure of aquatic insects in lotic environments (Oliveira *et al.*
129 1997) and hinders the assessment of environmental variables. Some studies have proven
130 that abundance is higher in the dry season than in the rainy season due to the reduction of
131 microhabitats and higher concentration of individuals (Bispo *et al.* 2001).

132 This delineation, together with the circular sampler, has been effective for the
133 collection of Diptera, Ephemeroptera, Trichoptera, Plecoptera, Odonata, and Hemiptera
134 (Nepomorpha) in several small rivers of Amazonia (unpublished data, see MS I), and it
135 might be applied in other biomes with no loss in effectiveness. Standardizing the area and
136 sampling delineation of these organisms enables future large-scale comparisons for
137 macroecological analyses.

138

139 **References**

- 140 BAPTISTA, DF., 2008. Uso de macroinvertebrados em procedimentos de
141 biomonitoramento em ecossistemas aquáticos. Oecol. Bras., vol. 12, p. 425-441.
142 BELMONT, ELL., SALLES, FF., and HAMADA, N., 2012. Leptohiphidae (Insecta,
143 Ephemeroptera) do Estado do Amazonas, Brasil: novos registros, nova combinação,
144 nova espécie e chave de identificação para estágios ninfais. Rev. Bras. entomol.,
145 vol. 56, p. 289-296.

- 146 BISPO, PC., OLIVEIRA, LG., CRISCI, VL., and SILVA, MM., 2001. A pluviosidade
147 como fator de alteração da entomofauna bentônica (Ephemeroptera, Plecoptera e
148 Trichoptera) em córregos do Planalto Central do Brasil. Acta Limnol. Bras., vol.
149 13, p.1-9.
- 150 BRASIL, LS., JUEN, L., BATISTA, JD., PAVAN, MG., and CABETTE, HSR., 2014.
151 Longitudinal distribution of the functional feeding groups of aquatic insects in
152 streams of the Brazilian Cerrado Savanna. Neotrop. entomol., vol. 43, p. 421-428.
- 153 BUSS, DF., 2008. Desenvolvimento de um índice biológico para uso de voluntários na
154 avaliação da qualidade da água de rios. Oecol. Bras., vol. 121, p. 520-530.
- 155 CARTER, JL., and RESH, VH., 2001. After site selection and before data analysis:
156 sampling, sorting and laboratory procedures used in stream benthic
157 macroinvertebrate monitoring programs by USA state agencies. J. N. AM.
158 BENTHOL. SOC., vol. 20, p. 658-682.
- 159 GIEHL, NF., DIAS-SILVA, K., JUEN, L., BATISTA, JD., and CABETTE, HSR., 2014.
160 Taxonomic and Numerical Resolutions of Nepomorpha (Insecta: Heteroptera) in
161 Cerrado Streams. Plos One, 9: 10.1371/journal.pone.0103623.
- 162 KAUFMANN, PR., LEVINE, P., PECK, DV., ROBISON, EG. and SEELIGER, C., 1999.
163 Quantifying physical habitat in wadeable streams. Washinton, D.C. EPA/620/R-
164 99/003. U.S. Environmental Protection Agency, 149p.
- 165 KIKUCHI, RM., and Uieda, VS., 2005. Composição e distribuição dos
166 macroinvertebrados em diferentes substratos de fundo de um riacho no Município
167 de Itatinga, São Paulo, Brasil. Entomol vectores, vol. 12, p. 193-231.
- 168 MARTINS, RT., OLIVEIRA, VC., and SALCEDO, AKM., 2014. Uso de insetos
169 aquáticos na avaliação de impactos antrópicos em ecossistemas, p. 117-128. *In:*
170 Hamada, N., J.L. Nessimian & R.B. Querino (Eds.). *Insetos aquáticos na Amazônia*
171 *brasileira: taxonomia, biologia e ecologia*. Manaus, Editora do INPA, 728p.
- 172 OLIVEIRA, LG., BISPO, PDC., and Sá, ND., 1997. Ecologia de comunidades de insetos
173 bentônicos (Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera), em córregos do Parque
174 Ecológico de Goiânia, Goiás, Brasil. Rev. bras. zool., vol. 14, p. 867-876.
- 175 OLIVEIRA, VC. and PES, AMO., 2014. Inventário da fauna de insetos aquáticos: coleta,
176 preservação e criação, p. 141-154. *In:* Hamada, N., J.L. Nessimian and R.B. Querino
177 (Eds.). *Insetos aquáticos na Amazônia brasileira: taxonomia, biologia e ecologia*.
178 Manaus, Editora do INPA, 728p.
- 179 PECK, DV., HERLIHY, AT., HILL, BH., HUGHES, RM., KAUFMANN, PR., KLEMM,
180 DJ., LAZORCHAK, JM., MCCORMICK, FM., PETERSON, SA., RINGOLD,
181 PL., MAGEE, T., and CAPPAERT, M., 2006. Environmental monitoring and
182 assessment program-surface waters westerns pilot study: Field operations manual
183 for wadeable streams. EPA/620/R-06/003. Washington, D.C., U.S. Environmental
184 Protection Agency, Office of Research and Development, 332p.
- 185 RESH, VH. and JACKSON, JK., 1993. Rapid assessment approaches to biomonitoring
186 using benthic macroinvertebrates, p. 195-233. *In:* Rosenberg D.M. & V.H. Resh
187 (Eds.). *Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates*. New York:
188 Chapman & Hall, 488p.
- 189 SHIMANO, Y., SALLES, FF., FARIA, LRR., CABETTE HSR., and NOGUEIRA, DS.,
190 2012. Distribuição espacial das guildas tróficas e estruturação da comunidade de
191 Ephemeroptera (Insecta) em córregos do Cerrado de Mato Grosso, Brasil. Iheringia,
192 Sér. Zoo. 102: 187-196.
- 193

194
195

SUPPLEMENTARY MATERIAL

MS1. Main macroinvertebrate groups collected by using the methodology proposed.

DIPTERA	EPEMEROPTERA	HEMIPTERA (NEPOMORPHA)	ODONATA	TRICHOPTERA
<i>Ablabesmyia</i>	<i>Amahyphes</i>	<i>Ambrysus</i>	<i>Acanthagrion</i>	<i>Amazonatolica</i>
<i>Anopheles</i>	<i>Americabaetis</i>	<i>Belostoma</i>	<i>Aeschnosoma</i>	<i>Cernotina</i>
<i>Beardius</i>	<i>Apobaeti</i>	<i>Buenoa</i>	<i>Agriogomphus</i>	<i>Chimarra</i>
<i>Beris</i>	<i>Askola</i>	<i>Gelastocoris</i>	<i>Archaeogomphus</i>	<i>Cyrnellus</i>
<i>Bezzia</i>	<i>Asthenopus</i>	<i>Heterocorixa</i>	<i>Argia</i>	<i>Gênero A</i>
<i>Caladomyia</i>	<i>Aturbina</i>	<i>Limnocois</i>	<i>Argyrothemis</i>	<i>Helicopsyche</i>
<i>Chironomus</i>	<i>Baetodes</i>	<i>Martarega</i>	<i>Brechmorhoga</i>	<i>Leptonema</i>
<i>Clinotanytus</i>	<i>Brasilocaenis</i>	<i>Neoplea</i>	<i>Chalcopteryx</i>	<i>Macronema</i>
<i>Cryptochironomus</i>	<i>Caenis</i>	<i>Nerthra</i>	<i>Cyanogomphus</i>	<i>Macrostemum</i>
<i>Culex</i>	<i>Callibaetis</i>	<i>Notonecta</i>	<i>Desmogomphus</i>	<i>Marilia</i>
<i>Culicoides</i>	<i>Callibatoides</i>	<i>Paratrephes</i>	<i>Diastatops</i>	<i>Mortoniella</i>
<i>Dicrotendipes</i>	<i>Camelobaetidius</i>	<i>Pelocoris</i>	<i>Elasmothemis</i>	<i>Nectopsyche</i>
<i>Dixella</i>	<i>Campsurus</i>	<i>Ranatra</i>	<i>Elga</i>	<i>Neotrichia</i>
<i>Djalmabatista</i>	<i>Campylocia</i>	<i>Tenagobia</i>	<i>Epigomphus</i>	<i>Oecetis</i>
<i>Fissimentum</i>	<i>Cloeodes</i>		<i>Erpetogomphus</i>	<i>Phylloicus</i>
<i>Forcipomyia</i>	<i>Coryphorus</i>		<i>Erythemis</i>	<i>Polypsectropus</i>
<i>Hemerodromia</i>	<i>Cryptonympha</i>		<i>Fylgia</i>	<i>Smicridea</i>
<i>Hexatoma</i>	<i>Ephemeroptera</i>		<i>Gynothemis</i>	<i>Triplectides</i>
<i>Labrundinia</i>	<i>Farrodes</i>		<i>Heliocharis</i>	
<i>Larsia</i>	<i>Fittkaulus</i>		<i>Idioneura</i>	
<i>Limnophora</i>	<i>Guajirolus</i>		<i>Lauromacromia</i>	
<i>Limonia</i>	<i>Hagenulopsis</i>		<i>Macrothemis</i>	
<i>Nilothauma</i>	<i>Hydrosmilodon</i>		<i>Mnesarete</i>	
<i>Oukuriella</i>	<i>Microphlebia</i>		<i>Nehalennia</i>	
<i>Parachironomus</i>	<i>Miroculis</i>		<i>Neocordulia</i>	
<i>Pelomus</i>	<i>Oligoneuria</i>		<i>Neogomphus</i>	
<i>Pentaneura</i>	<i>Paracloeodes</i>		<i>Neoneura</i>	
<i>Phaenopsectra</i>	<i>Paramaka</i>		<i>Oligoclada</i>	
<i>Polypedilum</i>	<i>Simothraulopsis</i>		<i>Oxyagrion</i>	
<i>Rheotanytarsus</i>	<i>Spiritiops</i>		<i>Oxystigma</i>	
<i>Silvius</i>	<i>Terpides</i>		<i>Perilestes</i>	
<i>Stempellina</i>	<i>Thraulodes</i>		<i>Perithemis</i>	
<i>Stempellinella</i>	<i>Tikuna</i>		<i>Phyllocycla</i>	
<i>Stenochironomus</i>	<i>Tomedontus</i>		<i>Polythore</i>	
<i>Tabanus</i>	<i>Traveryphes</i>		<i>Praeviogomphus</i>	
<i>Tanytarsus</i>	<i>Tricorythodes</i>		<i>Progomphus</i>	
<i>Telmatoscopus</i>	<i>Tricorythopsis</i>		<i>Protoneura</i>	
<i>Tipula</i>	<i>Ulmeritoides</i>		<i>Zenithoptera</i>	
<i>Xestochironomus</i>	<i>Waltzoyphius</i>		<i>Zonophora</i>	
<i>Zavreliella</i>	<i>Zelusia</i>			

196
197

198 **Captions**

199 **Figure 1.** Benthic macroinvertebrate collection equipment, kick net.

200 **Figure 2.** Sketch of the delineation used for the collection of benthic macroinvertebrates in
201 streams for ecological studies. 150-meter sampling stretch, subdivided into 10 15-meter
202 sections; each section is subdivided into 5-meter segments, and only the two first segments
203 are sampled. Segments marked with an x are used for moving inside the sections, thus
204 avoiding trampling.

205 **Figure 3.** Benthic macroinvertebrate collection in streams for ecological studies. (A) use of
206 kick net for collection; (B) substrate samples; (C and D) field sorting.
207

208 **Figures**

209

210 **Figure 1**



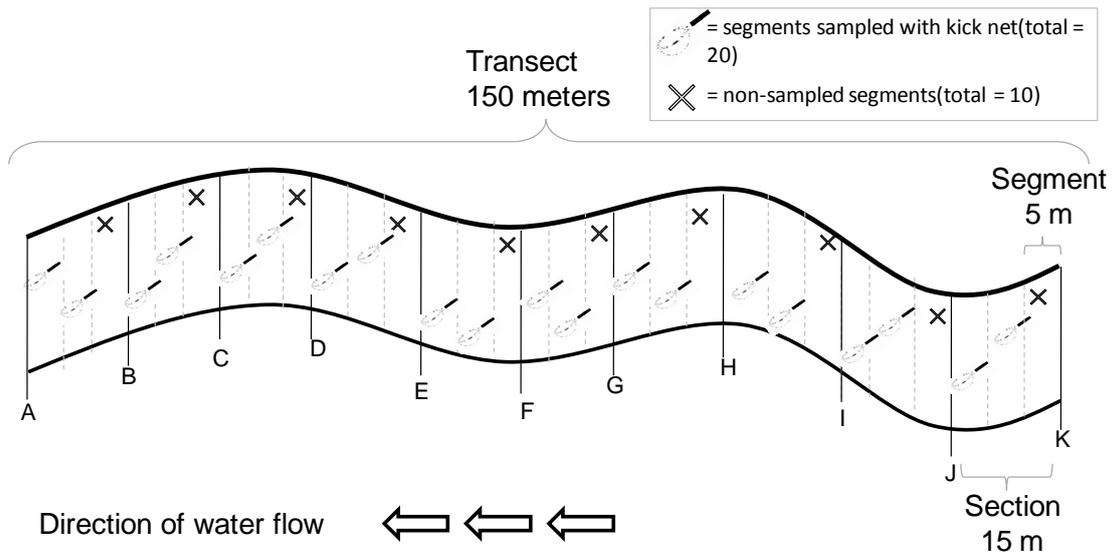
211

212 **Figure 2**



213

214 **Figure 3**



215

2
3
4 **Biodiversidade de Ephemeroptera (Insecta) em córregos tropicais: Qual é o esforço**
5 **de coleta necessário para uma boa representação?**
6

7 Yulie Shimano¹, Mylena Cardoso² & Leandro Juen³
8

9 ¹Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Universidade Federal do Pará/Museu Paraense
10 Emílio Goeldi, Rua Augusto Correia, nº 1 Bairro Guamá, 66.075-110, Belém, PA, Brasil.

11 ²Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca, Universidade Federal do
12 Pará, Rua Augusto Correia, nº 1 Bairro Guamá, 66.075-110, Belém - PA, Brasil

13 ³Laboratório de Ecologia e Conservação, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade
14 Federal do Pará, Rua Augusto Correia, nº 1 Bairro Guamá, 66.075-110, Belém, PA, Brasil.
15

16
17 *autor correspondente: shimano.yulie@gmail.com
18
19
20
21

22 **Resumo.** Apesar do aumento de estudos com macroinvertebrados aquáticos nos últimos
23 anos, algumas lacunas sobre o conhecimento desses organismos ainda persistem, questões
24 sobre a padronização e metodologia de coleta ainda não foram resolvidas. Sendo assim,
25 nosso objetivo nesse estudo foi (i) determinar qual o número necessário de réplicas em
26 trabalhos ecológicos para gerar uma amostra que represente bem a comunidade de
27 Ephemeroptera, (ii) verificar se as amostragens devem ser contínuas ou descontínuas ao
28 longo do córrego e (iii) verificar a congruência de resultados usando diferentes resoluções
29 taxonômicas (família, gênero, espécie/morfoespécie ou grupo funcional). Esforços de
30 amostragem com grupos de 5, 10, 15 e 20 segmentos (sub-amostras) foram comparadas
31 quanto à abundância e riqueza (Análises de Variância), e composição (Procrustes). A
32 resolução taxonômica e distribuição do esforço de amostragem (contínuo ou descontínuo)
33 também foram comparadas usando a análise de Procrustes. A abundância ($F_{(3,156)}= 22,734$,
34 $p<0,001$) e riqueza ($F_{(3,156)}=22,734$; $p<0,001$) diferiram entre os tratamentos mostrando que
35 apenas o tratamento de 15-s consegue capturar a riqueza e abundância similar a encontrada
36 com o esforço de 20-s. O mesmo foi verificado para a composição de espécies. Já os dados
37 descontínuos foram mais concordantes do que os dados contínuos (descontínuo=84% e
38 contínuo=80,7%). Por fim, a resposta encontrada usando gênero foi concordante em 99%
39 ao encontrado para espécie. Sendo assim, é possível reduzir o esforço de amostragem de 20
40 para 15 segmentos (sub-amostras) em cada córrego, e que a descontinuidade da coleta ao
41 longo do córrego é mais efetiva para capturar a biodiversidade do que a amostragem
42 contínua. A resolução taxonômica pode ser reduzida para nível genérico. A diminuição de
43 cinco sub-amostras por ponto de coleta diminuirá a quantidade de material para ser
44 processado e o esforço aplicado em campo, possibilitando despende mais tempo para
45 triagem, enquanto que a manutenção da área de 150 m de amostragem para coletas
46 descontínua irá permitir o aumento dos habitats a serem amostrados, contribuindo para
47 aumento de táxons amostrados. Além de diminuir o tempo e recursos financeiros gastos na
48 identificação, utilização da resolução a nível genérico poderá ajudar a minimizar erros de
49 sub ou superestimação dos resultados.

50 **Palavras-chave.** Congruência, monitoramento ambiental, grupo funcional alimentar,
51 esforço de coleta, resolução taxonômica.

52

53 **Ephemeroptera (Insecta) biodiversity in tropical streams: Which is the necessary**
54 **effort to a good representation?** Despite the increase in the study of aquatic
55 macroinvertebrates in the last years, some gaps about the knowledge of these organisms
56 still persists, such as standardization of sampling methodology is even not resolved. In this
57 way, our aim was (i) determine which number of replicates are necessary to generate a
58 good sampling that is enough to represent mayfly communities, (ii) verify whether
59 sampling collection should be continuous or discontinuous along the streams, and (iii)
60 verify if are congruency in results by using different taxonomic resolution (family, genus,
61 species/morphospecies and functional groups). Mayflies abundance, richness and
62 composition were compared in groups of sampling effort using 5, 10, 15 and 15 segments
63 (sub-samples) (Variance Analysis and Procrustes). Both taxonomic resolution and
64 sampling effort distribution (discontinuous or continuous) were also compared by
65 Procrustes. Abundance ($F_{(3,156)}= 22,734$, $p<0,001$) and richness ($F_{(3,156)}=22,734$; $p<0,001$)
66 differed among treatments showing that only 15-s group can capture same richness and
67 abundance of 20-s. We have found the same results for species composition. Discontinuous
68 data were more congruent than continuous (discontinuous=84%, continuous=80,7%).
69 Finally, genus resolution was concordant in 99% with species resolution. Thus, it is
70 possible to reduce the sampling effort from 20 to 15 segments (sub-samples) for streams
71 evaluated, and discontinuous sampling along the stream is more effective to capture
72 biodiversity than the continuous one. Also, the taxonomic resolution can be reduced to
73 generic level. The decrease to fifteen segments (sub-samples) for stream will reduce both
74 the biological material collected and effort applied in field also it will dispose more time to
75 sorting. Furthermore, the maintenance of 150 meters sample will allow the increase in the
76 sampling habitats. As a final point, despite to reduce time and financial resources spent in
77 identification, the utilization of generic resolution can minimizesub and super estimations
78 errors in the results.

79 **Keywords.** Congruency, environmental monitoring, Feeding Functional Groups, Sampling
80 effort, taxonomic resolution.

81

82 1. Introdução

83

84 Os macroinvertebrados aquáticos desempenham papel fundamental na
85 transformação da matéria orgânica, no fluxo de energia e na ciclagem de nutrientes
86 (Dodds, 2002). Devido às suas sensibilidades, eles são utilizados como bioindicadores de
87 qualidade ambiental, refletindo não só a situação momentânea do sistema, mas também a
88 poluição não-pontual (Martins et al., 2014) como, por exemplo, as modificações causadas
89 no ambiente pela urbanização e atividades industriais (Bieger et al., 2010), atividades de
90 agricultura e pecuária (ver capítulo 4; Gonçalves and Aranha, 2004) e até mesmo o grau de
91 saprobidade (Monteiro et al., 2008). Por esse motivo, vários países estão realizando o
92 biomonitoramento nos ecossistemas aquáticos usando esses organismos como indicadores
93 de condições ambientais (Roque et al., 2014).

94 Atualmente, o estudo de ecologia aquática tem buscado responder e entender temas
95 amplos, como por exemplo, a mudança na composição das assembleias e grupos funcionais
96 ao longo do gradiente longitudinal (da cabeceira à foz) (Tomanova et al., 2007), enquanto
97 outros trabalhos avaliam o padrão de distribuição dos macroinvertebrados (Brasil et al.,
98 2014), a organização das comunidades e os traços biológicos em diferentes escalas
99 (Callisto et al., 2012). Apesar do aumento dos estudos com macroinvertebrados, algumas
100 áreas ainda permanecem sem respostas a questões básicas e extremamente essenciais,
101 como por exemplo, a padronização e o teste da eficiência da metodologia de coleta. O
102 esforço amostral necessário e a resolução taxonômica ideal para obter informações precisas
103 e seguras da comunidade aquática, são exemplos de questões que, nos trópicos, ainda são
104 fatores limitantes para os estudos de biodiversidade (Phillips et al., 2003) e o avanço da
105 ecologia aquática.

106 Existem diversos tipos de amostradores de macroinvertebrados bentônicos, como
107 por exemplo, surber (e.g. Cunha et al., 2014), peneiras (e.g. Figueiredo et al., 2013), draga
108 (e.g. Zerlin and Henry, 2014), rapiché ou coador (e.g. Shimano et al., 2010), coleta manual
109 (e.g. Melo, 2009) e outros métodos que foram criados recentemente (e.g. Baptista et al.,
110 2014; Cabette and Castro, 2014). Além disso, existem diversos delineamentos amostrais
111 que variam quanto ao número de amostras, tratamentos, e o tamanho da área amostral
112 utilizada (e.g. Callisto et al., 2005). Outro impasse é se a amostragem deve ser padronizada
113 em relação ao tempo de coleta (e.g. Oliveira and Froehlich, 1997) ou à quantidade,
114 tamanho das amostras e ao tipo de substrato amostrado (e.g. Costa and Melo, 2008). E

115 ainda, se essa amostragem deve ser realizada em um único local, espaçada ao longo de um
116 córrego, de forma contínua (e.g. (Couceiro et al., 2012; Brasil et al., 2014) ou descontínua
117 (e.g. Costa and Melo, 2008).

118 Essa variação de metodologias e delineamentos dificulta a comparação dos
119 trabalhos, que por fim poderiam integrar pesquisas realizadas em diferentes regiões.
120 Mesmo que existam formas de se comparar a riqueza taxonômica de amostras de tamanhos
121 diferentes através da rarefação ou extrapolação (Melo and Hepp, 2008), não é possível
122 comparar a maior parte dos resultados entre estudos diferentes devido às diferenças entre
123 as metodologias empregadas. Dessa forma, é necessária uma padronização de amostragem
124 que favoreça a representação de diferentes grupos de organismos e ecossistemas,
125 possibilitando realizar análises macroecológicas e desvendar padrões de distribuição que
126 ainda são desconhecidos. A falta de padronização na coleta de dados pelos ecólogos é vista
127 como um ponto fraco no progresso da ecologia (Belovsky et al., 2004).

128 Diferenças quanto à resolução taxonômica também podem ser um empecilho para
129 as comparações entre estudos científicos. A maioria dos trabalhos que contempla os
130 macroinvertebrados utilizam a identificação até família (e.g. Baptista et al. 2007), enquanto
131 trabalhos envolvendo poucos grupos de organismos utilizam majoritariamente a
132 identificação até gênero (e.g. Tonello et al., 2014) ou funcional (e.g. Shimano et al., 2012;
133 Brasil et al., 2014). A identificação a nível específico em estudos ecológicos é importante,
134 uma vez que espécies pertencentes ao mesmo gênero nem sempre possuem as mesmas
135 exigências ecofisiológicas e/ou tolerâncias ambientais similares (Merritt et al. 2007).
136 Portanto, mesmo espécies pertencentes a um mesmo gênero podem responder
137 diferentemente aos filtros ambientais, o que pode acarretar em aumento da variação
138 residual em análises estatísticas e a ausência de padrões de distribuições de espécies. Por
139 outro lado, a identificação até espécie demanda tempo e conhecimento refinado da
140 sistemática e taxonomia do grupo. Segundo Khan (2006), existem vantagens em identificar
141 os indivíduos em níveis taxonômicos mais altos (como gêneros e famílias), dando destaque
142 a redução de custos associados à coleta e à identificação de organismos, a maior rapidez e
143 facilidade em treinar técnicos para a identificação e a diminuição do risco de erros de
144 identificação.

145 Dentre os macroinvertebrados, a ordem Ephemeroptera é uma das mais abundantes,
146 possuindo representantes em quase todos os grupos funcionais e desempenhando, assim,
147 papel fundamental na ciclagem de nutrientes. Este é um dos grupos de organismos

148 aquáticos mais utilizados nos programas de biomonitoramento devido à suas altas
149 sensibilidades à alteração ambiental (Dodds, 2002; Barber-James et al., 2008). Diante dos
150 problemas expostos acima, os objetivos do nosso estudo foram: (i) determinar qual o
151 número de réplicas necessário em trabalhos ecológicos para gerar uma amostra que
152 represente fielmente a comunidade; (ii) verificar se as amostragens devem ser contínuas ou
153 descontínuas em um trecho de córrego; (iii) e verificar a congruência de resultados usando
154 diferentes resoluções taxonômicas (família, gênero, espécie/morfoespécie ou grupo
155 funcional). Com isso buscamos verificar se é possível reduzir o esforço de amostragem e o
156 esforço de identificação (resolução taxonômica) de forma a não perder informações
157 ecológicas. Nós acreditamos que devido ao fato dos organismos da ordem Ephemeroptera
158 possuírem uma grande sensibilidade às alterações ambientais e dependerem da composição
159 e estrutura do micro e mesohabitat (Souza et al., 2011; Chakona et al., 2008), as questões
160 ecológicas poderiam ser respondidas com menos sub-amostras e em níveis mais elevados
161 de identificação taxonômica.

162

163 **2. Material e métodos**

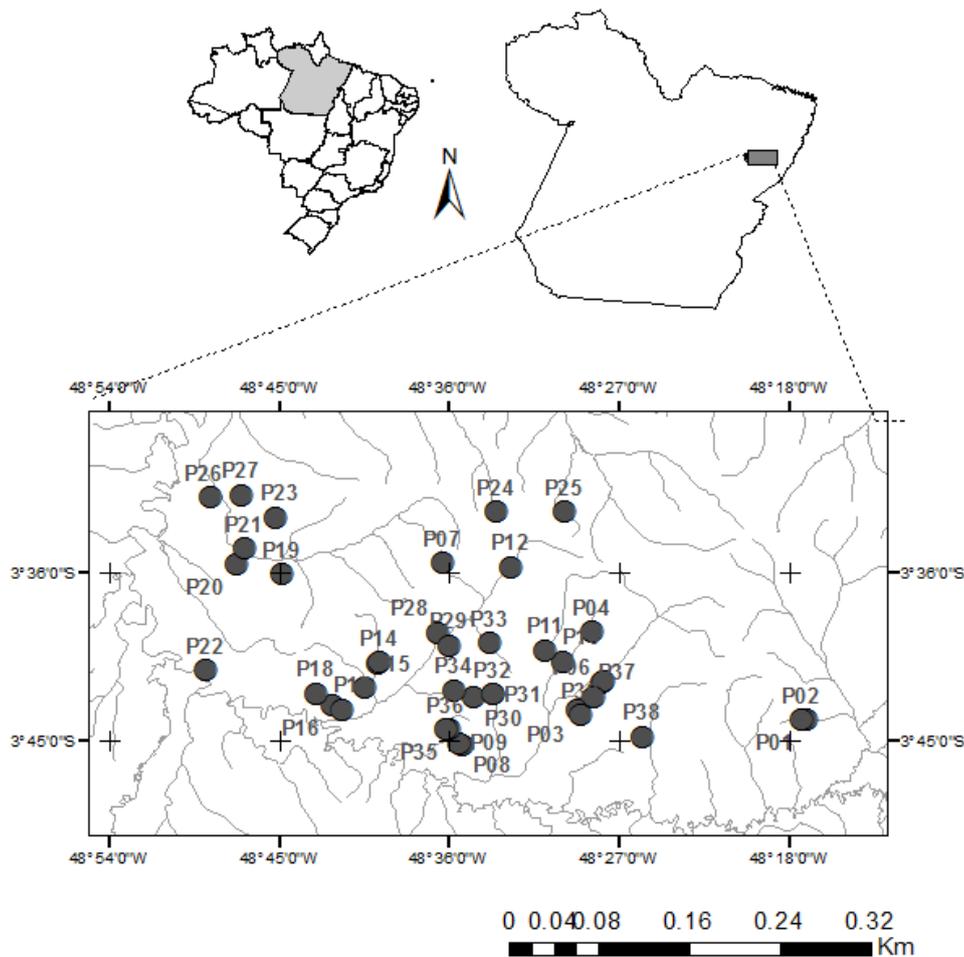
164

165 Nossas amostragens ocorreram em áreas florestadas no município de Paragominas,
166 nordeste do estado do Pará. A vegetação local é classificada como floresta ombrófila de
167 terra firme e, em menores proporções, como florestas ombrófilas densas aluviais de
168 várzeas (Hirai et al., 2008). A área possui elevados índices de precipitação pluviométrica
169 (1.766 mm anuais), temperatura média anual de 27,2°C e umidade relativa do ar de 81%
170 (Watrin and Rocha, 1992). Paragominas é drenada pelas bacias do Rio Capim e Gurupi,
171 formada por uma densa rede de drenagem pelos rios Ananavira, Paraquequara, Candiru–
172 Açu, Potiritá, Piriá, Uraim e Surubiju, entre outros (Leal, 2000).

173

174 Ao todo, foram amostrados 39 córregos entre setembro e dezembro de 2012 e 2013.
175 A largura média de canal dos córregos amostrados foi de até no máximo de 5,5 m e com
176 profundidade média de até um metro, seguindo (Strahler, 1957), são classificados como de
177 primeira a terceira ordens (Fig. 1). Cada córrego foi amostrado em um trecho de 150
178 metros, e 20 amostras de substratos foram coletadas em cada um. A mensuração das
179 variáveis ambientais de cada córrego se baseou no protocolo descrito em Peck et al.,
180 (2006). Foi definido em cada córrego um trecho longitudinal de 150 metros, que foi
dividido em 10 secções de 15 metros, que em seguida foram subdivididas em três

181 segmentos de cinco metros cada, totalizando 30 segmentos ao longo de cada trecho de
 182 córrego. Em cada secção apenas os dois primeiros segmentos foram amostrados, o terceiro
 183 foi usado apenas para o acesso aos outros segmentos, evitando assim o pisoteio dos
 184 segmentos que teriam as variáveis ambientais mensuradas e os substratos amostrados (Fig.
 185 2A).
 186



187
 188 **Fig. 1.** Pontos de amostragem de ninfas de Ephemeroptera no período de setembro a
 189 outubro de 2012, em Paragominas, Pará, Brasil.
 190

191
 192 Os substratos encontrados em cada segmento foram amostrados com um rapiché de
 193 18cm de diâmetro e malha e de 0,05mm (mesma proposta no capítulo 2), replicando-se
 194 duas vezes uma porção aleatória do substrato presente no segmento. Essa aleatorização é
 195 necessária para garantir que todos os substratos presentes no trecho de córrego demarcado
 196 sejam suficientemente amostrados. Em campo, os substratos amostrados foram triados em

197 bandejas brancas com o auxílio de pinças entomológicas. Os espécimes encontrados foram
198 fixados em álcool 85%. A categorização dos grupos funcionais seguiu a revisão realizada
199 por Shimano et al. (2012) e Brasil et al. (2014).

200 A identificação taxonômica dos indivíduos no nível de gênero foi realizada em
201 laboratório com o auxílio das chaves de identificação de (Domínguez et al., 2006; Dias et
202 al., 2007), sendo posteriormente identificados a nível específico com auxílio de artigos
203 específicos. Quando a identificação a nível específico não foi possível, os indivíduos foram
204 morfoespeciados utilizando como critério diferenças morfológicas. A identificação foi
205 confirmada pelo especialista Dr. Frederico Falcão Salles, da Universidade Federal do
206 Espírito Santo. Após a identificação os espécimes foram depositados na Coleção
207 Entomológica do Laboratório de Ecologia e Conservação – LABECO, da Universidade
208 Federal do Pará.

209 Todas as coletas foram realizadas no período de seca (entre julho e novembro), nos
210 anos de 2012 e 2013, buscando diminuir o efeito das variações sazonais que poderiam
211 afetar os resultados. Estudos apontam que no período de menor precipitação ocorre maior
212 biodiversidade de espécies (Baptista et al., 2001). Além disso, com a menor profundidade
213 da coluna d'água há uma maior disponibilidade de substratos para serem amostrados e os
214 espécimes ficam mais adensados, o que aumenta a probabilidade de mais espécies serem
215 capturadas. Segundo Heino (2014), é indicado que os estudos concentrem esforços durante
216 um só período sazonal, assim diminuindo o ruído nas análises.

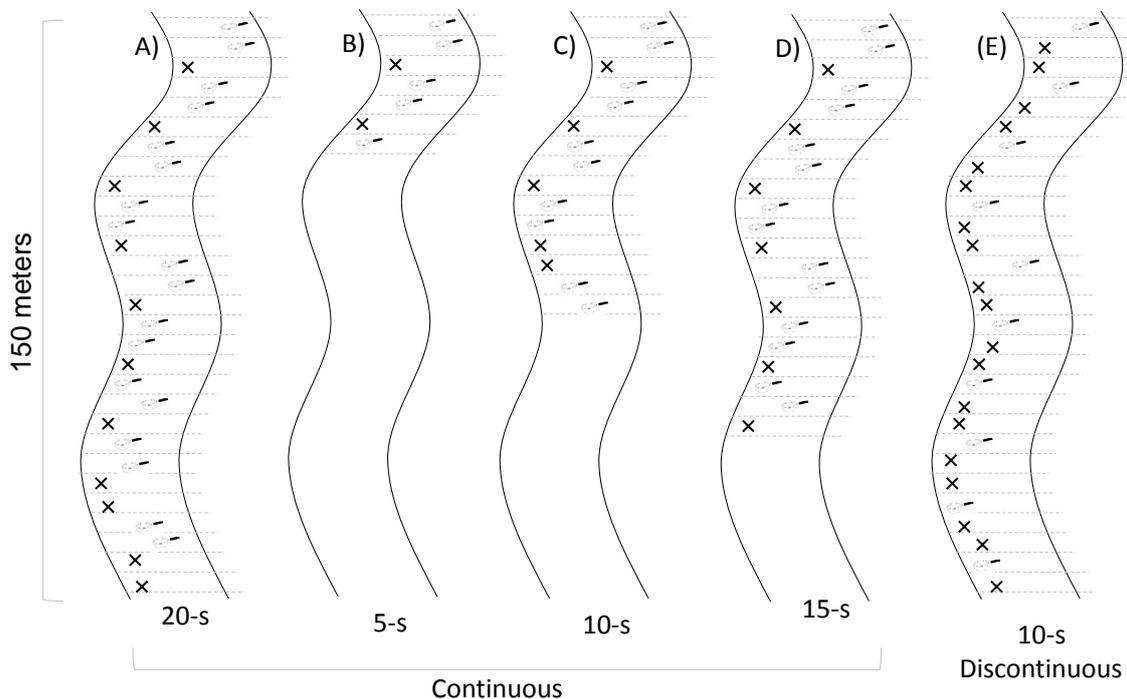
217 Para testar quantos segmentos são necessários de se amostrar para se ter um
218 resultado similar ao encontrado com 20 segmentos amostrados, separamos quatro grupos
219 de esforço amostral: um grupo com cinco segmentos; outro com 10; outro com 15 e o
220 último com 20 segmentos (cem metros de distância amostrados), representando o número
221 total de segmentos amostrados. Os grupos são representados pelos códigos “5-s” (Fig. 2B),
222 “10-s” (Fig. 2C), “15-s” (Fig. 2D) e “20-s” (Fig. 2A), respectivamente, que foram
223 comparados quanto a abundância, riqueza e composição de espécies.

224 Para determinar qual o número de réplicas necessário para gerar uma amostra igual
225 ou similar à amostragem de 20 réplicas com relação à abundância e riqueza observada
226 (objetivo i) foi utilizado uma Análise de Variância, onde foram comparados os quatro
227 tratamentos. Os pressupostos de homogeneidade e homocedasticidade foram verificados
228 (Zar, 2010). Para diminuir o efeito de heterocedasticidade, tanto os dados de riqueza
229 quando os de abundância passaram por transformações logarítmicas [$\log_{10}(x+1)$]. A

230 análise post-hoc de Tukey foi realizada em seguida para identificar as diferenças par-a-par
231 entre os tratamentos.

232 Para verificar se as amostragens devem ser contínuas (Fig. 2C) ou descontínuas
233 (Fig. 2E), foram utilizados 10 segmentos contínuos (de 1 a 10) e 10 segmentos
234 descontínuos (segmentos ímpares) do total de 20 segmentos amostrados. Para comparar os
235 dados entre contínuo e descontínuo (objetivo ii) e verificar a congruência dos resultados
236 quanto à resolução taxonômica de espécies, gêneros, família e grupos funcionais (objetivo
237 iii) foram realizados os procedimentos abaixo.

238



239

240 **Fig. 2.** Figura esquemática mostrando (A) como a coleta de substrato foi realizada; e como
241 ela pode vir a ser realizada com a diminuição do esforço amostral, podendo ser contínua
242 com a diminuição do trecho amostrado para (B) cinco segmentos, (C) 10 segmentos ou (D)
243 15 segmentos; e (E) descontínua, com a manutenção do trecho amostrado e diminuição no
244 número de segmentos para 10.

245

246

247 Primeiramente os dados de composição de todas as matrizes foram sumarizadas
248 usando uma Análise de Coordenadas Principais (PCoA), considerando a abundância
249 amostrada dos indivíduos. Os dados de abundância foram previamente logaritmizados para
250 minimizar o efeito de valores extremos [$\log_{10}(x+1)$] e o índice de dissimilaridade utilizado
251 foi o de Bray-Curtis. Após ordenar os dados de amostragem e resolução taxonômica, o

252 grau de concordância entre as matrizes foi avaliado através de uma rotina Procrustean
253 (Jackson, 1995). A análise procrustes é um método de superposição que compara pares de
254 ordenações usando um algoritmo rotacional (rotational-fit), encontrando o melhor ajuste
255 entre observações ordenadas correspondentes. Esta análise foi realizada utilizando os
256 escores dos dois primeiros eixos de cada ordenação (PCoA), pois estes contêm a maior
257 parte da variabilidade dos dados originais. O Procrustes calcula a estatística m^2 , que mede
258 o quão dispares são os padrões de ordenação gerados independentemente pelos dois
259 conjuntos de dados (Legendre and Legendre, 1998).

260 Todas as análises foram realizadas com o auxílio do software R (versão 3.0.1) (R
261 Development Core Team, 2014) usando os pacotes labdsv, mgcv e vegan.

262

263 3. Resultados

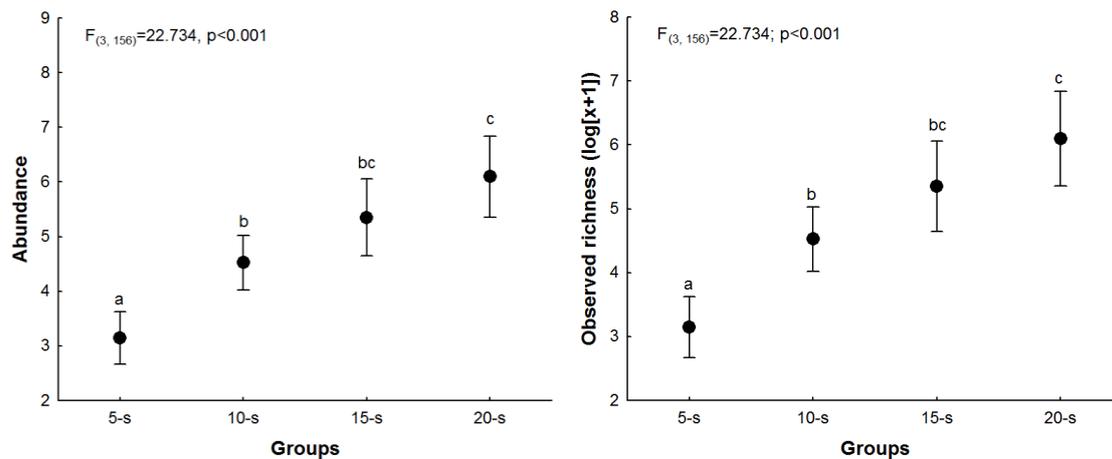
264

265 Ao todo, foram amostradas 2.701 ninfas de Ephemeroptera distribuídas em sete
266 famílias, 20 gêneros e 26 espécies/morfoespécies (ver Material Suplementar). Os gêneros
267 de Ephemeroptera que não foram possíveis de se morfoespeciar, devido à alta similaridade
268 na fase ninfal, foram responsáveis pelas maiores abundâncias encontradas: *Miroculis* spp.,
269 por exemplo, representaram 52% da abundância total, já *Campylocia* spp. contribuiu com
270 quase 29% e *Farrodes* spp. com 5,2%. As demais 23 espécies/morfoespécies juntas
271 somaram apenas 14% da abundância total. *Microphlebiasurinamenses* Savage & Peters,
272 1983 (n=1), *Cloeodessp.* 1 (n=1) e *Callibaetis* sp. (n=2) foram os grupos menos
273 representativos.

274 Ao testar a abundância de indivíduos amostrada nos grupos de 5-s, 10-s, 15-s e 20-s
275 foi detectado uma diferença entre os grupos ($F_{(3, 156)} = 22,734$, $p < 0,001$), porém, a análise
276 post-hoc mostrou que a abundância entre 10-s e 15-s, e 15-s e 20-s são similares (p de
277 Tukey = 0,223 e 0,304, respectivamente) (Fig. 3A), enquanto que as abundâncias entre 5-s
278 e 10-s, 5-s e 15-s, 5-s e 20-s, 10-s e 20-s foram diferentes (p de Tukey < 0,001 para todas as
279 comparações). Em média, dois indivíduos foram coletados a mais por segmento quando a
280 amostragem passou de 5-s para 10-s. Já quando a amostragem aumenta de 10-s para 15-s, e
281 de 15-s para 20-s, a média de indivíduos coletados aumenta em um espécime por segmento
282 para ambos.

283 Quando comparamos a riqueza, também observamos que a riqueza diferiu entre as
284 amostras ($F_{(3, 156)} = 22,734$; $p < 0,001$), sendo que o mesmo padrão observado para

285 abundância foi detectado para a riqueza. A riqueza estimada do grupo 10-s foi similar ao
 286 grupo 15-s enquanto que o grupo 15-s foi similar ao 20-s (p de Tukey = 0,259 e 0,577,
 287 respectivamente) (Fig. 3B), as demais comparações foram significativas (p de Tukey <
 288 0,001 para todas as comparações). Em média, duas espécies foram amostradas a mais
 289 quando as réplicas aumentaram de 5-s para 10-s, e apenas uma espécie foi amostrada a
 290 mais quando aumentou de 10-s para 15-s e uma espécie quando aumentou de 15-s para 20-
 291 s.
 292



293 **Fig. 3.** Análise de variância comparando (A) a abundância e (B) a riqueza observada de
 294 ninfas de Ephemeroptera amostrados em 39 córregos conservados da Amazônia, em
 295 grupos de cinco (5-s), dez (10-s), 15 (15-s) e 20 (20-s) réplicas por córrego.
 296
 297

298
 299 Ao analisar os grupos de esforço amostral de acordo com a composição de espécies,
 300 todas as relações analisadas foram significativas (Tabela 1). Porém, os maiores valores de
 301 correlação foram encontrados entre 10-s e 15-s (93,9%), 10-s e 20-s (80,7%) e 15-s e 20-s
 302 (91,6%). A comparação entre o grupo de menor número de amostras 5-s e o maior 20-s,
 303 apesar de significativo, apresentou uma correlação de apenas 31,1%, com uma perda de
 304 90,3% de informação.

305 Ao verificar qual a amostragem seria mais eficiente (10 segmentos contínuos em 75
 306 metros ou descontínuos ao longo de 150 metros), houve uma congruência baixa entre
 307 amostragem descontínua (com 10 segmentos) e 10-s (< 70%, e perda de > 50% de
 308 informação). Porém, ao comparar qual das duas amostragens é mais similar à amostragem
 309 completa de 20-s, a amostragem descontínua foi mais congruente do que a contínua

310 (descontínua=84% e contínua=80,7%) e a descontínua também perdeu menos informação
 311 (descontínua=29,3% e contínua=34,8%) (Tabela 1 – dados em negrito) (Fig. 4).

312 A resolução taxonômica se mostrou significativa em todas as relações testadas
 313 (Tabela 2, Fig. 5). Porém, podemos observar que a concordância entre a resolução de
 314 espécie/morfoespécie e gênero foi alta, com perda de informação menor do que 1%. A
 315 correlação entre gênero e família, e gênero e grupos funcionais também se mostrou
 316 altamente correlacionadas ($r^2 > 0,80$). A menor correlação encontrada foi entre família e
 317 grupos funcionais ($r^2 = 0,709$).

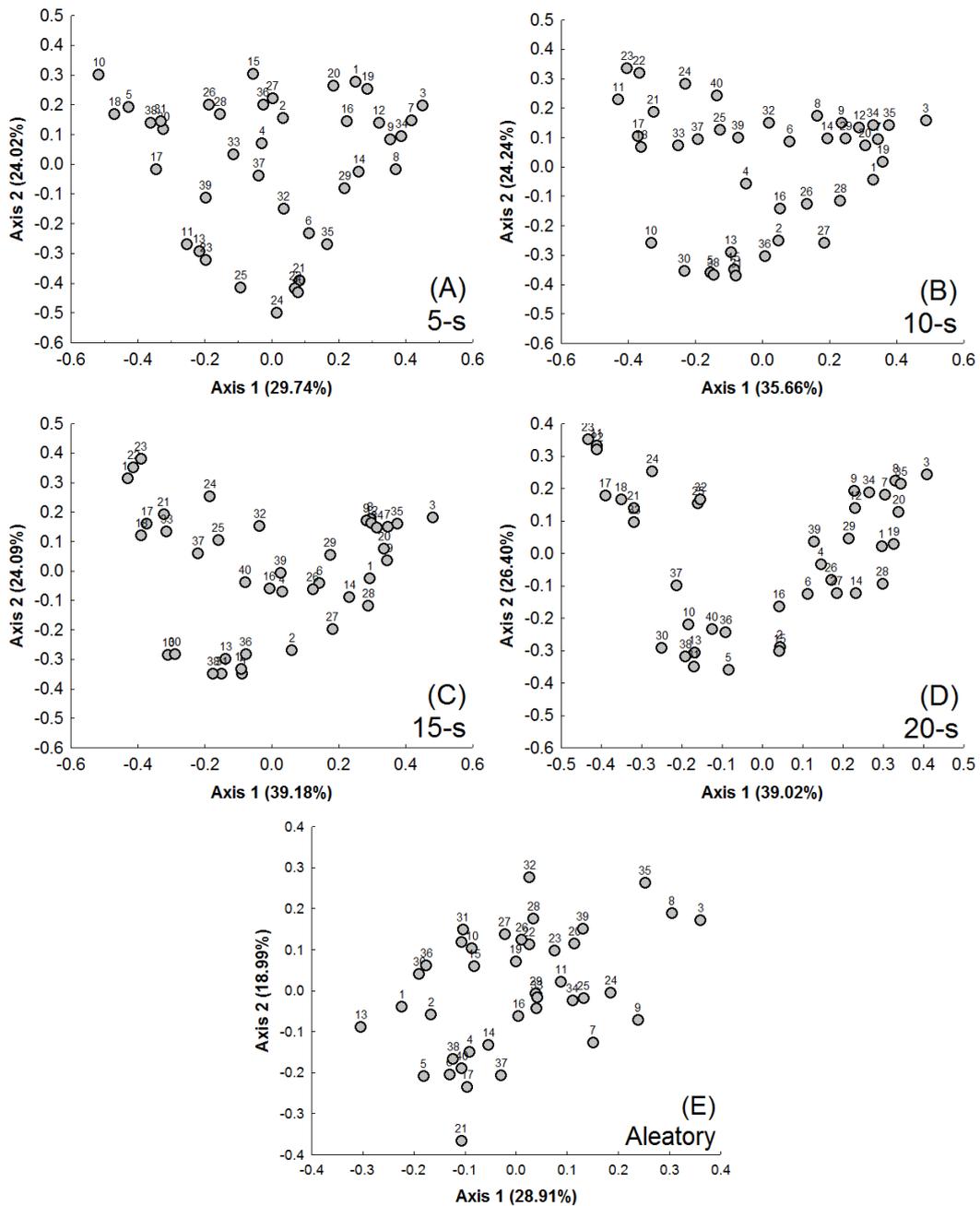
318
 319

320 **Tabela 1.** Grau de concordância entre os escores da PCoA realizada para composição e
 321 abundância de ninfas de Ephemeroptera e os grupos de cinco (5-s), dez (10-s), 15 (15-s) e
 322 20 (20-s) réplicas por córrego. *resultados significativos. Dados destacados em negrito são
 323 comparações entre amostras contínuas e descontínuas com relação à amostragem completa
 324 de 10-s.
 325

Grupos		5-s	10-s	15-s	20-s	Aleatório
5-s	m^2					
	r^2	-				
	P					
10-s	m^2	0,743				0,528
	r^2	0,506	-			0,687
	P	<0,001*				<0,001*
15-s	m^2	0,825	0,119			
	r^2	0,417	0,939	-		
	P	0,002*	<0,001*			
20-s	m^2	0,903	0,348	0,160		0,293
	r^2	0,311	0,807	0,916	-	0,840
	P	0,042*	<0,001*	<0,001*		<0,001*

326
 327
 328

329
330



331

332

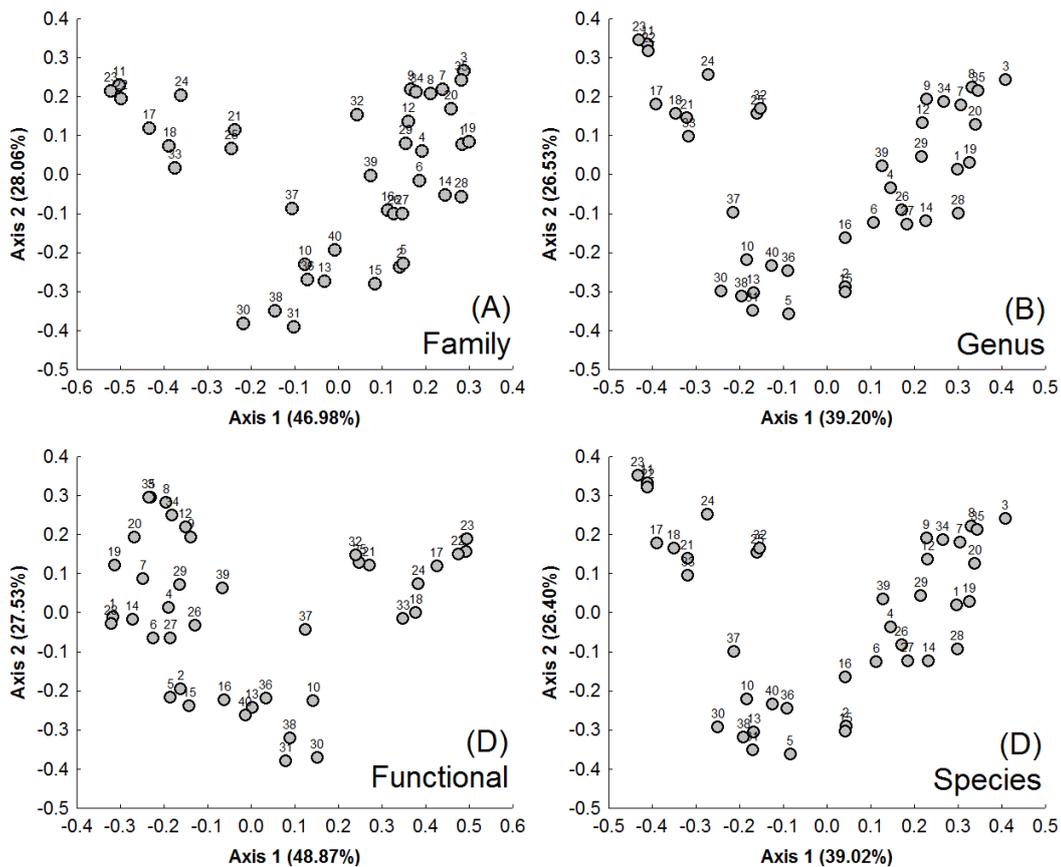
333
334
335
336
337
338
339
340

Fig. 4. Ordenações (PCoA) realizadas com os dados de abundância ($\log[x+1]$) de ninfas de Ephemeroptera amostrados em grupos diferentes de réplicas: com (A) cinco, (B) dez réplicas contínuas, (C) 15, (D) 20 e (E) dez réplicas descontínua em transecção de 150 metros.

341 **Tabela 2.** Grau de concordância entre os escores da PCoA realizada para composição e
 342 abundância de ninfas de Ephemeroptera e as resoluções taxonômicas a nível de
 343 espécie/morfoespécie, gênero, família e categorias funcionais (FFG).* resultados
 344 significativos.

	Grupos	Espécie	Gênero	Família	FFG
Espécie	m^2				
	r^2	-			
	p				
Gênero	m^2	0,02			
	r^2	0,99	-		
	p	>0,001*			
Família	m^2	0,446	0,357		
	r^2	0,7442	0,802	-	
	p	>0,001*	>0,001*		
FFG	m^2	0,375	0,327	0,497	
	r^2	0,791	0,82	0,709	-
	p	>0,001*	>0,001*	>0,001*	

345
346



347

348
349

350 **Fig. 5.** Ordenações (PCoA) realizadas com os dados de abundância ($\log[x+1]$) de ninfas de
 351 Ephemeroptera identificados em nível de (A) família, (B) gênero, (C)
 352 espécies/morfoespécies e (D) grupos funcionais.

353

354 4. Discussão

355

356 Na literatura é possível encontrar trabalhos com diferentes números de unidades
357 amostrais coletadas, esse esforço amostral varia de acordo com o objetivo do estudo, local
358 de coleta, grupo de pesquisadores, etc. Como exemplos, Saulino et al. (2014) utilizou três
359 amostras de dois minutos por local de coleta usando como amostrador a rede D, para testar
360 mudanças nas comunidades de insetos após a construção de represas; Moya et al. (2011)
361 utilizou cinco amostras (0,09 m² por amostra) por córrego no intuito de verificar
362 influências antropogênicas e criar um índice multimétrico; Kleine et al. (2011) utilizou
363 nove amostras de diferentes metodologias para testar o efeito do cultivo de banana para a
364 comunidade de macroinvertebrados; Ligeiro et al. (2012) usou 11 amostras por córrego no
365 intuito de verificar a confiabilidade das estimativas de riqueza de macroinvertebrados
366 realizadas a partir do processamento de um número padrão de sub-amostras; Shimano et al.
367 (2013) utilizou 20 amostras por córrego para testar a influência dos fatores ambientais e
368 espaciais sobre a comunidade de Ephemeroptera. Dessa forma, podemos observar que
369 existe uma grande variação no delineamento e número de subamostras de acordo com os
370 objetivos de cada trabalho.

371 Apesar da composição de espécies ter sido similar entre os tratamentos de 20-s e
372 10-s, a riqueza e a abundância entre esses tratamentos foram diferentes. Portanto inferimos
373 que a amostragem em 15-s com rapiché (18 cm de diâmetro) é aceitável e viável para as
374 amostragens ecológicas, representando de forma segura a amostragem que seria
375 contemplada com 20 amostras por córrego, possibilitando ainda minimizar o esforço e os
376 custos financeiros inerentes a coleta e processamento das amostras em laboratório.

377 Acreditamos que a diminuição no número de amostras por córrego não irá diminuir
378 o tempo e nem as despesas financeiras gastas nas expedições de campo uma vez que, na
379 maioria das situações, não é logisticamente possível coletar mais de um córrego por dia,
380 devido ao tempo de deslocamento entre os pontos de coleta. Por outro lado, o tempo que
381 será economizado em laboratório diminuindo o número de amostras e a escala taxonômica
382 de espécie para gênero será alto. Levando em consideração uma estimativa de tempo gasto
383 em triagem e identificação, acreditamos que, do tempo gasto hoje em laboratório com
384 identificação de Ephemeroptera, cerca de 70% é investido na identificação ou
385 morfotipagem específica desses organismos. Sendo assim, para identificar amostras de 10
386 córregos até gênero, por exemplo, levaríamos cerca de uma semana ao invés de um mês.

387 Pelo lado financeiro, não seria necessário pagar um especialista para identificar a nível
388 genérico, pois técnicos e alunos treinados poderiam identificar com certa precisão, gerando
389 economia de aproximadamente R\$ 6.604,50 a cada 10 córregos amostrados apenas na
390 identificação de Ephemeroptera (levando em consideração a diária de um especialista –
391 aproximadamente R\$ 259,00 – e de um técnico – R\$ 129,50, ver maiores detalhes dos
392 cálculos em Gardner et al., 2008).

393 Já a composição de espécies da amostragem descontínua foi mais congruente com a
394 amostragem geral do que com a amostragem contínua. Provavelmente um espaçamento
395 entre as réplicas diminui o efeito da distribuição agrupada de algumas populações, bem
396 como, aumenta a possibilidade de maior representação da variabilidade ambiental presente
397 em cada córrego. Pouco se sabe a respeito dos padrões de distribuição das populações
398 dentro de cada córrego, porém, de acordo com Lancaster (2007), a distribuição
399 heterogênea dos invertebrados em córregos é marcante e a distribuição agregada acontece
400 na maioria das escalas estudadas. Além disso, com maior área amostral, aumenta a
401 probabilidade de se amostrar microhabitats distintos possibilitando a amostragem de um
402 maior número de táxons dentro de um mesmo córrego, sem o aumento do esforço amostral.

403 Todas as resoluções taxonômicas testadas (gênero, família e grupo funcional)
404 representaram um resultado similar ao encontrado para espécies/morfoespécies uma vez
405 que todas as correlações foram superiores a 70%. Porém, nós sugerimos que o ideal é a
406 utilização dos dados a nível genérico, uma vez que a perda de informação foi mínima
407 (menor que 1%) quando comparada ao nível específico. A identificação dos insetos
408 aquáticos em espécie demanda elevado conhecimento (Martins et al., 2014), ainda mais se
409 tratando de espécimes que ainda estão no estágio larval.

410 A alta congruência encontrada entre o nível taxonômico espécie e gênero corrobora
411 o trabalho realizado por Giehl et al. (2014), realizado com insetos da ordem Heteroptera.
412 De acordo com os autores, essa alta congruência pode ser explicada pelo baixo número de
413 espécies encontrado em cada gênero, onde mais da metade dos gêneros encontrados foram
414 representados por apenas uma ou duas espécies, assim como ocorreu para Ephemeroptera
415 neste estudo. Heino and Soininen (2007) também encontraram alta congruência entre
416 espécies e gêneros de macroinvertebrados, afirmando ainda que os padrões das
417 comunidades encontrados ao se identificar até espécie, gênero e/ou família não variam.

418 Para estudos com córregos, existem controvérsias com relação à congruência entre
419 os resultados de identificação à nível de família, gênero e espécie. Independente dos níveis

420 de congruência reportados, a identificação específica é importante em estudos ecológicos
421 uma vez que as espécies congêneras não apresentam necessariamente as mesmas
422 necessidades ecológicas ou tolerâncias às condições ambientais (Merritt et al., 2007).
423 Heino (2014), por exemplo, encontrou que a identificação a nível específico é mais
424 sensível para descrever diferenças na composição regional de comunidades porque a
425 distribuição das espécies pode ser menos ampla do que a distribuição de família ou gênero.

426 Acreditamos que essa pequena perda de informação ao aumentar o nível
427 taxonômico de identificação também pode ser atribuído ao fato da ordem Ephemeroptera
428 ser uma ordem pouco diversa, com apenas 592 espécies descritas para a Região
429 Neotropical (Salles et al., 2014). Apesar da estimativa do número de espécies não descritas
430 de efemerópteros no Brasil ser muito acima do descrito atualmente (Cardoso et al., 2014,
431 dados não publicados), muitos gêneros são monoespecíficos. *Amanahyphes saguassu*
432 Salles & Molineri, 2006, *Callibaetoides caaigua* Cruz, Salles & Hamada, 2013,
433 *Coryphorus aquilus* Peters, 1981, por exemplo, são espécies que foram amostradas em
434 nosso trabalho que pertencem a gêneros ou famílias monoespecíficas. Ainda, grande parte
435 dos gêneros de uma mesma família possui atributos funcionais ecossistêmicos similares
436 (ver Shimano et al. 2012; Brasil et al. 2014). Assim, para avaliar os efeitos ecológicos de
437 impactos sutis, a utilização de níveis inferiores de identificação geralmente é mais eficaz e
438 necessária, mas isso pode ser perda de tempo e recursos quando o impacto ambiental é
439 mais evidente ou severo (Martins et al., 2014). Além disso, a utilização acima do nível
440 genérico pode ajudar a minimizar erros de identificação, uma vez que alguns gêneros ainda
441 não podem ser diferenciados em fase larval devido à falta de estudos e/ou similaridade
442 entre as espécies, como é o caso de *Miroculis*, *Campylocia* e *Farrodes*.

443

444 **5. Conclusão**

445

446 Nossos resultados apontam que é possível reduzir o esforço de amostragem de 20
447 para 15 amostras por córrego, sem a perda de informação quanto à riqueza, abundância e
448 composição, e ainda, que a coleta descontínua ao longo dos córregos é mais efetiva em
449 representar as comunidades aquáticas do que a amostragem contínua.

450 Por fim, nós sugerimos que o nível de identificação taxonômica até gênero pode ser
451 usada para se observar as respostas ecológicas dos indivíduos da ordem Ephemeroptera

452 pois, além de facilitar o trabalho e diminuir o tempo de identificação, apresenta uma
453 correlação alta com os resultados gerados com a identificação a nível específico.

454

455 **Agradecimentos**

456 Gostaríamos de agradecer a 33 Forest e CIKEL LTDA pelo apoio logístico. Ao
457 CNPq pelo financiamento do projeto intitulado Tempo de resiliência das comunidades
458 aquáticas após o corte seletivo de madeira na Amazônia Oriental pelo edital Universal
459 14/2011, processo 481015/2011-6 e pela bolsa produtividade de LJ (processo:
460 303252/2013-8). À Capes pela bolsa de mestrado de MC.

461

462 **Referências**

463

464 Baptista, D.F., Buss, D.F., Dorvillé, L.F.M., Nessimian, J.L., 2001. Diversity and habitat
465 preference of aquatic insects along the longitudinal gradient of the Macaé River
466 Basin, Rio de Janeiro, Brazil. *Rev.Brasil.Biol.* 61, 249-258.

467 Baptista, D.F., Buss, D.F., Egler, M., Giovanelli, A., Silveira, M.P., Nessimian, J.L., 2007.
468 A multimetric index based on benthic macroinvertebrates for evaluation of Atlantic
469 Forest streams at Rio de Janeiro State, Brazil. *Hydrobiologia* 575, 83-94.

470 Baptista, D.F., Mugnai, R., Oliveira, R.B., 2014. Equipamento para subamostragem de
471 macroinvertebrados aquáticos.

472 Barber-James, H.M., Gattoliat, J.L., Sartori, M., Hubbard, M.D., 2008. Global diversity of
473 mayflies (Ephemeroptera, Insecta) in freshwater. *Hydrobiologia* 595, 339-350.

474 Belovsky, G.E., Botkin, D.B., Crowl, T.A., Cummins, K.W., Franklin, J.F., Hunter, M.L.,
475 Joern, A., Lindermyer, D.B., MacMahon, J.A., Margules, C.R., Scott, J.M., 2004.
476 Ten suggestions to strengthen the science of ecology. *BioScience* 54, 345-351.

477 Bieger, L., Carvalho, A.B.P., Strieder, M.N., Maltchik, L., Stenert, C., 2010. Are the
478 streams of the Sinos River basin of good water quality? Aquatic macroinvertebrates
479 may answer the question. *Brazilian Journal of Biology* 70, 1207-1215.

480 Brasil, L.S., Juen, L., Batista, J.D., Pavan, M.G., Cabette, H.S.R., 2014. Longitudinal
481 distribution of the functional feeding groups of aquatic insects in streams of the
482 Brazilian Cerrado Savanna. *Neotropical Entomology* 43, 421-428.

483 Cabette, H.S.R., Castro, L.A., 2014. Metodologia de coleta de insetos aquáticos em
484 paredões de cachoeiras. *EntomoBrasilis* 7, 161-163.

485 Callisto, M., Goulart, M., Medeiros, A.O., Rosa, C.A., 2005. Diversity assessment of
486 benthic macroinvertebrate, yeasts, and microbiological indicators along a
487 longitudinal gradient in Serra do Cipó, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 64, 743-
488 755.

489 Callisto, M., Melo, A.S., Baptista, D.F., Gonçalves-Júnior, J.F., Graça, M.A.S., Augusto,
490 F.G., 2012. Future ecological studies of Brazilian headwater streams under global-
491 changes. *Acta Limnologica Brasiliensia* 24, 293-302.

492 Chakona, A., Phiri, C., Magagadza, C.H.D., Brendonck, L., 2008. The influence of habitat
493 structure and flow permanence on macroinvertebrate assemblages in temporary
494 rivers in northwestern Zimbabwe. *Hydrobiologia* 607, 209.

- 495 Costa, S.S., Melo, A.S., 2008. Beta diversity in stream macroinvertebrate assemblages:
496 among-site and among-microhabitat components. *Hydrobiologia* 598, 131-138.
- 497 Couceiro, S.R.M., Hamada, N., Forsberg, B.R., Pimentel, T.P., Luz, S.L.B., 2012. A
498 macroinvertebrate multimetric index to evaluate the biological condition of streams
499 in the Central Amazon region of Brazil. *Ecological Indicators* 18, 118-125.
- 500 Cunha, J.C.S., Filho, R.G.B., Silva, R.P., 2014. Benthic macrofauna and the limnological
501 parameters of a first-order stream in Atlantic Forest of Brazilian Northeast. *Acta*
502 *Limnologica Brasiliensia* 26, 26-34.
- 503 Dias, L.G., Molineri, C., Ferreira, P.S.F., 2007. Ephemeroidea (Insecta: Ephemeroptera)
504 do Brasil. *Papéis Avulsos de Zoologia* 47, 213-244.
- 505 Dodds, W.K., 2002. *Freshwater Ecology: concepts and environmental applications* San
506 Diego.
- 507 Domínguez, E., Molineri, C., Pescador, M.L., Hubbard, M.D., Nieto, C., 2006.
508 *Ephemeroptera of South America* Pensoft, Moscow.
- 509 Figueiredo, N.S.B., Pires, M.M., Davanzo, R.C.S., Kotzian, C.B., 2013. Diversidade de
510 larvas de Odonata (Insecta) da Bacia do Rio Ibicuí, Rio Grande do Sul, Brasil.
511 *Ciência e Natura* 35, 84-94.
- 512 Gardner, T.A., Barlow, J., Araujo, I.S., Ávila-Pires, T.C., Bonaldo, A.B., Costa, J.E.,
513 Esposito, M.C., Ferreira, L.V., Hawes, J., Hernandez, M.I.M., Hoogmoed, M.S.,
514 Leite, R.N., Lo-Man-Hung, N.F., Malcom, J.R., Martins, M.B., Mestre, L.A.M.,
515 Miranda-Santos, R., Overal, W.L., Parry, L., Peters, S., Ribeiro-Júnior, M.A., Silva,
516 M.N.F., Motta, C.S., Peres, C.A., 2008. The cost-effectiveness of biodiversity
517 surveys in tropical forests. *Ecology Letters* 11, 139-150.
- 518 Giehl, N.F., Dias-Silva, K., Juen, L., Batista, J.D., Cabette, H.S.R., 2014. Taxonomic and
519 Numerical Resolutions of Nepomorpha (Insecta: Heteroptera) in Cerrado Streams.
520 *Plos One* 9, e103623. doi:10.1371/journal.pone.0103623.
- 521 Gonçalves, F.B., Aranha, L.M.R., 2004. Ocupação espaço-temporal pelos
522 macroinvertebrados bentônicos na bacia do rio Ribeirão, Paranaguá, PR (Brasil).
523 *Acta Biológica Paranaense* 33, 181-191.
- 524 Heino, J., 2014. Taxonomic surrogacy, numerical resolution and responses of stream
525 macroinvertebrate communities to ecological gradients: are the inferences
526 transferable among regions? *Ecological Indicators* 36, 186-194.
- 527 Heino, J., Sojininen, J., 2007. Are higher taxa adequate surrogates for species-level
528 assemblage patterns and species richness in stream organisms? *Biological*
529 *Conservation* 137, 78-89.
- 530 Hirai, E. H., Carvalho, J.O.P., Pinheiro, K.A. 2008. O Estrutura d população de
531 Maçaranduba (*Manilkara huberi* Standley) em 84 ha de floresta natural na fazenda
532 Rio Capim, Paragominas, PA. *Revista de Ciências Agrárias* 49, 65-76. Belém. Ref
533 Type: Magazine Article.
- 534 Jackson, D.A., 1995. Procrustes - A Procrustean Randomization Test of Community
535 Environment Concordance. *Ecoscience* 2, 297-303.
- 536 Khan, S.A., 2006. Os species level identification essential for environmental impact
537 studies? *Current Science* 91, 29-34.
- 538 Kleine, P., Trivinho-Strixino, S., Corbi, J.J., 2011. Relationship between banana plant
539 cultivation and stream macroinvertebrate communities. *Acta Limnologica*
540 *Brasiliensia* 23, 344-352.
- 541 Lancaster, J., 2007. Movement and dispersion of insects in stream channels: what role does
542 flow play? in: Lancaster, J. and Briers, R.A. (Eds.), *Aquatic insects: challenges to*

543 populations Proceedings of the Royal Entomological Society's 24'th Symposium,
544 London, pp. 139-157.

545 Leal, G.L.R., 2000. Paragominas: a realidade do pioneirismo Alves, Belém.

546 Legendre, P. and Legendre, L., 1998. Numerical Ecology 2ª Edição ed. Elsevier Science
547 B.V., Amsterdam.

548 Ligeiro, R., Ferreira, W., Hughes, R.M., Callisto, M., 2012. The problem of using fixed-
549 area subsampling methods to estimate macroinvertebrate richness: a case study with
550 Neotropical stream data. Environmental Monitoring and Assessment 185, 4077-
551 4085.

552 Martins, R.T., Oliveira, V.C., Salcedo, A.K.M., 2014. Uso de insetos aquáticos na
553 avaliação de impactos antrópicos em ecossistemas. in: Hamada, N., Nessimian, J.L.,
554 Querino, R.B. (Eds.), Insetos aquáticos na Amazônia brasileira: taxonomia, biologia
555 e ecologia Editora do INPA, Manaus, pp. 117-128.

556 Melo, A.S., 2009. Explaining dissimilarities in macroinvertebrate assemblages among
557 stream sites using environmental variables. Zoologia 26, 79-84.

558 Melo, A.S., Hepp, L.U., 2008. Ferramentas estatísticas para análises de dados provenientes
559 de biomonitoramento. Oecol.Bras. 12, 463-486.

560 Merritt, R.W., Cummins, K.W., Resh, V.H., Batzer, D.P., 2007. Sampling aquatic insects:
561 collection devices, statistical considerations and rearing procedures. in: Merritt,
562 R.W., Cummins, K.W., and Berg, M.B. (Eds.), An introduction to the aquatic insects
563 of North America, Fourth Edition ed., pp. 15-38.

564 Monteiro, T.R., Oliveira, L.G., Godoy, B.S., 2008. Biomonitoramento da qualidade de
565 água utilizando macroinvertebrados bentônicos: adaptação do índice biótico BMWP
566 à bacia do rio Meia Ponte - Go. Oecologia brasiliensis 12, 553-563.

567 Moya, N., Hughes, R.M., Domínguez, E., Gibon, F.M., Goitia, E., Oberdorff, T., 2011.
568 Macroinvertebrate-based multimetric predictive models for evaluating the human
569 impact on biotic condition of Bolivian streams. Ecological Indicators 11, 840-847.

570 Oliveira, L.G., Froehlich, C.G., 1997. Diversity and community structure of aquatic insects
571 (Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera) in a mountain stream in southeastern
572 Brazil. Acta Limnologica Brasiliensia 9, 139-148.

573 Peck, D.V., Herlihy, A.T., Hill, B.H., Hughes, R.M., Kaufmann, P.R., Klemm, D.J.,
574 Lazorchak, J.M., McCormick, F.H., Peterson, S.A., Ringold, P.L., Magee, T.,
575 Cappaert, M., 2006. Environmental monitoring and assessment program-surface
576 waters westerns pilot study: Field operations manual for wadeable
577 streams EPA/620/R-06/003. U.S. Environmental Protection Agency, Office of
578 Research and Development, Washington, D.C.

579 Phillips, O.L., Martínez, R.V., Vargas, P.N., Monteagudo, A.L., Zans, M.E.C., Sánchez,
580 W.G., Cruz, A.P., Timaná, M., Yli-Halla, M., Rose, S., 2003. Efficient plot-based
581 floristic assessment of tropical forests. Journal of Tropical Ecology 19, 629-645.

582 R Development Core Team, 2003. R: A language and environment for statistical
583 computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria

584 Roque, F.O., Buss, D.F., Abes, S.S., Stefanos, M., Juen, L., Siqueira, T., 2014. Insetos
585 aquáticos no âmbito de instrumentos de gestão ambiental: caminhos ainda pouco
586 explorados. in: Hamada, N., Nessimian, J.L., and Querino, R.B. (Eds.), Insetos
587 aquáticos na Amazônia brasileira: taxonomia, biologia e ecologia Editora do INPA,
588 Manaus, pp. 128-140.

589 Salles, F.F., Nascimento, J.M.C., Cruz, P.V., Boldrini, R., and Belmont, E.L.L., 2014.
590 Ordem Ephemeroptera. in: Hamada, N., Nessimian, J.L., Querino, R.B. (Eds.),

591 Insetos aquáticos na Amazônia brasileira: taxonomia, biologia e ecologia Editora do
592 INPA, Manaus, pp. 193-216.

593 Saulino, H.H.L., Corbi, J.J., Trivinho-Strixino, S., 2014. Aquatic insect community
594 structure under the influence of small dams in a stream of the Mogi-Guaçu river
595 basin, state of São Paulo. *Brazilian Journal of Biology* 74, 79-88.

596 Shimano, Y., Cabette, H.S.R., Salles, F.F., Juen, L., 2010. Composição e distribuição da
597 fauna de Ephemeroptera (Insecta) em área de transição Cerrado-Amazônia, Brasil.
598 *Iheringia* 100, 301-308.

599 Shimano, Y., Juen, L., Salles, F.F., Nogueira, D.S., Cabette, H.S.R., 2013. Environmental
600 and spatial processes determining Ephemeroptera (Insecta) structures in tropical
601 streams. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology* 49, 31-41.

602 Shimano, Y., Salles, F.F., Faria, L.R.R., Cabette, H.S.R., Nogueira, D.S., 2012.
603 Distribuição espacial das guildas tróficas e estruturação da comunidade de
604 Ephemeroptera (Insecta) em córregos do Cerrado de Mato Grosso, Brasil. *Iheringia*,
605 *Série Zoologia* 102, 187-196.

606 Souza, H.M.L., Cabette, H.S.R., Juen, L., 2011. Baetidae (Insecta, Ephemeroptera) em
607 córregos do cerrado matogrossense sob diferentes níveis de preservação ambiental.
608 *Iheringia, Série Zoologia* 101, 181-190.

609 Strahler, H.N., 1957. Quantitative analysis of watershed geomorphology. *American*
610 *Geophysical Union Transactions* 38, 913-920.

611 Tomanova, S., Tedesco, P.A., Campero, M., Damme, P.A. Van, Moya, N., Oberdorff, T.,
612 2007. Longitudinal and altitudinal changes of macro- invertebrate functional feeding
613 groups in neotropical streams : a test of the River Continuum Concept. *Fundam.*
614 *Appl. Limnol. / Arch. für Hydrobiol.* 170, 233–241. doi:10.1127/1863-
615 9135/2007/0170-0233

616 Tonello, G., Loureiro, R.C., Krause, P., Silva, C., Ongaratto, R.M., Sepp, S., Restello,
617 R.M., Hepp, L.U., 2014. Colonização de invertebrados durante a decomposição de
618 diferentes detritos vegetais em um riacho subtropical. *Revista Brasileira de*
619 *Biociências* 12, 98-105.

620 Watrin, O.S., Rocha, A.M.A., 1992. Levantamento de vegetação natural e uso da terra no
621 Município de Paragominas (PA) utilizando imagens de TM/Landsat EMBRAPA
622 CPATu, Belém.

623 Zar, J.H., 2010. *Biostatistical analysis* 5 ed. Prentice-Hall, New Jersey.

624 Zerlin, R.A., Henry, R., 2014. Does water level affect benthic macroinvertebrates of a
625 marginal lake in a tropical river-reservoir transition zone? *Brazilian Journal of*
626 *Biology* 74, 408-419.

627

628 MATERIAL SUPLEMENTAR

629

630 MS. Espécies e morfoespécies de ninfas de Ephemeroptera (Insecta) amostradas no
631 período de setembro a dezembro de 2012 e 2013, em Paragominas, Pará, Brasil.

632

Espécies/Morfoespécies	Abundância total
<i>Amanahyphes saguassu</i> Salles & Molineri, 2006	23
<i>Aturbina georgei</i> Lugo-Ortiz & McCafferty, 1996	3
<i>Brasilocaenis</i> sp. 5	3
<i>Caenis</i> sp.	5
<i>Callibaetis</i> sp.	11
<i>Callibaetoides caaigua</i> Cruz, Salles & Hamada, 2013	7
<i>Campsurus</i> sp. 1	2
<i>Campsurus</i> sp. 4	8
<i>Campsurus</i> sp. 7	21
<i>Campsurus</i> sp. 8	22
<i>Campsurus</i> sp. 9	1
<i>Campylocia</i> spp.	799
<i>Cloeodes</i> sp. n.	13
<i>Cloeodes redactus</i> Waltz & McCafferty, 1987	7
<i>Coryphorus aquilus</i> Peters, 1981	5
<i>Farrodes</i> spp.	140
<i>Hagenulopsis minuta</i> Spieth, 1943	17
<i>Hydrosmilodon gilliasae</i> aff. Thomas & Péru, 2004	27
<i>Microphlebia surinamensis</i> Savage & Peters, 1983	1
<i>Miroculis</i> spp.	1406
<i>Simothraulopsis</i> cf. <i>sabalo</i> Kluge, 2007	1
<i>Simothraulopsis</i> sp. n.	7
<i>Tricorythopsis acara</i> Belmont, Salles & Hamada, 2011	7
<i>Ulmeritoides flavopedes</i> (Spieth, 1943)	90
<i>Waltzoyphius roberti</i> Thomas & Peru, 2002	13
<i>Zelus</i> sp. 1	62
TOTAL	2701

633

634

635

SECÇÃO 3

DISTRIBUIÇÃO DE EPHEMEROPTERA E OS FATORES ESTRUTURADORES

CAPÍTULO 4: Shimano, Y.; Nogueira, D. & Juen, L. 2015. Variáveis ambientais e as comunidades de Ephemeroptera (Insecta) em diferentes interflúvios amazônicos (artigo científico formatado nas normas da revista *Austral Ecology*).

CAPÍTULO 5: Drenagens dos grandes rios amazônicos conectam ou isolam comunidades de insetos aquáticos? Um estudo de caso com os efemerópteros (artigo científico formatado nas normas da revista *Diversity and Distribution*).

CAPÍTULO 6: Shimano, Y. & Juen, L. 2015. The response of mayfly (Insecta: Ephemeroptera) assemblages to the cultivation of oil palm: thresholds and indicator groups (artigo científico formatado nas normas da revista científica *Journal of Insect Conservation*).

2
3
4
5 **Diferenças ambientais e históricas dos interflúvios Amazônicos e seus efeitos sobre**
6 **as comunidades de Ephemeroptera em diferentes escalas**
7

8 *Environmental and historical differences in Amazonian interfluves and theirs effects*
9 *in Mayflies assemblies on different scales*
10

11
12 YULIE SHIMANO¹, DENIS S. NOGUEIRA² AND LEANDRO JUEN³
13

14
15 ¹Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Universidade Federal do Pará e Museu
16 Paraense Emílio Goeldi. Rua Augusto Correia, N° 1 Bairro Guamá, CEP 66.075-110,
17 Belém, Pará, Brasil.

18 ²Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução, Universidade Federal de Goiás,
19 Instituto de Ciências Biológicas (Bloco ICB V), Campus II/UFG, Goiânia, Goiás, CEP:
20 74001-970.

21 ³Laboratório de Ecologia e Conservação, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade
22 Federal do Pará, Rua Augusto Correia, n° 1 Bairro Guamá, 66.075-110, Belém, PA,
23 Brasil.
24

25 **Abstract** We aimed to verify variations from streams environmental factors in different
26 Amazonian interfluves and their influences on mayflies communities. We hypothesized
27 that (i) environmental variables, (ii) community and (iii) influences of environmental
28 variables on mayfly communities differ among amazon interfluves, once they are very
29 distinct ecosystems, even being at the same biome. Also, we believe that (iv) the effects
30 of environmental variation on species richness and composition are greater on regional
31 scale, where we can see greater variation on these variables. All our hypothesis were
32 corroborated, indicating that Amazonia is a very heterogeneous biome, with
33 environmental variables differing from local to regional. Species compositions were
34 also different among interfluves, showing that both environment influences and
35 Amazonia formation process probably affected communities by separating them into
36 endemism areas delimited by largest Amazonian rivers. We also found that local and
37 regional analyzes had different effects on mayflies richness and composition. The
38 greater regional effects are probably consequences of the major range of variation. Our
39 results showed that depending on the scale and the Amazon interfluve, the
40 environmental predictors may be different.

41

42 **Key words:** Amazonian interfluves, geographical barriers, environmental variation,
43 environmental variables.

44 INTRODUÇÃO

45

46 Os ecossistemas aquáticos são sistemas extremamente dinâmicos, envolvendo
47 uma complexa interação da biota com seu ambiente físico e químico (Silveira 2004).
48 São caracterizados por conter uma grande variedade e complexidade de parâmetros
49 bióticos e abióticos (Allan & Castillo 2007), recebendo grande influência das áreas
50 adjacentes de sua bacia de drenagem (Margalef 1983). Toda essa junção de fatores e
51 ligações entre os diferentes atributos formam a estrutura física do ambiente, que na
52 maioria das vezes é o principal determinador do número e tipos de organismos que
53 podem sobreviver em um corpo d'água (Silveira 2004).

54 Os corpos d'água encontrados na Floresta Amazônica variam
55 consideravelmente tanto com relação às suas variáveis ambientais como quanto a
56 morfologia, essa variação é resultado da história geológica, litológica, climática,
57 geomorfológica, pedológica e cobertura vegetal da bacia de drenagem (Sioli 1984).
58 Além disso, a Floresta Amazônica é classificada em distintas áreas de endemismos cada
59 uma com sua própria comunidade biótica e relações evolutivas (Silva *et al.* 2005). Essa
60 divisão é corroborada para diferentes grupos animais (e.g. Primatas ver Silva & Oren
61 1996; Lepidopteras ver Racheli & Racheli 2004; Aves ver Aleixo & Rossetti 2007;
62 Ribas *et al.* 2012), correspondendo de forma geral aos interflúvios dos grandes rios
63 amazônicos (regiões mais elevadas de uma bacia hidrográfica, que serve de divisor
64 entre uma bacia e outra).

65 Por coincidir com os interflúvios, acredita-se que as distintas comunidades dos
66 centros de endemismo podem ter surgido no processo de formação da rede hidrográfica
67 atual, onde os grandes rios atuaram como barreira geográfica para dispersão e fluxo
68 gênico das populações ancestrais, devido às pressões seletivas e aos processos de
69 isolamento, possibilitando a diferenciação das espécies (Hipótese de Rios – Wallace
70 1852; Haffer 2008; Haseyama & Carvalho 2011). Sendo assim, é de se esperar que não
71 só os fatores ambientais, devido às variações ambientais na Amazônia, como a
72 composição de espécies, devido aos rios como barreiras geográficas, variem entre os
73 interflúvios. Como a Hipótese de Rios foi a primeira hipótese que salientou o papel das
74 barreiras geográficas para estruturação das comunidades de espécies amazônicas
75 (Haseyama & Carvalho 2011), ela foi amplamente testada para diversos grupos animais,
76 mas em sua maioria, para grupos de vertebrados terrestres.

77 Atualmente, o conhecimento básico sobre a ecologia dos invertebrados
78 aquáticos, não só da Amazônia, mas globalmente, ainda possui muitos déficits tanto
79 taxonômicos quanto ecológicos (Cardoso *et al.* 2011; Azevedo-Ramos & Galatti 2002).
80 Ecologicamente, há a falta de conhecimento a respeito da distribuição de espécies
81 (déficit Wallaceano - Lomolino 2004), da abundância (déficit Prestoniano – Cardoso *et*
82 *al.* 2011) e, principalmente, faltam de informações a respeito das relações entre os
83 fatores ambientais que determinam a distribuição destas espécies (déficit
84 Hutchinsoniano - Mokany & Ferrier 2011) principalmente nos córregos. Dentre os
85 insetos aquáticos que podem ser fortemente afetados pelas variáveis ambientais físicas e
86 químicas, estão os insetos aquáticos da ordem Ephemeroptera. Eles apresentam
87 diferentes respostas à alteração ambiental (Buss & Salles 2007), e em virtude da sua
88 grande sensibilidade, estão entre os grupos mais utilizados em programas de
89 biomonitoramento de qualidade de água (Domínguez *et al.* 2006).

90 Determinar como os organismos estão distribuídos e como se dá a influência das
91 variáveis ambientais é um grande desafio para ecólogos uma vez que não se conhece
92 todas as variáveis ambientais que podem atuar na distribuição das comunidades por
93 conta das limitações de esforço amostral e metodológicas. Vários trabalhos já foram
94 realizados no intuito de verificar a influência das diferentes variáveis ambientais sobre a
95 estrutura da comunidade de macroinvertebrados (e.g. Beisel *et al.* 2000; Voelz &
96 McArthur 2000; Juen *et al.* 2007). Estes estudos geralmente têm por objetivo examinar
97 as respostas das comunidades biológicas diante da variação existente entre ambientes
98 prístinos e alterados, usando diferentes preditores ambientais para explicá-la. Porém, as
99 comparações entre ambientes íntegros e alterados acabam se tornando inconsistentes a
100 partir do momento em que não se sabe ao certo como o ambiente se comporta em
101 condições íntegras e quais as variações aceitas em ambientes livres de alterações
102 (Stoddard *et al.* 2006). Adicionalmente, pouco se conhece sobre como as comunidades
103 respondem às variações naturais dos ecossistemas em escalas mais amplas, o que
104 inviabiliza a generalização de bioindicadores ambientais, ecológicos e dos padrões da
105 biodiversidade (McGeoch 1998), tornando dessa forma, comparações entre escalas
106 locais e regionais extremamente necessárias.

107 Diante desse cenário, nosso objetivo foi testar as variações dos fatores
108 ambientais de córregos conservados entre interflúvios de grandes rios amazônicos e sua
109 influência sobre as comunidades de insetos aquáticos da ordem Ephemeroptera. Nossa

110 hipótese é que haverá diferenças (i) nas variáveis ambientais, (ii) nas comunidades e
111 (iii) nos efeitos das variáveis sobre a comunidade entre os interflúvios uma vez que,
112 mesmo pertencendo ao Bioma Amazônico, cada interflúvio é composto por extensas
113 áreas, onde potencialmente existe variação ambiental natural, e cada área passou por
114 processos históricos de formação distintos. Nós esperamos ainda que (iv) os efeitos da
115 variação ambiental sobre a biodiversidade sejam diferentes quando se compara córregos
116 em escalas mais amplas do que dentro de um mesmo interflúvio, indicando um forte
117 efeito ambientalmente regionalizado e a presença de barreiras geográficas.

118

119 MATERIAL E MÉTODOS

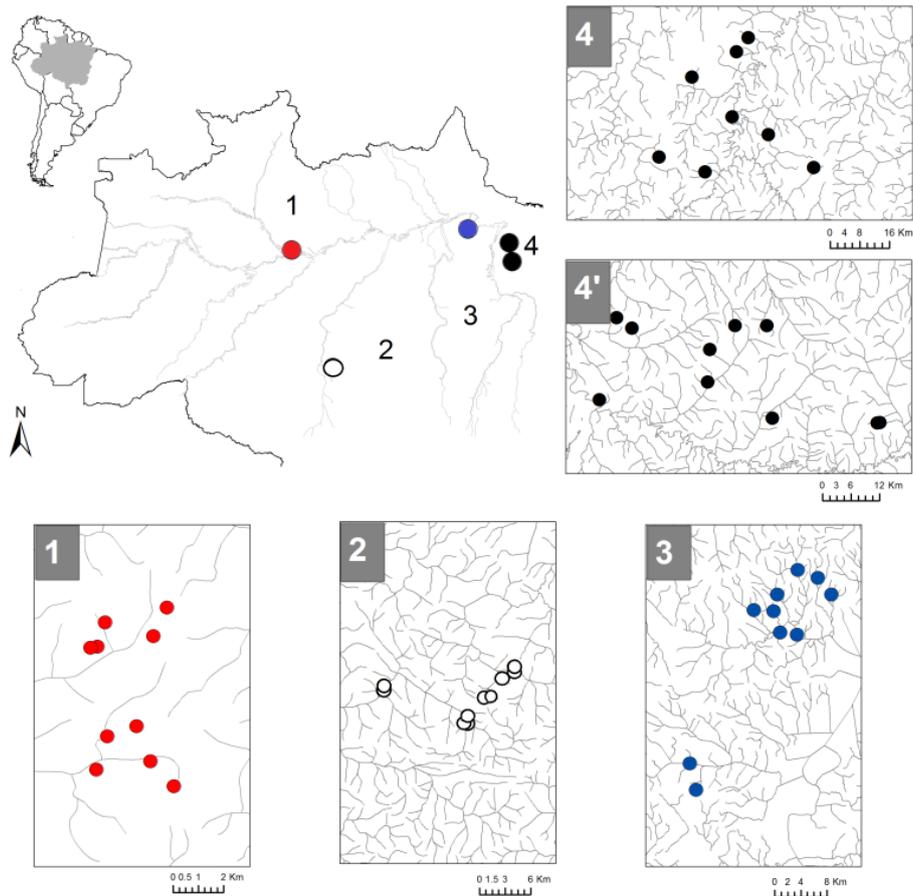
120

121 Área de estudo

122

123 Nossa amostragem foi realizada em cinco diferentes áreas da Amazônia
124 brasileira inseridas em quatro interflúvios distintos (Fig. 1). Uma vez que os centros de
125 endemismos conhecidos na Amazônia para outros grupos ainda não foram testados para
126 nosso grupo de estudo, optamos apenas chama-los pelos nomes dos rios e não pelos
127 nomes dos centros de endemismo: no interflúvio Negro-Trombetas amostramos em
128 áreas da Reserva Florestal Adolfo Ducke (número 1 na Fig.1), no interflúvio Tapajós-
129 Xingu amostramos córregos na Reserva Nacional de Juruena (número 2 na Fig. 1), no
130 Xingu-Tocantins amostramos córregos na Floresta Nacional de Caxiuanã (número 3 na
131 Fig. 1) e no Tocantins-Gurupi amostramos em duas áreas diferentes, no município de
132 Tailândia (número 4 na Fig. 1) e Paragominas (número 5 na Fig. 1), Pará. Controlamos
133 os efeitos de influência humana amostrando todos os córregos em áreas de floresta
134 conservada, em sua maioria dentro de unidades de conservação ou reservas legais.

135 Apesar da bacia Amazônica englobar quase sete milhões de quilômetros
136 quadrados, a temperatura varia muito pouco em toda sua área, com a média anual entre
137 24 e 26°C (Barthem *et al.* 2004). Ainda segundo (Barthem *et al.* 2004), a temperatura
138 homogênea provavelmente é devido a topografia relativamente uniforme da bacia, a
139 abundância da floresta tropical e sua localização no centro-norte da América do Sul. A
140 Média anual de chuva geralmente oscila entre 1000 e 3600 mm.



141
 142 **Fig. 1.** Localização dos pontos de coleta (córregos) na Floresta Amazônica Brasileira,
 143 em quatro diferentes interflúvios: (1) Reserva Florestal Adolfo Ducke amostrado no
 144 interflúvio Negro-Trombetas, (2) Reserva Nacional de Juruena amostrado no interflúvio
 145 Tapajós-Xingu, (3) Floresta Nacional de Caxiuanã no interflúvio Xingu-Tocantins e (4)
 146 córregos em floresta no município de Tailândia, Pará e (4') córregos em floresta
 147 conservada no município de Paragominas, Pará no interflúvio Tocantins-Gurupi.
 148

149 **Delineamento amostral**

150

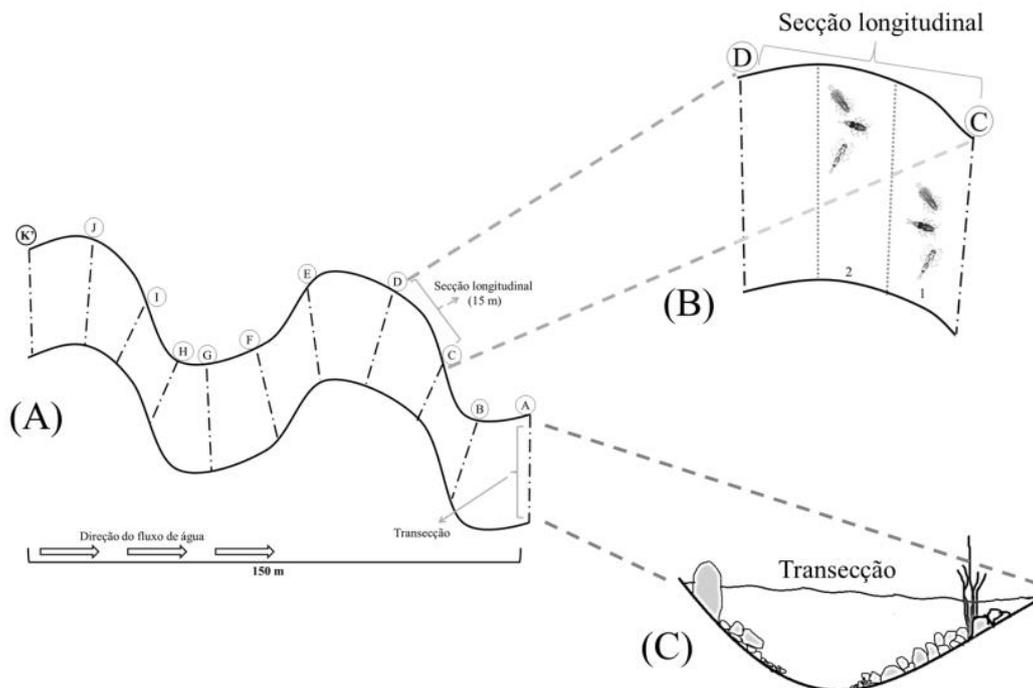
151 Em cada área foram amostrados de oito à dez córregos, totalizando 48 córregos
 152 (10 córregos em cada área, com exceção da área de Tailândia (ver na Fig. 1 – área 4),
 153 que foram amostrados oito córregos), de primeira até terceira ordem (de acordo com a
 154 classificação de Strahler (1957), largura média aproximada entre 0.40 à 7.0 m e
 155 profundidade menor que 1.5 m).

156 Em cada um dos 48 córregos, foram demarcados trechos fixos de 150 m (Fig.
 157 2A), subdivididos em 10 secções de 15 m, que representam o perfil longitudinal do
 158 córrego (Fig. 2B). Cada transecção (corte transversal do córrego; Fig. 2C) foi nomeada
 159 da letra “A” a “K”, sendo a transecção “A” sempre a jusante e “K” a montante

160 demarcadas com fitas sinalizadoras, compondo ao todo 11 transecções e 10 secções
161 longitudinais de 15 m.

162 Todas as coletas foram realizadas no período de estiagem (entre julho e
163 novembro de 2012 e 2013), a fim de tentar controlar o efeito de possíveis modificações
164 sazonais na distribuição dos organismos. Além disso, o enfoque do trabalho é na escala
165 espacial e não temporal, portanto, as amostras sempre foram feitas apenas na estação de
166 estiagem. Além disso, a metodologia de coleta de insetos aquáticos na Amazônia é
167 realizada com o amostrador rapiché (ver Capítulo 2), que é mais eficiente na estiagem,
168 pois a velocidade do fluxo do canal é menor, há maior disponibilidade de substratos
169 para serem amostrados e, em virtude da diminuição da água nos córregos, os espécimes
170 ficariam mais adensados aumentando a probabilidade de serem capturados.

171



172

173 **Fig. 2.** Figura esquemática da área amostral utilizada para coleta de efemerópteros e
174 aplicação do protocolo de integridade física. (A) trecho de 150 m demarcados nos
175 córregos, subdivididos em (B) dez secções longitudinais e (C) onze transecções.

176

177 **Amostragem das variáveis ambientais**

178

179 O protocolo adaptado de Peck *et al.* (2006) foi aplicado nos córregos com a
180 finalidade de avaliar as condições físicas no entorno do trecho estudado. Foram
181 mensuradas as características da morfologia do canal, tipos e quantidade de substrato,

182 hidráulica do córrego, tipos de fluxo, declividade, sinuosidade, cobertura da vegetação
183 ripária, tipos e quantidade da cobertura da vegetação ripária, tipos e tamanhos de
184 madeira encontrados dentro do leito do rio e tipos e quantidade de abrigos para os
185 insetos e predadores.

186 Nas dez vezes em que o perfil longitudinal foi caracterizado, foram medidos os
187 seguintes descritores do hábitat físico: profundidade do talvegue, largura molhada,
188 barras de canal, sedimentos finos, velocidade do fluxo de água, forma da piscina,
189 remanso, canal lateral, tipos de substrato e madeira. E para verificar o perfil transversal
190 foram tomadas as medidas de: abrigo para as espécies, tipos de substrato, largura
191 molhada, largura da barra de canal, largura do leito sazonal, altura do leito sazonal,
192 altura da incisão, ângulo da margem, margem escavada, cobertura de dossel e zona
193 ripária.

194 Além dessas informações dentro das secções longitudinais e transecções foram
195 mensuradas a declividade do córrego com o auxílio de uma mangueira de 15 m e
196 réguas, a sinuosidade do corpo d'água usando uma bússola e a velocidade da água
197 através do tempo em que um objeto flutuante demora a percorrer três metros de
198 comprimento do córrego. Junto com as medidas de largura e profundidade dessa área de
199 três metros, é possível calcular a velocidade e vazão.

200 Ainda, as variáveis da água: temperatura da água, oxigênio dissolvido,
201 condutividade e pH foram mensurados nos pontos A, F e K (Fig. 2A) de cada córrego, a
202 fim de obtermos uma média de cada parâmetro, para complementar as medidas de
203 integridade. Para essas medidas foi utilizada uma sonda multiparâmetros portátil
204 Horiba.

205 Ao todo foram mensuradas 180 métricas de medidas de integridade física
206 ambiental e quatro métricas de variáveis limnológicas.

207

208 **Amostragem de Ephemeroptera**

209

210 Nossa amostragem seguiu conforme proposto no capítulo 2, onde cada uma das
211 dez seções longitudinais de 15 m foi subdividida em três segmentos de cinco metros
212 cada. Isso é necessário para facilitar o procedimento de coleta e aumentar o número de
213 sub-amostras, usado para estimar a riqueza de espécies. Dois dos três segmentos de cada
214 seção tiveram as ninfas de Ephemeroptera amostradas (ver Fig. 2B). O segmento onde

215 não é coletado foi utilizado para o deslocamento dos coletores em campo e aplicação do
216 protocolo. Ao todo foram amostrados 20 segmentos (dos 30 gerados com a subdivisão).

217 Cada segmento gerou uma sub-amostra composta por duas porções do substrato
218 presente no segmento, cada porção foi coletada com um coador de 18 cm de diâmetro e
219 malha e de 0,05 mm, chamado rapiché. A coleta realizada com o rapiché é ativa, onde o
220 coletor procura amostrar o maior número de substratos disponíveis ao longo da
221 transecção, a fim de coletar a maior diversidade possível de Ephemeroptera. O material
222 foi triado em campo e conservado em álcool à 85%. Essa metodologia já foi utilizada
223 com sucesso em outros trabalhos com a ordem (ver capítulo 2).

224 A identificação das ninfas foi realizada através das chaves de identificação de
225 Domínguez *et al.* (2006) e Salles (2006), bem como, bibliografia específica, todas
226 disponíveis no sítio Ephemeroptera Galactica (<http://www.famu.org/mayfly/>). Quando
227 necessário, as identificações foram confirmadas pelo especialista Dr. Frederico Falcão
228 Salles. Os espécimes foram tombados na coleção entomológica do Laboratório de
229 Ecologia e Conservação da Universidade Federal do Pará (LabECo).

230

231 **Seleção das métricas e análises estatísticas**

232

233 Devido a grande quantidade de métricas geradas pelo protocolo de integridade
234 ambiental e de acordo com a natureza de seu possível efeito sobre as comunidades
235 aquáticas, as mesmas foram divididas em quatro grupos: *Variáveis limnológicas* (quatro
236 métricas), *Estrutura do canal* (45 métricas), *Substrato* (103) e *Vegetação ripária* (32
237 métricas). O grupo *Variáveis limnológicas* é composto pelas quatro variáveis
238 limnológicas; o grupo *Estrutura do canal* abrange os aspectos referentes a morfologia
239 do canal, hidráulica/substrato, unidade do canal (tipos de fluxo), declividade e
240 sinuosidade; *Substrato* abrange as métricas de madeira e abrigo, enquanto que
241 *Vegetação ripária* representada toda a parte de estimativa de cobertura da vegetação e
242 cobertura do dossel.

243 Para diminuir o efeito da multicolinearidade dos dados, foi realizada uma
244 seleção de métricas para cada um dos quatro grupos de preditores descritos acima.
245 Primeiro, as variáveis que tiverem a variância abaixo de 0,5 foram removidas. Depois,
246 foi realizada uma matriz de correlação para cada um dos grupos e as variáveis que
247 apresentaram uma correlação acima de 0.6 foram removidas. No final da seleção das

248 métricas, restaram quatro métricas de *Variáveis limnológicas*, sete de *Estrutura do*
249 *canal*, seis de *Substrato* e cinco de *Vegetação ripária*. Uma vez selecionadas, os
250 conjuntos de métricas foram utilizadas nas análises do ambiente separadamente.

251 Para verificar se houve variações das métricas entre os interflúvios (*hipótese i*)
252 cada grupo de variáveis ambientais (*Variáveis limnológicas*, *Estrutura do canal*,
253 *Substrato* e *Vegetação*) foi ordenado através de uma Análise de Coordenadas Principais
254 (PCoA) da distância Euclidiana após a padronização dos dados (Legendre & Legendre
255 1998). Cada conjunto de dados foi avaliado separadamente utilizando a PERMANOVA,
256 tendo os quatro interflúvios como preditor categórico. A significância da PERMANOVA
257 foi avaliada por meio de 9999 permutações de Monte Carlo dos dados brutos de ambas
258 a riqueza e composição de espécies, calculando-se a distribuição dos valores
259 aleatorizados de F^{π} maiores ou iguais aos valores de F observados e dividindo-se pelo
260 número de permutações ($F^{\pi} \geq F/9999$) (Anderson 2001).

261 No intuito de verificar se a dissimilaridade de espécies varia entre os interflúvios
262 (*hipótese ii*), a composição foi ordenada através de uma Análise de Componentes
263 Principais (PcoA) da matriz de dissimilaridade de Bray-Curtis (com abundância
264 passando por transformações logarítmicas) (Legendre & Legendre 1998). Em seguida, a
265 variação na dissimilaridade da composição de espécies entre os interflúvios (preditor
266 categórico) foi avaliada por meio de uma Análise de Permutação de Matrizes de
267 Distância (PERMANOVA – (Anderson 2001). A significância da PERMANOVA foi
268 avaliada utilizando 9999 permutações.

269 A riqueza entre os interflúvios foi estimada através do estimador não
270 paramétrico Jackknife (Colwell & Coddington 1994; Coddington *et al.* 1991),
271 utilizando os 20 segmentos de cada trecho de córrego amostrado como sub-amostras.
272 Esse método estima a riqueza total somando a riqueza observada (número de espécies
273 coletadas) a um parâmetro calculado a partir do número de espécies raras (aquelas que
274 ocorreram em apenas uma amostra). Essa técnica produz uma estimativa mais
275 aproximada da riqueza de espécies de uma comunidade (Krebs 1999), fornecendo ainda
276 um intervalo de confiança que permite a realização de comparações estatísticas entre
277 duas ou mais regiões amostradas com similar esforço de coleta. Posteriormente, a
278 riqueza estimada, assim como a abundância (ambos passando por transformações
279 logarítmicas), foram comparadas através de uma Análise de Variância de um fator
280 utilizando os quatro interflúvios como preditores categóricos (Zar 2010).

281 Para verificar a influência de cada um dos grupos de variáveis ambientais sobre
282 a riqueza estimada e composição de Ephemeroptera dentro (*hipótese iii*) e entre os
283 interflúvios (*hipótese iv*) foram realizadas análises de Regressão Multivariada de
284 Matrizes de Distância – MDMR (Zapala & Schork 2006). Essa análise possui algumas
285 vantagens quando comparados a outros métodos multivariados bastantes utilizados,
286 como por exemplo, graus de liberdade intuitivo, bom nível de precisão (Baixo erro tipo
287 II), bom poder de teste (tamanho de efeito medido por R^2), e flexibilidade quanto ao
288 número e tipo de preditores que o faz um excelente alternativa para redução de dados
289 multivariados (Zapala & Schork 2012). É uma alternativa robusta para métodos de
290 ordenação para descrever como as variações são atribuídas para diferentes tratamentos
291 experimentais ou covariações não controladas, é também análogo às análises de
292 redundâncias (Legendre & Anderson 1999), mas os resultados são melhores quando
293 temos um número limitado de amostras e muitas colunas de dados resposta ((R
294 Development Core Team 2015).

295 A distância de dissimilaridade utilizada na MDMR para avaliar a riqueza
296 estimada foi a distância Euclidiana, enquanto que para a composição de espécies foi
297 utilizada a dissimilaridade de Bray-Curtis. A MDMR resulta em resultados comparáveis
298 a modelos lineares univariadas paramétricos quando uma única variável resposta é
299 analisada utilizando a distância Euclidiana, com a vantagem de possibilitar o teste de
300 significância por meio de aleatorizações e não requerer normalidade dos resíduos
301 (Anderson 2001; Zapala & Schork 2006). A significância foi avaliada por meio de 9999
302 permutações de Monte Carlo dos dados brutos de ambas a riqueza e composição de
303 espécies, calculando-se a distribuição dos valores de aleatorizados ($R^{2\pi}$) maiores ou
304 iguais aos R^2 observados e dividindo-se pelo número de permutações ($R^2 \geq R^{2\pi} / 9999$)
305 (Anderson 2001).

306 Todas as análises foram realizadas no programa R (R Development Core Team
307 2015) através do pacote vegan, mgcv e labdsv.

308

309

310 **RESULTADOS**

311

312 **Variáveis ambientais**

313

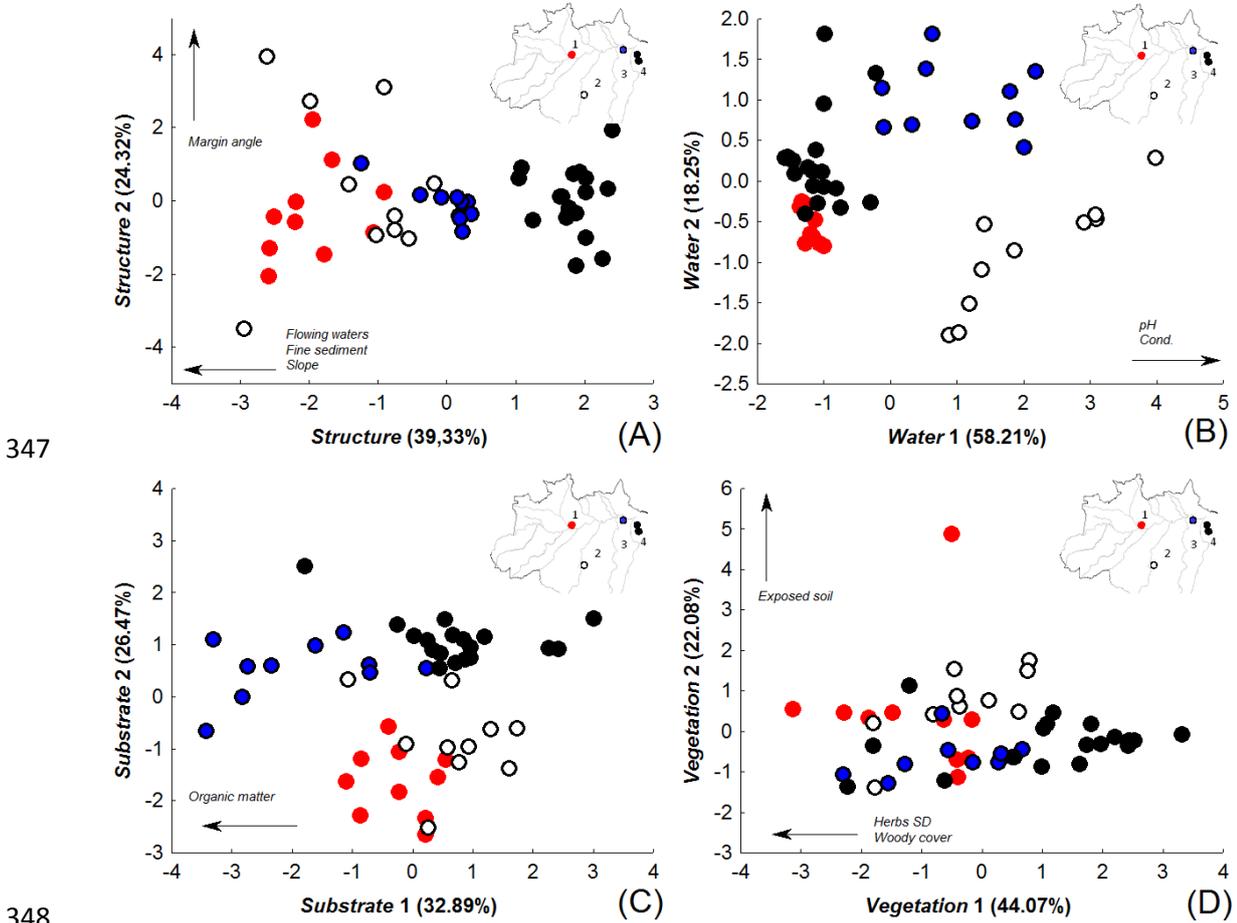
314 Para o grupo *Estrutura do canal*, 63,65% da variação total foi explicado nos dois
315 primeiros eixos da PCoA, sendo que 39,33% no primeiro eixo e 24,32% no segundo
316 eixo. Três variáveis foram correlacionadas negativamente com o primeiro eixo:
317 porcentagem de fluxo corrente, média de declividade e quantidade de sedimento fino no
318 córrego. A variável média do ângulo das margens foi correlacionada positivamente com
319 o segundo eixo. Os córregos foram ordenados mais próximos entre si dentro dos
320 interflúvios do que entre interflúvios diferentes considerando as variáveis de *Estrutura*
321 *do canal* (Fig. 3A). Diferenças estruturais significativas foram detectadas entre os
322 interflúvios na PERMANOVA (Tabela 1).

323 Os dois primeiros eixos da Análise de Componentes Principais do grupo
324 *Variáveis limnológicas* explicaram juntos, 76,46% da variação total, sendo que 58,21%
325 no primeiro eixo e 18,25% no segundo eixo. Das quatro métricas analisadas, duas foram
326 correlacionadas positivamente com o primeiro eixo, o pH e a condutividade. Nesse
327 grupo, os córregos dos mesmos interflúvios também foram ordenados mais próximos
328 entre si do que com relação aos demais interflúvios (Fig. 3B), onde também
329 encontramos diferença entre as variáveis através da análise de PERMANOVA (Tabela
330 1).

331 O grupo *Substrato* teve 59,36% da variação explicada nos dois primeiros eixos
332 (32,89% no primeiro eixo e 26,47% no segundo). Nesse grupo, apenas a porcentagem
333 de matéria orgânica foi correlacionada com o primeiro eixo, onde o Xingu-Tocantins,
334 ficou mais à esquerda do gráfico, apresentando valores maiores de matéria orgânica.
335 Também foi possível observar que os córregos dos mesmos interflúvios permaneceram
336 ordenados de forma agrupada e separados dos demais interflúvios (Fig. 3C). De acordo
337 com a PERMANOVA, essa diferença é significativa (Tabela 1).

338 O grupo *Vegetação ripária* teve 66,15% da variação total explicada nos dois
339 primeiros eixos (44,07% no primeiro eixo e 22,08% no segundo). O desvio padrão de
340 ervas rasteiras e a média de cobertura lenhosa foram correlacionadas com o primeiro
341 eixo, e a média de solo exposto foi correlacionada com o segundo eixo. Nesse grupo, os
342 córregos foram ordenados sem agrupamento dos interflúvios, porém, a PERMANOVA

343 mostrou que houve diferença entre os tratamentos (Tabela 1 - Fig. 3D). A partir desses
 344 resultados foi possível verificar que nossa hipótese de que haveriam diferenças nas
 345 variáveis ambientais de acordo com o interflúvio (hipótese i) foi corroborada.
 346



350 **Fig. 3.** Análise de Componentes Principais (PCoA) realizada para as métricas
 351 ambientais dos grupos de (A) *Estrutura do canal*, (B) *Variáveis limnológicas*, (C)
 352 *Substrato* e (D) *Vegetação ripária*. Setas e indicações nos gráficos indicam correlações
 353 das variáveis com os eixos acima de 0.7. Interflúvios: (1) Negro-Trombetas, (2)
 354 Tapajós-Xingu, (3) Xingu-Tocantins e (4) Tocantins-Gurupi.
 355

356

357 **Tabela 1.** Resultados da Análise PERMANOVA para a comparação das matrizes de
 358 Distância Euclidiana dos conjuntos de preditores ambientais comparados entre os quatro
 359 interflúvios estudados. Gl= Graus de liberdade.

Grupos	gl	Soma dos quadrados	Média	Modelo F	R2	P(>F)
Estrutura do canal	3	115,88	38,63	23,565	0,62	0,001*
Resíduos	44	72,12	1,64	0,384		
Total	47	188,00	1,00			
Variáveis limnológicas	3	148,12	49,37	12,011	0,45	0,001*
Resíduos	44	180,88	4,11	0,550		
Total	47	329,00	1,00			
Substrato	3	136,59	45,53	13,777	0,48	0,001*
Resíduos	44	145,41	3,31	0,516		
Total	47	282,00	1,00			
Vegetação ripária	3	64,53	21,51	5,551	0,27	0,001*
Resíduos	44	170,47	3,87	0,725		
Total	47	235,00	1,00			

360

361

362 **Estrutura da comunidade de Ephemeroptera**

363

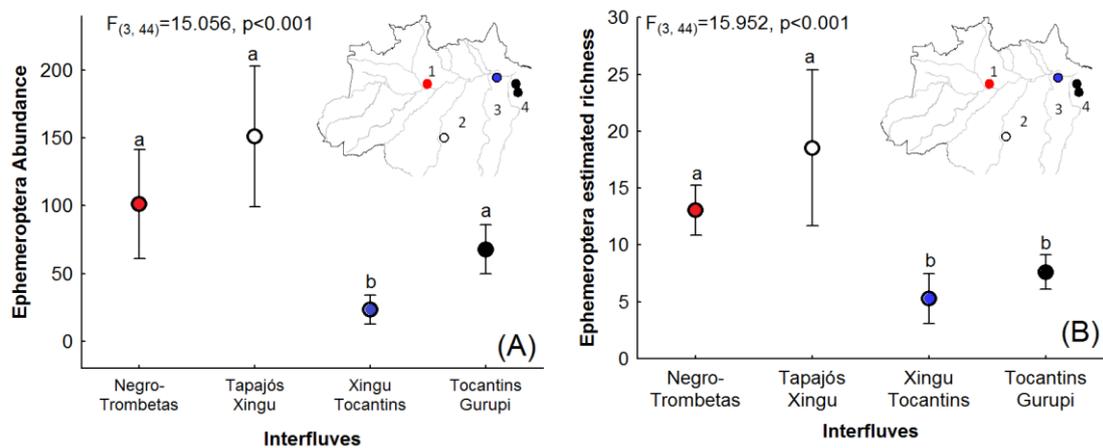
364 Ao todo foram amostrados 3.975 indivíduos, distribuídos em 32 gêneros e 53
 365 espécies e morfoespécies, sendo que os gêneros *Miroculis*, *Farrodes* e *Campylocia* não
 366 foram morfoespeciados devido à indistinção dos indivíduos na fase ninfal. Por não
 367 terem sido morfoespeciados, *Miroculis* spp. (n=2.035), *Farrodes* spp. (n=616) e
 368 *Campylocia* spp. (n=247) foram os táxons mais abundantes, sendo que só *Miroculis*
 369 contribuiu com 51.19% da abundância total de indivíduos. Dez espécies/morfoespécies
 370 contribuíram com apenas um indivíduo cada (cerca de 0,03% da abundância total)
 371 (Material Suplementar I).

372 Nos interflúvios, a distribuição da abundância se deu de forma bem distinta,
 373 sendo que o mais abundante foi o interflúvio Tapajós-Xingu com 1510 indivíduos
 374 amostrados (em 10 córregos), seguido do interflúvio Tocantins-Gurupi com 1219 ninfas
 375 (em 18 córregos), Negro-Trombetas com 1011 indivíduos (em 10 córregos) e Xingu-
 376 Tocantins com 235 indivíduos (10 córregos). Ao comparar a abundância entre os
 377 interflúvios (Fig. 4A), é possível perceber que os interflúvios diferem entre si
 378 ($F_{(3,44)}=15,056$; $p<0,001$). De acordo com a análise a posteriori de Tukey, só não houve
 379 diferença significativa entre o Negro-Trombetas e Tapajós-Xingu (p de Tukey=0,647), e
 380 Tapajós-Xingu e Tocantins-Gurupi (p de Tukey=0,427). Em média, o Tapajós-Xingu foi
 381 o mais abundante, com 127 indivíduos a mais do que o Xingu-Tocantins, 83 a mais do

382 que Tocantins-Gurupi e 50 indivíduos a mais do que o Negro-Trombetas. Já o Negro-
 383 Trombetas obteve em média, 34 indivíduos a mais do que o Tocantins-Gurupi e 78 a
 384 mais do que o Xingu-Tocantins. Por fim, o Tocantins-Gurupi obteve em média, 43
 385 indivíduos a mais do que o Xingu-Tocantins.

386 Já com relação a riqueza estimada, o Tapajós-Xingu foi o mais rico,
 387 apresentando em média, 19 espécies estimadas por córrego a mais do que o Negro-
 388 Trombetas que foi o segundo mais rico (14 spp.), seguidos por Tocantins-Gurupi (8
 389 spp.) e Xingu-Tocantins (6 spp.) (Fig. 4B) ($F_{(3,44)}=15,952$ e $p<0,001$). A análise a
 390 posteriori mostrou que o Negro-Trombetas e Tapajós-Xingu (p de Tukey=0,576) e
 391 Xingu-Tocantins e Tocantins-Gurupi (p de Tukey=0,108) foram similares.

392



393

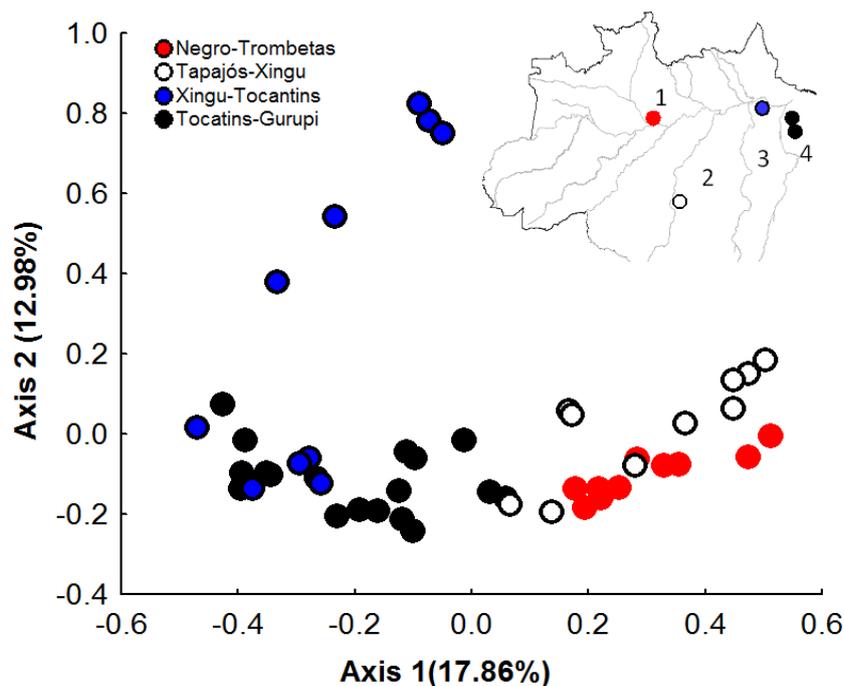
394 **Fig. 4.** Comparação da abundância (A) e riqueza estimada (B) de Ephemeroptera em
 395 diferentes interflúvios da Amazônia brasileira. Interflúvios: (1) Negro-Trombetas, (2)
 396 Tapajós-Xingu, (3) Xingu-Tocantins e (4) Tocantins-Gurupi.

397

398

399 Quanto à composição de espécies, foi possível observar que houve a formação
 400 de dois grupos, um formado pelos Interflúvios Negro-Trombetas e Tapajós-Xingu, e o
 401 segundo formado pelos interflúvios Xingu-Tocantins e Tocantins-Gurupi (Fig. 5).
 402 Porém, os pontos do Xingu-Tocantins aparecem mais na parte superior do gráfico,
 403 indicando uma diferenciação com relação ao segundo eixo. A composição do Negro-
 404 Trombetas, por sua vez, foi mais homogênea entre si. Nos dois primeiros eixos foram
 405 explicados 30,84% da variação da composição. A PERMANOVA confirmou a
 406 dissimilaridade entre os interflúvios ($gl=4$, $F=4,166$ e $p<0,001$), corroborando assim, a
 407 hipótese de que a composição de espécies seriam diferentes entre os interflúvios
 408 analisados (hipótese ii).

409 Apenas seis espécies foram amostradas em todos os interflúvios, *Amanahyphes*
410 *saguassu*, *Aturbina maculata*, *Brasilocaenis* sp.1, *Campylocia* spp., *Miroculis* spp. e
411 *Waltzoyphius roberti*. O Tapajós-Xingu obteve 13 espécies exclusivas, enquanto que o
412 Negro-Trombetas teve cinco, o Tocantins-Gurupi teve quatro e o Xingu-Tocantins
413 obteve três (Tabela 1).
414



415 **Fig. 5.** Ordenação da composição de Ephemeroptera (log[abundância+1]) de acordo com os interflúvios da bacia do rio Amazonas. Interflúvios: (1) Negro-Trombetas, (2)
416 Tapajós-Xingu, (3) Xingu-Tocantins e (4) Tocantins-Gurupi.
417
418
419
420

421 **Varição ambiental local/regional e seu efeito na estrutura da comunidade**

422

423 **Riqueza de espécies.** Ao avaliarmos a influência das métricas do grupo
424 *Estrutura do canal* sobre a riqueza de espécies em escala regional, verificamos que a
425 média do ângulo das margens, a porcentagem de fluxo corrente e o desvio padrão da
426 profundidade do córrego exerceram efeito sobre a mesma (Fig. 6 – linha 1). Quando
427 analisamos dentro de cada interflúvio, observamos que a variável média da quantidade
428 de piscinas influenciou a riqueza de espécies apenas no interflúvio Tapajós-Xingu,
429 mesmo apesar dessa métrica não ter influenciado em escala regional.

430 Quando avaliamos as métricas do grupo *Variáveis limnológicas* regionalmente,
431 observamos que apenas a temperatura do ambiente exerce efeito sobre a riqueza de
432 Ephemeroptera, em escala regional, apenas a temperatura foi relacionada com a riqueza.
433 Porém, dentro de cada interflúvio, nenhuma das métricas foi estruturadora da riqueza
434 local (Fig. 6 – linha 2).

435 Das seis variáveis testadas no grupo *Substrato*, quatro delas (média de
436 quantidade de banco de folhas, média de quantidade de macrófitas, proporção de
437 margem escavada e porcentagem de substrato fino) influenciaram a riqueza de
438 Ephemeroptera em escala regional (Fig. 6 – linha 3). Em escala local, apenas o
439 interflúvio Tapajós-Xingu teve a riqueza afetada pela média de banco de folhas e média
440 de macrófitas.

441 Quanto ao grupo *Vegetação ripária*, em escala regional, a média de quantidade
442 de cobertura lenhosa e a média de quantidade de dossel de árvores grandes
443 influenciaram a riqueza de efemerópteros (Fig. 6 – linha 4). Na escala local, nenhuma
444 métrica exerceu influencia.

445

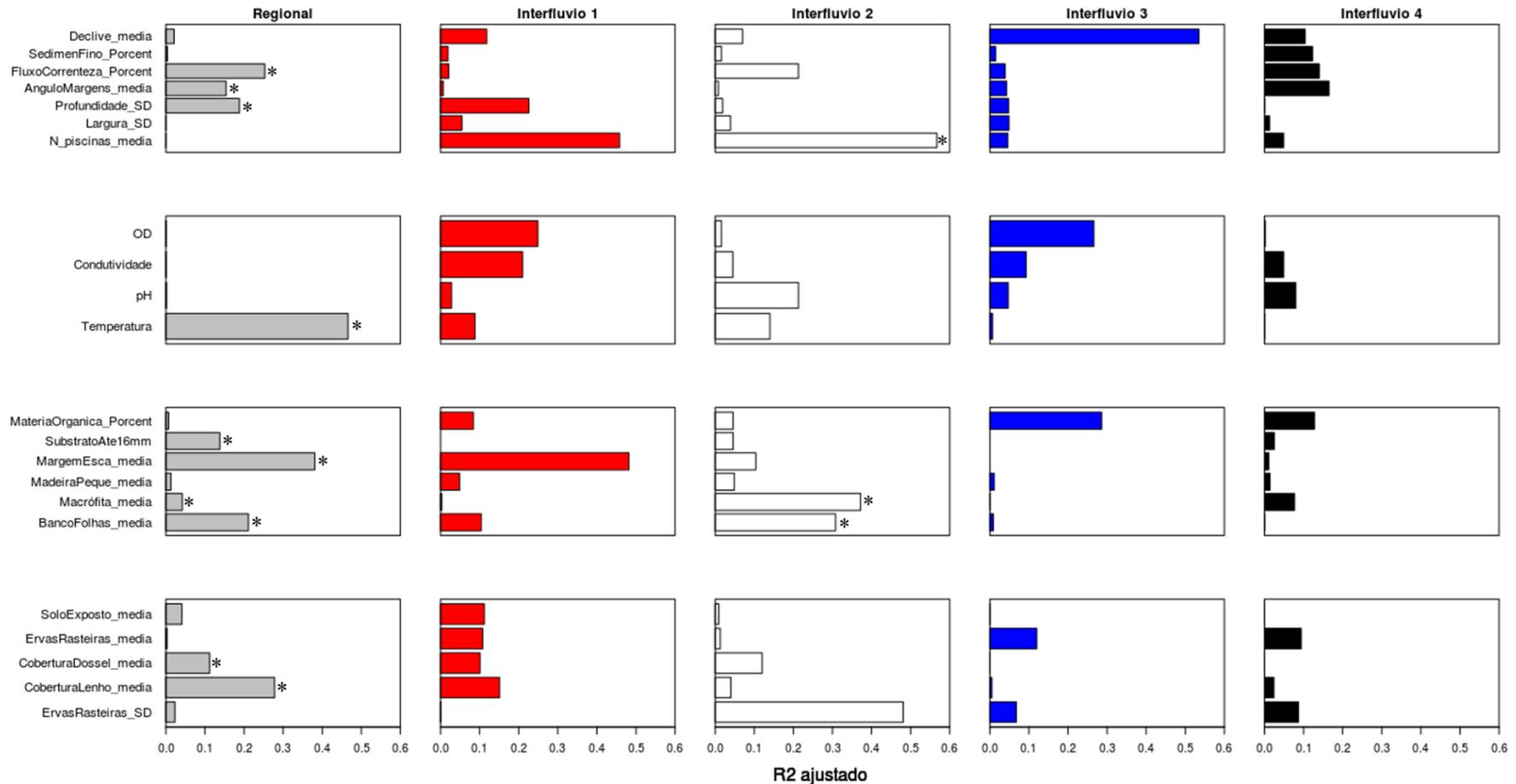
446 **Composição de espécies.** Já com relação à composição de espécies, quando
447 avaliado as métricas do grupo *Estrutura do canal* observamos que a porcentagem de
448 fluxo corrente, o desvio padrão da profundidade do córrego e a quantidade de sedimento
449 fino foram importantes para a estruturação da comunidade (Fig. 7 – linha 1). A
450 porcentagem de fluxo de correnteza no trecho também influenciou a composição de
451 espécies em escala local no interflúvio Negro-Trombetas, e o desvio padrão da
452 profundidade no Tocantins-Gurupi.

453 Todas as variáveis do grupo *Variáveis limnológicas* exerceram efeito regional
454 sobre a composição de efemerópteros (Fig. 7 – linha 2). Porém, localmente, não
455 observamos influência de nenhuma variável desse grupo sobre a composição de
456 Ephemeroptera.

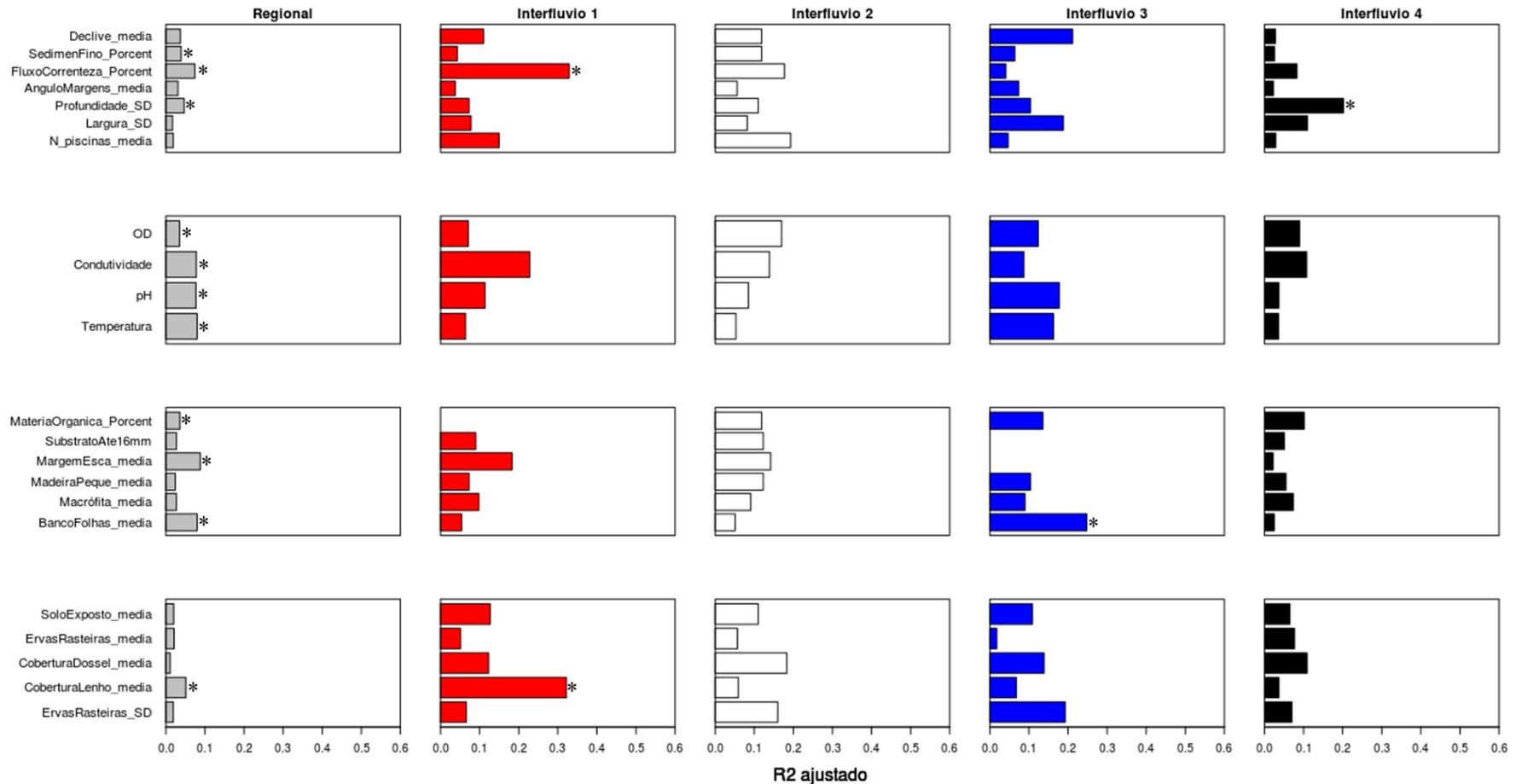
457 No grupo *Substrato*, três métricas (Média de banco de folhas, proporção de
458 margem escavada e total de matéria orgânica) influenciou a composição regionalmente
459 (Fig. 7 – linha 3). Localmente, apenas o interflúvio Xingu-Tocantins teve a composição
460 afetada pela média de banco de folhas.

461 Por fim, do grupo *Vegetação ripária* apenas a cobertura lenhosa influenciou a
462 composição regionalmente (Fig. 7 – linha 4). Já em escala local, a mesma métrica
463 exerceu efeito apenas no interflúvio Negro-Trombetas.

464 Nossos resultados mostram que regionalmente houveram métricas que
465 influenciaram a riqueza e composição de Ephemeroptera, porém, analisando os
466 interflúvios individualmente em escala local, o número métricas importantes para
467 estruturar o padrão de distribuição das espécies foi bem menor, confirmando nossa
468 hipótese de diferenças ambientais e variação dos efeitos ambientais sobre as
469 comunidades dependem da escala analisada (hipótese iv). Cada interflúvio analisado
470 possui algumas métricas que atuam intrinsecamente sobre a comunidade local. Ainda, é
471 possível perceber que não são as mesmas métricas que atuam no padrão de distribuição
472 dos efemerópteros dentro de cada interflúvio, indicando fortes efeitos regionalizados.



473
 474 **Fig. 6.** Resultados de r^2 da Regressão Multivariada de Matrizes de Distância para cada métrica avaliada regionalmente (os quatro interflúvios
 475 juntos) e localmente dos quatro grupos de variáveis ambientais testados (Estrutura do canal, Variáveis limnológicas, Substrato e Vegetação
 476 ripária) e sua influencia sobre a riqueza de Ephemeroptera em córregos de diferentes interflúvios da Amazônia brasileira. * resultados
 477 significativos de acordo com 9999 aleatorizações. Interflúvios: (1) Negro-Trombetas, (2) Tapajós-Xingu, (3) Xingu-Tocantins e (4) Tocantins-
 478 Gurupi.



479
 480 **Fig. 7.** Resultados de r^2 da Regressão Multivariada de Matrizes de Distância para cada métrica avaliada regionalmente (os quatro interflúvios
 481 juntos) e localmente dos quatro grupos de variáveis ambientais testados (Estrutura do canal, Variáveis limnológicas, substrato e Vegetação
 482 ripária) e sua influencia sobre a composição de Ephemeroptera em córregos de diferentes interflúvios da Amazônia brasileira. * representa
 483 resultados significativos. Interflúvios: (1) Negro-Trombetas, (2) Tapajós-Xingu, (3) Xingu-Tocantins e (4) Tocantins-Gurupi.

461 **DISCUSSÃO**

462

463 As bacias hidrográficas são moldadas pelos fatores ambientais, que controlam todos
464 os aspectos físicos dos rios e variam de local pra local (Snelder & Biggs 2002),
465 dependendo principalmente da paisagem circundante (Allan & Castillo 2007). Várias
466 características ambientais são regidas pela geologia local (que determina a disponibilidade
467 de íons e fornecimento de sedimentos), pela topografia (que determina o declive e o grau
468 de contenção), pelo clima e tipos de solos (que determinam a vegetação e
469 consequentemente, a disponibilidade de matéria orgânica e a extensão de sombreamento)
470 (Allan & Castillo 2007).

471 A grande extensão do território amazônico, cerca de oito milhões de quilômetros
472 quadrados (Sioli 1984), possibilitou que houvesse distintos processos históricos de
473 formação de paisagens ao longo de sua extensão. Ao longo do tempo, o soerguimento dos
474 Andes e a consequente mudança no curso das bacias hidrográficas e padrões de chuva, a
475 entrada da água salgada na Amazônia Oriental e as mudanças climáticas (todos ocorridos
476 entre os períodos Cretáceo e Terciário), afetaram áreas diferentes da bacia Amazônica
477 (Hoorn & Wesselingh 2010). Enquanto as planícies passavam por mudanças drásticas, os
478 escudos no norte eram paisagem superestáveis (Wesselingh *et al.* 2010). Devido os
479 distintos processos de formação, nós já esperávamos diferenças entre as variáveis
480 ambientais mensuradas nos diferentes interflúvios da Amazônia.

481 As diferentes composições de espécies nos interflúvios podem ser explicadas por
482 dois processos: (i) variações ambientais conduziram às diferenças na composição de
483 espécies (Teoria de Nicho) e (ii) a atuação dos grandes rios amazônicos como barreiras
484 geográficas (hipótese de rios), os quais provavelmente tiveram efeitos conjunto na
485 configuração atual da biodiversidade amazônica. Sabe-se que os efemerópteros são
486 fortemente influenciados pelas variáveis ambientais (Shimano *et al.* 2013), e uma vez que
487 as variáveis ambientais foram distintas entre os interflúvios, a composição de espécies
488 também pode ter sido afetada por essas variáveis ao longo do tempo evolutivo, implicando
489 em ajustes regionalizados às condições ambientais prevalentes. De acordo com a Teoria de
490 Nicho (Hutchinson 1957), os fatores ambientais, comprimento de nichos de cada espécie,
491 juntamente com a capacidade de competição de cada organismo, estão por trás da
492 distribuição atual dos organismos já que as espécies só persistem em locais onde as
493 condições ambientais contemplam os requerimentos dentro de sua amplitude de nicho.

461 Da mesma forma, a ordem Ephemeroptera também é conhecida por serem insetos
462 paleópteros, aparecendo pela primeira vez no registro fóssil no Carbonífero superior à 250
463 milhões de anos atrás (Brittain 1982; Sartori & Brittain 2015). Fato que nos levam à
464 acreditar na participação de processos históricos de formação da Amazônia, como a
465 hipótese de rios (Wallace 1852), que sugere que no princípio da formação da rede
466 hidrográfica Amazônica, ocorrida no final do terciário e início do quaternário, houve o
467 soerguimento dos Andes e com isso a formação de um grande lago que, com o tempo,
468 forçou o escoamento dos corpos d'água para o leste do continente. Com isso, os ancestrais
469 dos táxons atuais que eram amplamente distribuídos tiveram suas populações isoladas na
470 medida em que os novos interflúvios se formavam (Antonelli *et al.* 2011). A hipótese mais
471 aceita é de que, com o passar dos anos, esses rios foram se tornando mais largos e
472 passaram a atuar como uma barreira geográfica ao fluxo gênico entre as populações
473 isoladas, e por isso, teria grande influência sobre a especiação e dispersão das espécies
474 (Haffer 2008). Uma vez que os ancestrais dos Ephemeroptera atuais se originaram no
475 carbonífero à cerca de 250 milhões de anos, e a Bacia Amazônica no Terciário –
476 Quaternário à pelo menos 60 milhões de anos atrás (Haffer 2008), é totalmente plausível
477 de que haja efeito do processo histórico de formação da Amazônia.

478 Um trabalho realizado no interflúvio Madeira-Purus testando o efeito das variáveis
479 ambientais e de diferentes bacias de drenagem sobre a comunidade de peixes verificou que
480 existe influencia de ambas variáveis analisadas, porém, a influência da bacia de drenagem
481 teve uma explicação muito maior (99,4% contra 0,6%) (Barros *et al.* 2013). A explicação
482 mais plausível, segundo os autores, seria os processos de formação distintos das bacias,
483 dando suporte à ideia de que o isolamento é mais importante do que as características
484 locais do hábitat para a estruturação da comunidade.

485 Também foi possível perceber um agrupamento entre a composição de espécies dos
486 pontos coletados nos interflúvios Negro-Trombetas e Tapajós-Xingu, da mesma forma que
487 houve um agrupamento dos interflúvios Xingu-Tocantins e Tocantins-Gurupi. A maior
488 similaridade entre os interflúvios Xingu-Tocantins e Tocantins-Gurupi pode ter sido
489 influenciada pelo processo de formação da hidrografia atual da bacia amazônica. De
490 acordo com o Modelo Paleobiogeográfico de Biodiversificação proposto por Ribas *et al.*
491 (2012), o rio Tocantins foi o penúltimo a se estabelecer, à aproximadamente 0,8–0,5 Ma, e
492 portanto, foi uma das barreiras geográficas mais recente. Porém, esse mesmo modelo não
493 explica a diferença entre os Tapajós-Xingu e Xingu-Tocantins, que é separado pelo rio

461 Xingu, o mais recente à ser formado, à cerca de 0,5–0,3 Ma. Da mesma forma, não explica
462 a similaridade entre o Negro-Trombetas e o Tapajós-Xingu, que são separados pelo rio
463 Amazonas, Madeira e Tapajós, os três rios de formação mais antiga (2,7–2,0 Ma, 2,0–1,0
464 Ma, 1,3–0,8 Ma, respectivamente). De qualquer forma, enfatizamos que este modelo foi
465 realizado com espécies de aves, e refere-se à organismos vertebrados. Para invertebrados,
466 apenas os trabalhos de Racheli & Racheli (2004) e Juen *et al.* (2012) contemplam estudos a
467 respeito da distribuição de espécies de borboletas e libélulas, respectivamente, com relação
468 aos efeitos ambientais e o isolamento entre os interflúvios amazônicos, no qual ambos
469 encontraram padrões de endemismos congruentes aos encontrados para os vertebrados.

470 Quando verificamos quais eram as variáveis ambientais mais importantes para as
471 comunidades de efemerópteros, encontramos mais variáveis em escala regional do que
472 local. Isso já era esperado uma vez que a amplitude de variação das variáveis ambientais se
473 torna muito maior devido ao aumento do gradiente ambiental, podendo ficar mais
474 perceptível. Em escala local obtivemos um número menor de variáveis influenciando as
475 comunidades, e ainda, nenhuma variável exerceu efeito em mais de um interflúvio. A partir
476 desses resultados podemos inferir que em escala local há uma menor chance de detectar
477 influência de variáveis locais. O efeito pode existir na comunidade como um todo, porém,
478 a amostragem pode ser pequena e não contemplar a variação necessária para detectar o
479 efeito. Em casos de estudos ecológicos locais, isso não é um problema, pois a pergunta
480 geralmente gira em torno de temas específicos. Porém, a não detecção de efeitos do
481 ambiente sobre uma comunidade pode gerar dados errôneos, como seria o caso de estudos
482 de impacto ambiental que são realizados localmente, ou até mesmo aumentar o resíduo e a
483 conclusões erradas sobre os processos que governam as comunidades (Smith & Lundholm
484 2010).

485 O fato de diferentes preditores ambientais serem importantes em diferentes
486 interflúvios já era esperado uma vez que se as comunidades são compostas por espécies
487 diferentes, consequentemente esperaríamos que elas se comportassem diferentemente às
488 variações ambientais dada às restrições fisiológicas das espécies presentes e reforça nossa
489 expectativa de que os efeitos ambientais sobre as comunidades de insetos não são
490 estacionários ao longo da Amazônia. Esses resultados têm fortes implicações para a
491 avaliação ambiental e para biomonitoramento de córregos Amazônicos porque demonstra
492 que a conservação das espécies tem que estar presentes em todos os interflúvios e deve ser

461 tratada de formas diferentes ao longo deste bioma, devido às diferenças ambientais e
462 estruturais.

463 Todas as variáveis que atuaram em escala regional já são conhecidas por exercerem
464 influência sobre comunidades de invertebrados aquáticos: oxigênio dissolvido e pH (e.g.
465 Hershey *et al.* 2010; Thorp & Covich 2010), temperatura (e.g. Shimano *et al.* 2010),
466 condutividade (e.g. Abílio *et al.* 2005), profundidade, ângulos das margens e margem
467 escavada (e.g. Allan & Castillo 2007), velocidade do fluxo da água (e.g. Abílio *et al.*
468 2005), quantidade de sedimento fino (e.g. Hershey *et al.* 2010; Heino & Mykrä 2008;
469 Ramezani *et al.* 2014), matéria orgânica, banco de folhas, macrófitas (e.g. Thorp & Covich
470 2010) e cobertura lenhosa (e.g. Vinson & Hawkins 1998).

471 Além disso, dependendo da comunidade local, as exigências ecológicas vão variar.
472 Por exemplo, o oxigênio dissolvido, que é amplamente relatado ao longo de toda a história
473 da ecologia dos insetos aquáticos como estruturador das comunidades aquáticas lólicas
474 (Vinson & Hawkins 1998; Silveira 2004; Cummins *et al.* 2005; Heino & Mykrä 2008) não
475 exerceu influencia sobre nenhuma das quatro comunidades locais analisadas (interflúvios),
476 apenas exerceu influencia em escala regional. É de conhecimento geral que o oxigênio
477 influencia a distribuição dos organismos, já que ele é responsável por conduzir os
478 processos metabólicos (Hershey *et al.* 2010), mas é importante salientar que alguns
479 organismos são mais sensíveis do que outros, então, o efeito pode ser amenizado pelos
480 organismos que tem uma amplitude fisiológica maior, suportando uma maior variação no
481 nível de oxigênio. Por não podermos generalizar efeitos, talvez seja plausível supor que,
482 para estudos de impacto e efeito de alterações ambientais, seria necessário focar em
483 espécies específicas, previamente conhecidas e com suas respostas biológicas já
484 conhecidas. Portanto, é necessário investir em estudos usando estratégias de desconstrução
485 de comunidade quer seja por grupos funcionais, por espécies raras e abundantes ou até
486 mesmo por história evolutiva.

487 Também podemos perceber que não é possível fazer generalizações sobre quais
488 variáveis atuam sobre as comunidades locais, e também não podemos extrapolar variáveis
489 estruturadoras de macropadrões de distribuição para as comunidades locais. Mesmo
490 porque, algumas variáveis locais específicas podem atuar na extinção local ou explosão
491 populacional (no caso de eventos estocásticos) de algumas espécies já que algumas são
492 sensíveis à alterações ambientais (e.g. Buss & Salles 2007; Souza 2010). Em geral, os
493 processos ecológicos são dependentes da escala, então os fatores que operam em amplas

461 escalas influenciam os sistemas em escala menor, porém, o inverso não acontece (Allan &
462 Castillo 2007; Snelder & Biggs 2002).

463 Nossos resultados comparando os interflúvios local e regionalmente são
464 extremamente importantes e ressaltam as diferenças encontradas em dados ecológicos
465 quando analisadas em diferentes escalas já que, de acordo com (Heino & Mykrä 2008), a
466 grande importância dos processos regionais e locais na determinação da estrutura de
467 comunidades aquáticas não tem recebido rigorosa atenção até recentemente. (Cortes *et al.*
468 2011) também encontrou resultados distintos ao comparar escalas espaciais (porém
469 hierárquicas) para a comunidade de macroinvertebrados no norte da Portugal. De acordo
470 com os autores, variáveis locais explicam a variância das espécies, porém, as variáveis
471 regionais é tão ou mais relevante do que as características locais dos córregos.

472 De qualquer forma, acreditamos que ainda é necessário a coleta e estudo das
473 variáveis ambientais e seu efeito sobre as comunidades para que com mais dados
474 ecológicos seja possível entender melhor como se dá a distribuição dos organismos e
475 variáveis ambientais dentro do bioma Amazônico, sanando dessa forma, parte do déficit
476 hutchinsoniano da ordem Ephemeroptera, e conseqüentemente o wallaceniano a partir das
477 coletas e registros das espécies encontradas. Encorajamos o estudo desses e outros
478 organismos nas demais áreas da Amazônia onde provavelmente, outras comunidades se
479 comportarão de forma diferente, para que possamos, dessa forma, um dia encontrar
480 padrões que explique a origem da alta diversidade biológica encontrada da Amazônia.

481 Como conclusão, nós verificamos diferenças estruturais tanto ambientais quanto
482 composicionais da biodiversidade de Ephemeroptera nos diferentes interflúvios
483 amazônicos. Nós atribuímos esses resultados aos distintos processos de formação ocorridos
484 ao longo da Bacia Amazônica, gerando estruturas físicas distintas entre os interflúvios.
485 Conseqüentemente, além das comunidades terem os grandes rios como barreiras
486 geográficas para a dispersão (Hipótese de Rios), as distintas variáveis ambientais também
487 estruturaram as comunidades locais (Teoria do Nicho). Já os diferentes efeitos das
488 variáveis ambientais sobre as comunidades em escala local e regional são conseqüências
489 das diferentes amplitudes de variações entre escalas, o que merece grande atenção em
490 estudos ecológicos e suas interpretações, já que os preditores ambientais podem mudar de
491 acordo com a escala analisada. Nossa escala regional permitiu que as diferenças ambientais
492 entre interflúvios e a influência das barreiras geográficas fossem consideradas.

493

461 **AGRADECIMENTOS**

462

463 Agradecemos a todos os integrados do Laboratório de Ecologia e Conservação
464 (LabECo) da Universidade do Estado do Pará pela ajuda em campo. Ao Conselho Nacional
465 de Pesquisa (CNPq) pelo financiamento dos processos 481015/2011-6 - Universal 14/2011
466 e 475611/2012-8 e pela bolsa produtividade de LJ (processo: 303252/2013-8). Ao
467 Programa de Pesquisa em Biodiversidade da Amazônia Oriental (PPBio) e à Fundação
468 Amazônia Paraense de Amparo à Pesquisa (FAPESPA) (ICAAF 03/2011) pelo
469 financiamento.

470

471 **REFERÊNCIAS**

472

- 473 Abílio, F. J. P., Fonseca-Gessner, A. a., Watanabe, T., Leite, R. L. (2005) Fauna de
474 Chironomidae e outros insetos aquáticos de açudes do semi-árido paraibano, Brasil.
475 *Entomol. y Vectores*. **12**, 255–264.
- 476 Aleixo, A., Rossetti, D. de F. (2007) Avian gene trees, landscape evolution, and geology:
477 Towards a modern synthesis of Amazonian historical biogeography? *J. Ornithol.* doi:
478 10.1007/s10336-007-0168-7.
- 479 Allan, J. D., Castillo, M. M. (2007) *Stream Ecology*. 2nd edn. Springer, The Netherlands.
- 480 Anderson, M. J. (2001) Permutation tests for univariate or multivariate analysis of variance
481 and regression. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **58**, 626–639. [online]. Available from: <Go
482 to ISI>://000167371400020.
- 483 Antonelli, A., Quijada-Mascareñas, A., Crawford, A. J., Bates, J. M., Velazco, P. M.,
484 Wüster, W. (2011) Molecular Studies and Phylogeography of Amazonian Tetrapods
485 and their Relation to Geological and Climatic Models. In: *Amazonia: Landscape and*
486 *Species Evolution: A look into the past* (eds C. Hoorn & F. P. Wesselingh) pp. 386–
487 404 Wiley-Blackwell Publications, UK.
- 488 Azevedo-Ramos, C., Galatti, U. (2002) Patterns of amphibian diversity in Brazilian
489 Amazonia: Conservation implications. *Biol. Conserv.* doi: 10.1016/S0006-
490 3207(01)00129-X.
- 491 Barros, D. F., Albernaz, A. L. M., Zuanon, J., Espírito Santo, H. M. V, Mendonça, F. P.,
492 Galuch, A. V. (2013) Effects of isolation and environmental variables on fish
493 community structure in the Brazilian Amazon Madeira-Purus interfluve. *Brazilian J.*
494 *Biol.* **73**, 491–499. [online]. Available from:
495 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24212688>.
- 496 Barthem, R. B., Charvet-Almeida, P., Montag, L. F. de A., Lanna, A. E. (2004) *Amazon*
497 *Basin: GIWA Regional assessment 40b*. University of Kalmar, Kalmar, Sweden.
- 498 Beisel, J.-N., Usseglio-Polatera, P., Moreteau, J.-C. (2000) The spatial heterogeneity of a
499 river bottom: A key factor determining macroinvertebrate communities.
500 *Hydrobiologia*. **422-423**, 163–171. [online]. Available from:
501 [http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-
502 0034174374&partnerID=40&md5=c4db327136c962966dafbce5e117b784](http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0034174374&partnerID=40&md5=c4db327136c962966dafbce5e117b784).
- 503 Brittain, J. E. (1982) Biology of Mayflies. *Annu. Rev. Entomol.*, 119–147.

- 461 Buss, D. F., Salles, F. F. (2007) Using Baetidae Species as Biological Indicators of
 462 Environmental Degradation in a Brazilian River Basin. doi: 10.1007/s10661-006-
 463 9403-6.
- 464 Cardoso, P., Erwin, T. L., Borges, P. a V, New, T. R. (2011) The seven impediments in
 465 invertebrate conservation and how to overcome them. *Biol. Conserv.* **144**, 2647–
 466 2655. [online]. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2011.07.024>.
- 467 Coddington, J. A., Criswold, C. E., Davila, D. S., Penaranda, E., Larcher, S. F. (1991)
 468 Designing and testing sampling protocols to estimate biodiversity in tropical
 469 ecosystems. *Crit. Iss. Biodiv.*
- 470 Colwell, R. K., Coddington, J. A. (1994) Estimating terrestrial biodiversity through
 471 extrapolation. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 101–118.
- 472 Cortes, R. M., Varandas, S., Teixeira, a, Hughes, S. J., Magalhaes, J. B., Alvarez-Cabria,
 473 M., Fernandez, D. (2011) Effects of landscape metrics and land-use variables on
 474 macroinvertebrate communities and habitat characteristics e Barqu ´. *Limnetica*. **30**,
 475 347–362.
- 476 Cummins, K. W., Merritt, R. W., Andrade, P. C. N. (2005) The use of invertebrate
 477 functional groups to characterize ecosystem attributes in selected streams and rivers
 478 in southeast Brazil. . **102555**, 71–90.
- 479 Domínguez, E., Molineri, C., Pescador, M. L., Hubbard, M. D., Nieto, C. (2006)
 480 *Ephemeroptera of South America*. Pensoft. Moscow.
- 481 Haffer, J. (2008) Hypotheses to explain the origin of species in Amazonia. *Braz. J. Biol.*.
 482 **68**, 917–947.
- 483 Haseyama, K. L. F., Carvalho, C. J. B. De (2011) Padrões de distribuição da
 484 biodiversidade Amazônica: um ponto de vista evolutivo. *Rev. da Biol.* doi:
 485 10.7594/revbio.07.07.
- 486 Heino, J., Mykrä, H. (2008) Control of stream insect assemblages: Roles of spatial
 487 configuration and local environmental factors. *Ecol. Entomol.* doi: 10.1111/j.1365-
 488 2311.2008.01012.x.
- 489 Hershey, A. E., Lamberti, G. A., Chaloner, D. T., Northington, R. M. (2010) Aquatic
 490 insect ecology. In: *Ecology and classification of North American Freshwater*
 491 *Invertebrates* pp. 659–694 Academic Press (Elsevier), London, UK.
- 492 Hoorn, C., Wesselingh, F. P. (2010) *Amazonia: Landscape and species evolution, a look*
 493 *into the past*. Wiley Blackwell Publishing Ltd.
- 494 Hutchinson, G. E. (1957) Concluding Remarks. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*
- 495 Juen, L., Marco, P. De, de Marco, P. (2012) Dragonfly endemism in the Brazilian Amazon:
 496 Competing hypotheses for biogeographical patterns. *Biodivers. Conserv.* doi:
 497 10.1007/s10531-012-0377-0.
- 498 Juen, L., Soares, Æ. H., Cabette, R., Jr, P. D. M. (2007) Odonate assemblage structure in
 499 relation to basin and aquatic habitat structure in Pantanal wetlands. doi:
 500 10.1007/s10750-006-0395-6.
- 501 Krebs, C. J. (1999) *Ecological Methodology*. 1st edn. Addison Wesley Longman, Inc.,
 502 Menlo Park, CA.
- 503 Legendre, P., Anderson, M. J. (1999) Distance-based redundancy analysis: testing
 504 multispecies responses in multifactorial ecological experiments. *Ecol. Monogr.*
- 505 Legendre, P., Legendre, L. (1998) *Numerical Ecology*. 2nd edn. Elsevier Science B.V.,
 506 Amsterdam.
- 507 Lomolino, M. V. (2004) Conservation biogeography. In: *Frontiers of Biogeography: New*
 508 *Directions in the Geography of Nature* pp. 293–293 Sinauer Associates,
 509 Massachusetts.

- 461 Margalef, R. (1983) *Limnologia*. Omega, Barcelona.
- 462 McGeoch, M. A. (1998) The selection, testing and application of terrestrial insects as
463 bioindicators. *Biol. Rev.*
- 464 Mokany, K., Ferrier, S. (2011) Predicting impacts of climate change on biodiversity: a role
465 for semi-mechanistic community-level modelling. *Divers. Distrib.*
- 466 Peck, D. V, Herlihy, B. H., Hill, R. M., HUGles, P. R., Kaufmann, D. J., Klemm, J. M.,
467 Lazoechak, F. H., McCormick, S. a, Peterson, P. L., Ringold, T., Magee, Cappaert,
468 M. (2006) Environmental Monitoring and Assessment Program-Surface Waters
469 Western Pilot Study: Field Operations Manual for Wadeable Streams. . EPA/620/R-
470 275.
- 471 R Development Core Team (2015) R: A language and environment for statistical
472 computing. [online]. Available from: <http://www.r-project.org/>.
- 473 Racheli, L., Racheli, T. (2004) Patterns of Amazonian area relationships based on raw
474 distributions of papilionid butterflies (Lepidoptera: Papilioninae). *Biol. J. Linn. Soc.*
475 doi: 10.1111/j.1095-8312.2004.00363.x.
- 476 Ramezani, J., Rennebeck, L., Closs, G. P., Matthaei, C. D. (2014) Effects of fine sediment
477 addition and removal on stream invertebrates and fish : a reach-scale experiment. doi:
478 10.1111/fwb.12456.
- 479 Ribas, C. C., Aleixo, a., Nogueira, a. C. R., Miyaki, C. Y., Cracraft, J. (2012) A
480 palaeobiogeographic model for biotic diversification within Amazonia over the past
481 three million years. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **279**, 681–689.
- 482 Salles, F. F. (2006) *A ordem Ephemeroptera no Brasil (Insecta): Taxonomia e*
483 *Diversidade*. Universidade Federal de Viçosa.
- 484 Sartori, M., Brittain, J. E. (2015) Order Ephemeroptera. In: *Ecology and General Biology:*
485 *Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates* (eds J. H. Thorp & D. C. Rogers) pp.
486 873–891 Elsevier.
- 487 Shimano, Y., Cabette, H. S. R., Salles, F. F., Juen, L. (2010) Composição e distribuição da
488 fauna de Ephemeroptera (Insecta) em área de transição Cerrado-Amazônia, Brasil.
489 *Iheringia. Série Zool.* **100**, 301–308.
- 490 Shimano, Y., Juen, L., Salles, F. F., Nogueira, D. S., Cabette, H. S. R. (2013)
491 Environmental and spatial processes determining Ephemeroptera (Insecta) structures
492 in tropical streams. *Ann. Limnol. - Int. J. Limnol.* doi: 10.1051/limn/2013036.
493 [online]. Available from: <http://www.limnology-journal.org/10.1051/limn/2013036>.
- 494 Silva, J. M. C., Oren, D. C. (1996) Application of parsimony analysis of endemism in
495 Amazonian biogeography: an example with primates. *Biol. J. Linn. Soc.* doi:
496 10.1006/bijl.1996.0073. [online]. Available from:
497 <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1095-8312.1996.tb01475.x/abstract>.
- 498 Silva, J. M. C., Rylands, A. B., Fonseca, G. A. B. (2005) The fate of Amazonian areas of
499 endemism. *Conserv. Biol.* **19**, 689–694.
- 500 Silveira, M. P. (2004) Aplicação do Biomonitoramento para Avaliação da Qualidade da
501 Água em Rios. *Embrapa Pantanal Série Doc.*
- 502 Silveira, M. P. (2004) *Aplicação do Biomonitoramento para Avaliação da Qualidade da*
503 *Água em Rios*. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna.
- 504 Sioli, H. (1984) Introduction: History of the discovery of the Amazon and of research of
505 Amazonian waters and landscapes. In: *The Amazon: limnology and landscape*
506 *ecology of a mighty tropical river and its basin* (ed H. Sioli) pp. 1–13 Dr. W. Junk
507 Publishers, Dordrecht.
- 508 Smith, T. W., Lundholm, J. T. (2010) Variation partitioning as a tool to distinguish
509 between niche and neutral processes. *Ecography (Cop.)*. **33**, 648–655.

- 461 Snelder, T. H., Biggs, B. J. F. (2002) Multiscale river environment classification for water
462 resources management. *J. Am. Water Resour. Assoc.* **38**, 1225–1239. [online].
463 Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1752-1688.2002.tb04344.x>.
- 464 Souza, H. M. L. (2010) Diversidade beta de Baetidae (Ephemeroptera) em córregos da
465 bacia hidrográfica do rio Pindaíba (MT). In: *Gestão e Educação Ambiental: Água,*
466 *Biodiversidade e Cultura* (eds J. E. Santos & C. Galbiati) pp. 109–123 RiMa,
467 Cuiabá.
- 468 Stoddard, J. L., Larsen, D. P., Hawkins, C. P., Johnson, R. K., Norris, R. H. (2006) Setting
469 expectations for the ecological condition of streams: The concept of reference
470 condition. *Ecol. Appl.* **16**, 1267–1276.
- 471 Strahler, A. N. (1957) *Mtm Quantitative Analysis of Watershed Geomorphology*.
- 472 Thorp, J. H., Covich, A. P. (2010) *Ecology and classification of North American*
473 *freshwater invertebrates*. Academic Press (Elsevier), London, UK.
- 474 Vinson, M. R., Hawkins, C. P. (1998) Biodiversity of stream insects: variation at local,
475 basin, and regional scales. *Annu. Rev. Entomol.* doi: 10.1146/annurev.ento.43.1.271.
- 476 Voelz, N. J., McArthur, J. V. (2000) An exploration of factors influencing lotic insect
477 species richness. *Biodivers. Conserv.* doi: 10.1023/A:1008984802844.
- 478 Wallace, A. R. (1852) On the monkeys of the Amazon. *Proc. Zool. Soc. London*.
- 479 Wesselingh, F. P., Hoorn, C., Kroonenberg, S. B., Antonelli, A., Lundberg, J. G., Vonhof,
480 H. B., Hooghiemstra, H. (2010) On the origin of Amazonian landscapes and
481 biodiversity: a synthesis. In: *Amazonia: Landscape and Species Evolution: A look*
482 *into the past* pp. 419–431 Wiley Blackwell Publishing Ltd.
- 483 Zapala, M. a., Schork, N. J. (2006) Multivariate regression analysis of distance matrices for
484 testing associations between gene expression patterns and related variables. *Proc.*
485 *Natl. Acad. Sci.*
- 486 Zapala, M. a., Schork, N. J. (2012) Statistical properties of multivariate distance matrix
487 regression for high-dimensional data analysis. *Front. Genet.* **3**, 1–10.
- 488 Zar, J. H. (2010) *Biostatistical analysis*. 5th edn. Prentice-Hall, New Jersey.
- 489

461 MATERIAL SUPLEMENTAR

462

463 Material Suplementar I. Espécies e morfoespécies de ninfas de Ephemeroptera (Insecta)
464 amostradas em interflúvios dos rios da Bacia Amazônica.

465

Espécies/morfoespécies	Negro-Trombetas	Tapajós-Xingu	Xingu-Tocantins	Tocantins-Gurupi	Total
Baetidae					
<i>Americabaetis alphus</i> Lugo-Ortiz & McCafferty, 1996	-	39	-	1	40
<i>Aturbina georgei</i> Lugo-Ortiz & McCafferty, 1996	-	1	-	-	1
<i>Aturbina maculata</i> Salles, Boldrini & Shimano, 2011	4	9	1	3	17
<i>Aturbina nigra</i> Salles, Boldrini & Shimano, 2011	1	3	-	-	4
<i>Aturbina</i> sp.	-	1	1	-	2
<i>Callibaetis</i> sp.	-	-	-	1	1
<i>Callibaetoides caaigua</i> Cruz, Salles & Hamada, 2013	5	4	-	1	10
<i>Camelobaetidius janae</i> Dominique & Thomas, 2001	-	1	-	-	1
<i>Cloeodes redactus</i> Waltz & McCafferty, 1987	-	6	-	14	20
<i>Cryptonympha</i> sp.	1	9	-	-	10
<i>Guajirolus rondoni</i> Salles, 2007	-	9	-	-	9
<i>Tomedontus primus</i> Lugo-Ortiz & McCafferty, 1995	3	7	-	-	10
<i>Waltzoyphius roberti</i> Thomas & Peru, 2002	14	65	1	1	81
<i>Zelus</i> sp. 1	75	132	-	29	236
Caenidae					
<i>Brasilocaenis irmleri</i> Puthz, 1975	-	4	3	-	7
<i>Brasilocaenis</i> sp. 1	4	18	1	1	24
<i>Brasilocaenis</i> sp. 4	-	-	2	-	2
<i>Brasilocaenis</i> sp. 5	-	-	-	1	1
<i>Caenis pflugfelderi</i> Malzacher, 1990	21	-	-	-	21
<i>Caenis</i> sp. 1	2	-	-	-	2
Coryphoridae					
<i>Coryphorus aquilus</i> Peters, 1981	-	2	20	2	24
Euthyplociidae					
<i>Campylocia</i> spp.	42	121	75	378	616
Leptohyphidae					
<i>Amanahyphes saguassu</i> Salles & Molineri, 2006	56	58	6	6	126
<i>Traveryphes</i> sp. 1	-	25	-	-	25
<i>Tricorythodes quizeri</i> cf. Molineri, 2002	-	3	-	-	3
<i>Tricorythodes santarita</i> Traver, 1959	-	1	-	-	1
<i>Tricorythodes</i> sp. 1	-	48	-	-	48
<i>Tricorythodes yapekuna</i> Belmont, Salles & Hamada, 2012	1	2	-	-	3
<i>Tricorythodes zunigae</i> aff. Molineri, 2002	-	1	-	-	1
<i>Tricorythopsis acara</i> Belmont, Salles & Hamada, 2011	7	5	-	1	13
<i>Tricorythopsis</i> sp. 1	-	-	1	-	1
Leptophlebiidae					
<i>Askola emmerichi</i> Domínguez, Molineri & Mariano, 2009	2	1	-	-	3
<i>Farrodes</i> spp.	9	226	-	12	247
<i>Fittkaulus</i> sp.	-	7	-	-	7
<i>Hagenulopsis</i> sp. 1	1	26	-	1	28
<i>Hydrosmilodon gilliasae</i> aff. Thomas & Péru, 2004	1	-	-	-	1
<i>Microphlebia surinamensis</i> Savage & Peters, 1983	-	-	1	1	2
<i>Miroculis</i> sp. 1	50	37	-	1	88
<i>Miroculis</i> spp.	694	560	73	708	2035
<i>Paramaka convexa</i> cf. (Spieth, 1943)	-	7	-	-	7
<i>Simothraulopsis</i> sp. n. 2	-	-	-	7	7
<i>Simothraulopsis</i> sp. n. 3	12	2	-	2	16
<i>Thraulodes</i> sp. 2	-	15	-	1	16
<i>Ulmeritoides flavopedes</i> (Spieth, 1943)	-	30	-	22	52
<i>Ulmeritoides nigribullae</i> Salles & Domínguez, 2012	-	4	-	-	4
Polymitarcyidae					
<i>Campsurus</i> sp. 1	-	17	-	-	17

<i>Campsurus</i> sp. 2	1	-	-	-	1
<i>Campsurus</i> sp. 3	5	-	-	-	5
<i>Campsurus</i> sp. 4	-	-	2	12	14
<i>Campsurus</i> sp. 6	-	-	47	-	47
<i>Campsurus</i> sp. 7	-	-	1	12	13
<i>Campsurus</i> sp. 8	-	-	-	1	1
Oligoneuriidae					
<i>Oligoneuria</i> (<i>Oligoneurioides</i>) <i>amazonica</i> (Demoulin, 1955)	-	4	-	-	4
Total	1011	1510	235	1219	3975

2
3
4
5 **Drenagens dos grandes rios amazônicos conectam ou isolam comunidades de insetos**
6 **aquáticos? Um estudo de caso com os efemerópteros**

7
8 *Drainages of main Amazon rivers connect or isolate aquatic insects communities?*
9 *Mayflies case*

10
11 Yulie Shimano¹, Mylena Cardoso², Erlane José Cunha¹, Denis S. Nogueira³ & Leandro
12 Juen⁴

13
14
15 ¹Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Universidade Federal do Pará em convênio
16 com o Museu Paraense Emílio Goeldi, Rua Augusto Correia, nº 1 Bairro Guamá,
17 66.075-110, Belém, PA, Brasil

18 ²Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca, Universidade Federal do Pará
19 - Laboratório de Ecologia e Conservação, Instituto de Ciências Biológicas - UFPA,
20 Rua Augusto Correia, nº 1 Bairro Guamá, 66.075-110, Belém, PA, Brasil

21 ³Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução, Universidade Federal de Goiás,
22 Instituto de Ciências Biológicas (Bloco ICB V), Campus II/UFG, 74001-970,
23 Goiânia, Goiás, Brasil

24 ⁴Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Rua Augusto Correia, nº 1
25 Bairro Guamá, 66.075-110, Belém, PA, Brasil

28 **ABSTRACT**

29

30 **Aim** Our aim was to analyze how mayfly species are distributed into endemism areas of
31 Brazilian Amazon. We expected that endemism areas do not structure mayflies distribution
32 once the largest rivers cannot be geographic barriers for this organism due to their aquatic
33 stage as larvae. Therefore, drainage basin division can be more efficient to determine
34 species distributions than endemism areas.

35 **Location** Brazilian Amazon.

36 **Methods** To test our objective we use data from field and bibliographic source using
37 geographic coordinates of all species records for Brazilian Amazon. All occurrences
38 registered in the web site of Brazilian Ephemeroptera were consulted and geographic
39 coordinates taken to our analysis. To evaluate the distribution of species in endemism and
40 drainage areas we used clusters and ordinations (NMDS) analysis. To test if endemism and
41 drainage areas are influencing species distribution we used a null model.

42 **Results** We found a high number of exclusive species into the areas (endemism and
43 drainages areas), and consequently a low similarity among them. Differences among areas
44 can be explained by changes in landscape along amazon basin formation. Both, endemism
45 and drainage species distribution differed from the expected by de null model, and we
46 believe that dispersions abilities could be very important in the species colonization
47 process and establishment along Amazonia.

48 **Main conclusions** Our results showed that mayflies distributions in Amazonia are affected
49 by multiple factors, as the process of amazon basin formation and dispersions abilities, and
50 not only the environmental variables are responsible for their distributions.

51

52 **Keywords**

53 **Endemism areas, drainage basin, Null model, species distribution, biogeographic**
54 **patterns.**

55 INTRODUÇÃO

56

57 A Floresta Amazônica é conhecida mundialmente por sua alta diversidade de
58 espécies distribuídas em mais de seis milhões de quilômetros quadrados (Sioli, 1984). No
59 entanto, sabe-se que essa não é uma região biogeográfica uniforme, uma vez que as
60 espécies animais e vegetais não são distribuídas homoganeamente ao longo de seu
61 território (Silva, 2005; Silva et al., 2005). Muitas espécies amazônicas são endêmicas de
62 apenas uma dada área e contribuem para a alta biodiversidade regional (Silva et al., 2005),
63 enquanto outras áreas apresentam um alto turnover de espécies.

64 Uma das primeiras ideias sobre a descontinuidade da biota amazônica foi
65 apresentada por Wallace (1854), onde ele observou que muitas espécies de primatas
66 ocorriam apenas em uma ou poucas regiões, além disso, na maioria das vezes os limites
67 das distribuições coincidiam com os grandes rios. Para ele, as grandes populações
68 ancestrais de espécies se fragmentaram em subpopulações durante o processo de formação
69 dos grandes rios quando a Amazônia ainda constituía uma região florestal contínua (Leite
70 & Rogers, 2013). Essa fragmentação das populações teria possibilitado a especiação por
71 vicariância, pois com a formação da atual rede de drenagem amazônica, os grandes rios
72 passaram a atuar como barreiras geográficas para a dispersão e fluxo gênico dessas
73 espécies (Haffer, 2008). Este processo de isolamento possibilitou a divergência de
74 populações e especiação de novas linhagens em cada área isolada resultando na atual
75 biodiversidade, rica e muitas vezes única.

76 Várias pesquisas encontraram padrão similar de variação na composição de
77 espécies (e.g. Hall & Harvey, 2002) e de diferenciação molecular (e.g. Funk et al., 2007;
78 Ribas et al., 2012; Boubli et al., 2015) em lados opostos dos grandes rios. Esses resultados
79 culminaram na divisão da Amazônia em diferentes áreas de endemismo (Wallace, 1852;
80 Silva & Oren, 1996; Silva, 2005) que nem sempre são similares, uma vez que podem variar
81 em quantidade e na forma, de acordo com o táxon estudado (Silva & Oren, 1996; Racheli
82 & Racheli, 2004; Silva et al., 2005; Aleixo & Rossetti, 2007; Ribas et al., 2012; Boubli et
83 al., 2015). Apesar de ser fortemente corroborado para vários grupos terrestres, Haffer
84 (2008) afirma que apenas a foz de rios muito largos representa efetivamente barreira para
85 uma pequena porção da fauna de vertebrados, principalmente espécies que vivem no
86 interior da floresta, porém muitas delas podem ultrapassar as barreiras dos rios nas regiões
87 de cabeceira, principalmente aquelas com grande capacidade de dispersão.

88 No caso dos organismos aquáticos, espera-se que o ambiente aquático tenha sido
89 essencial para manter o fluxo gênico e dispersão entre as duas margens dos rios desde o
90 início da formação da bacia Amazônica. No caso de organismos aquáticos que vivem ao
91 longo dos rios e córregos é possível que ao invés de barreira, os rios atuem como
92 corredores ecológicos de ligação entre áreas centrais dos interflúvios e margens dos
93 grandes rios. Isto porque, existe uma conectividade longitudinal dentro das bacias de
94 drenagem (e.g. Vannote et al., 1980). Porém, pouco se sabe a respeito da biogeografia das
95 comunidades aquáticas ao longo da Amazônia com relação ao efeito dos grandes rios como
96 barreira. Além disso, estudos apontam que outros fatores como o pulso de inundação (Junk
97 et al., 1989) tem um forte efeito na conectividade entre populações isoladas especialmente
98 para grupos melhores estudados como os peixes. Trabalhos de biogeografia de peixes da
99 América do Sul (e.g. Farias & Hrbek, 2008; Wesselingh & Hoorn, 2011) não têm testado a
100 atuação dos rios tampouco definido áreas de endemismo para esses organismos.
101 Considerando invertebrados aquáticos, apenas o trabalho de Juen & De Marco (2012)
102 explorou os fatores biogeográficos como o isolamento por grandes rios para Odonata, e
103 verificaram pouco efeito da distância geográfica e das barreiras dos grandes rios sobre a
104 composição de espécies.

105 Ao avaliar as comunidades de Ephemeroptera, tanto a deriva, nado ou rastejo das
106 ninfas, quanto o voo das imagos, podem ter uma importância relativa na habilidade de
107 dispersão desses organismos (Brittain, 1982). A dispersão larval possibilitaria a conexão
108 entre locais ligados pela mesma drenagem, enquanto que a dispersão pelo adulto
109 possibilitaria a travessia dos grandes rios através do voo. Um trabalho realizado com
110 organismos aquáticos verificou que a distância via drenagem e terrestre gera diferentes
111 padrões de resposta, porém, para os insetos aquáticos analisados (ordem Trichoptera), a
112 distância terrestre foi mais importante do que para os peixes, que só dispersam via
113 drenagem e, que tanto a distância terrestre quanto via drenagem foram importantes para a
114 comunidade (Landeiro et al., 2011). Já no caso da drenagem amazônica, os grandes rios
115 poderiam ser mais um fator influenciando distâncias terrestres, podendo ou não atrapalhar
116 a dispersão via voo.

117 Com base no exposto acima, nosso objetivo foi verificar como se distribuem as
118 espécies de insetos aquáticos da ordem Ephemeroptera nas áreas de endemismo da
119 Amazônia brasileira e analisar se a distribuição desses organismos pode ser explicada pela
120 Hipótese de Rios. Nossa hipótese é que, semelhante à Odonata (Juen & De Marco, 2012),

121 os grandes rios Amazônicos não atuarão como barreira para as espécies de Ephemeroptera
122 uma vez que podem dispersar tanto por água quanto por terra. Além disso, nós acreditamos
123 que as conexões das bacias de drenagem estariam atuando sobre a dispersão e similaridade
124 desses organismos ao longo da Amazônia por atuarem como corredores ecológicos,
125 facilitando a dispersão entre áreas.

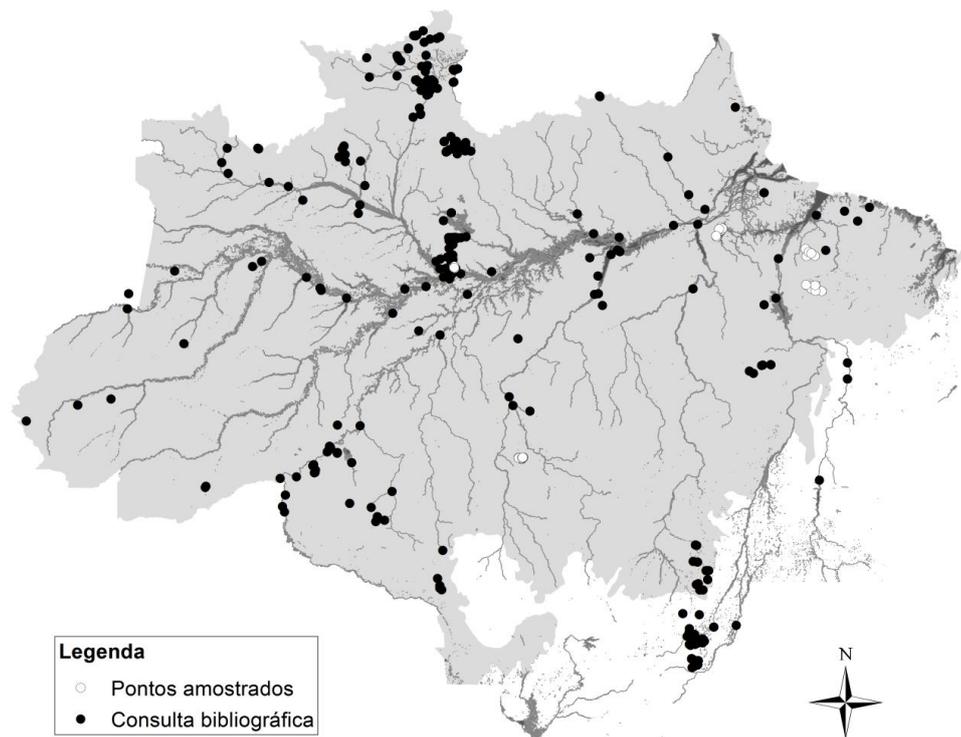
126

127 **MÉTODOS**

128

129 Para verificar como se dá a distribuição das espécies de Ephemeroptera nas áreas de
130 endemismo da Amazônia, nós utilizamos duas fontes de dados: (i) uma lista de espécies de
131 Ephemeroptera do Brasil (www.ephemeroptera.com.br), que é uma base de dados que
132 reúne todas as publicações com a ordem no Brasil, a qual nós consultamos todos os artigos
133 indicados no sítio e fizemos um levantamento das coordenadas da localização onde todas
134 as espécies registradas para a Amazônia brasileira foram coletadas; e (ii) as espécies
135 registradas em nosso capítulo anterior (Capítulo 5) (Fig. 1).

136 Espécies sem localizações específicas quanto a qual lado dos grandes rios foram
137 amostradas (ou mesmo a ausência de informação quanto à ocorrência da espécie) e
138 espécies em que as localizações descritas não foram encontradas em pesquisas na internet
139 (e.g. nomes de rios ou córregos desconhecidos) não foram consideradas para as análises.
140 Quando os artigos citavam apenas o município ou alguma localidade, as espécies foram
141 mantidas, utilizando como coordenada a sede do município. Das 320 espécies registradas
142 para o Brasil (até fevereiro de 2015), 143 espécies registradas para áreas da Amazônia
143 foram inseridas em nosso banco de registros.



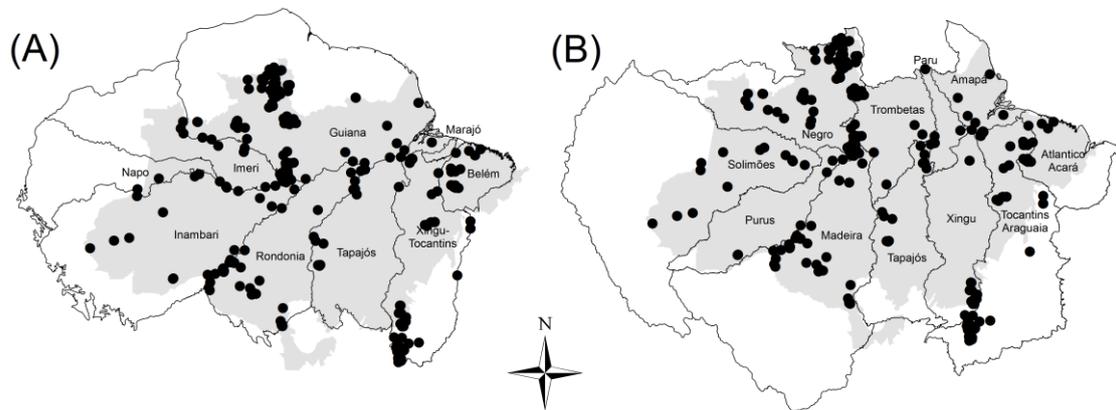
144

145 **Figura 1** Mapa demonstrando a distribuição das 143 espécies de Ephemeroptera para a
 146 Amazônia brasileira e os respectivos locais de registros de ocorrência a partir de dados
 147 coletados da bibliografia (em conjunto com os dados de distribuição apresentados no
 148 capítulo 5).

149

150 Após o levantamento dos registros de localização das espécies, as informações
 151 quanto à localização dentro da área de endemismo (Fig. 2A) e quanto à área da bacia de
 152 drenagem (Fig. 2B) foram extraídas com o auxílio do software Quantum GIS 2.6 (QGIS -
 153 <http://www.qgis.org>). As áreas de endemismo consideradas foram propostas por Silva et al.
 154 (2005), sendo que os registros localizados na Ilha do Marajó (Pará) consideramos como
 155 uma área à parte, visto que não estão inseridos em nenhuma área de endemismo. Além
 156 disso, expandimos a área de endemismo Xingu, incluindo as áreas de transição do bioma
 157 dentro das bacias dos Rios Xingu e Tocantins/Araguaia. As bacias de drenagem
 158 consideradas foram as propostas pela Agência Nacional de Águas (ANA -
 159 www.ana.gov.br). Consideramos três regiões hidrográficas onde está inserido o bioma
 160 amazônico: (i) Região Hidrográfica Amazônica, constituída de nove grandes bacias
 161 responsáveis pela drenagem do rio Amazonas e afluentes; (ii) Região Hidrográfica do
 162 Tocantins-Araguaia, composta pelas bacias dos Rios Tocantins e Araguaia e (iii) Região
 163 Hidrográfica Atlântico Nordeste Ocidental, composta por pequenas bacias desconectadas
 164 da drenagem do Rio Amazonas, que escoam diretamente para o Oceano Atlântico, mas tem

165 metade de sua área recoberta pelo bioma amazônico. As medidas das áreas de endemismo
166 e das bacias de drenagem foram realizadas através do software QGIS 2.6.
167



168 **Figura 2** Mapa demonstrando a divisão da Amazônia brasileira (em cinza) quanto (A) as
169 áreas de endemismo propostos para outros grupos animais (e.g. aves, primatas, plantas –
170 ver Silva et al. 2005) e quanto (B) às bacias de drenagem de acordo com a classificação da
171 Agência Nacional de Águas.
172

173

174 **Análises estatísticas**

175

176 Para verificar se o número de espécies exclusivas de cada área de endemismo é
177 correlacionada com o tamanho de suas respectivas áreas foi utilizado uma correlação de
178 Pearson (*rho*). O mesmo foi realizado para as bacias de drenagens.

179 Analisamos a incidência das espécies de Ephemeroptera na Amazônia brasileira de
180 acordo com as áreas de endemismo e com as bacias de drenagem utilizando um índice de
181 compartilhamento. Para isso nós utilizamos o Índice de Sorensen (SI), conforme utilizado
182 em Juen & De Marco (2012). A fórmula de Sorensen utilizada foi $SI = 2A / (\alpha_1 + \alpha_2)$, onde A
183 é o número de espécies comuns entre as duas áreas (áreas de endemismo ou bacia de
184 drenagem), α_1 é o número de espécies total da primeira área e α_2 o número de espécies total
185 da segunda área. O grau de similaridade entre os tratamentos foram apresentados através
186 de um cluster hierárquico, no qual utilizamos como método de ligação o UPGMA
187 (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*). O coeficiente de correlação
188 coofenético foi usado para avaliar se o dendrograma formado representa bem a matriz de
189 distância, assumindo uma boa representação correlações acima de 0,8. Também
190 analisamos a configuração ordinal da similaridade de compartilhamento através de uma
191 análise de Escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) (Legendre & Legendre,

192 1998) usando a matriz de distância gerada acima. Como medida de representação da matriz
193 de distância pela ordenação foi usado o Stress.

194 Para testar se a distribuição das espécies ao longo da Amazônia brasileira está de
195 acordo com as divisões por área de endemismo diferindo do esperado ao acaso por
196 distribuições nulas foi utilizado a função “oecosimu” do pacote vegan no programa R
197 (Oksanen et al., 2013). Para isso montamos uma matriz de presença e ausência com
198 espécies nas colunas e as áreas de endemismo nas linhas. Foram simuladas 10000 matrizes
199 nulas, as quais tinham como restrição manter a frequência de ocorrência das espécies
200 (Jonsson, 2001). Então foi calculado índice de sorensen para os dados observados e
201 também para todas as matrizes simuladas, e por fim, foi calculada a chance de se obter a
202 matriz observada por acaso, dividindo o valor observado pelo desvio dos valores
203 aleatorizados.

204 Para testar a hipótese de que as bacias de drenagem são preditoras importantes para
205 a distribuição das espécies realizamos o mesmo procedimento citado acima, mas dessa vez
206 usando como fator para a separação as bacias geográficas.

207 As análises foram realizadas no programa R (R Development Core Team, 2015)
208 através do pacote vegan e picante.

209

210 **RESULTADOS**

211

212 Avaliamos a distribuição de 143 espécies de Ephemeroptera presentes na Amazônia
213 brasileira, com um total de 1.356 registros, representando 56,64% da diversidade brasileira
214 (Tabela S1 e S2).

215

216 **Áreas de endemismo**

217

218 Guiana e Xingu são as áreas de endemismo que possuem o maior número de
219 registros de ocorrência de espécies de Ephemeroptera, no qual, em conjunto somam mais
220 de 80% dos registros totais (Tabela 1). Napo e Marajó, por sua vez, obtiveram menos de
221 1% do total dos registros.

222 Guiana, Xingu e Tapajós apresentaram o maior número de espécies registradas (80,
223 60 e 34, respectivamente), por outro lado, as de menor riqueza foram Imeri, Marajó e Napo
224 (17, 7 e três, respectivamente) (Tabela 1). Das 143 espécies registradas, 81 foram

225 exclusivas de apenas uma área de endemismo (Tabela 1). Dentre as áreas de endemismo,
 226 Guiana e Xingu em conjunto, tiveram a maior porcentagem de espécies exclusivas, com
 227 mais de 60% do total de espécies exclusivas (Guiana=29 espécies e Xingu=20 espécies).
 228 Napo e Marajó não tiveram nenhuma espécie exclusiva. A quantidade de espécies
 229 exclusivas ao longo das áreas de endemismo foi correlacionada positivamente com o
 230 tamanho da área, indicando que há o aumento de espécies exclusivas com o aumento da
 231 área ($\rho=0,727$; $p=0,026$), mas claro que não podemos descartar o efeito do esforço
 232 amostral, uma vez que às áreas maiores podem ser as justamente as mais estudadas.

233

234 **Tabela 1.** Total de espécies de Ephemeroptera registradas para cada área de endemismo da
 235 região Amazônica, com suas respectivas quantidades e porcentagens de espécies
 236 exclusivas.

237

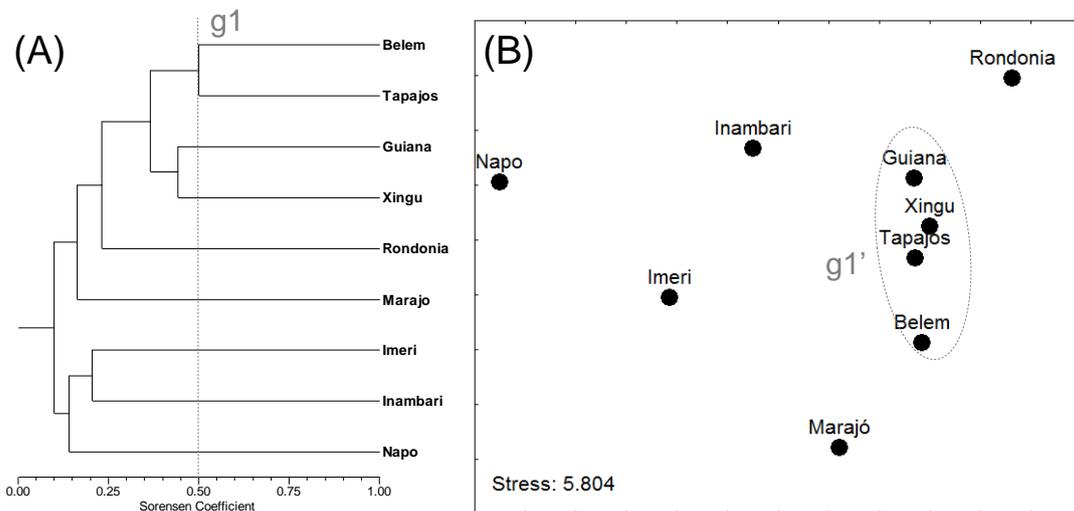
Áreas de endemismo	Total de registros	Total de espécies	Total de espécies exclusivas	% espécies exclusivas
Belém	34	18	2	1,40%
Guiana	568	80	29	20,28%
Imeri	23	17	7	4,90%
Inambari	30	22	9	6,29%
Napo	3	3	0	0,00%
Marajó	7	7	0	0,00%
Rondônia	53	28	7	4,90%
Tapajos	81	34	7	4,90%
Xingu	521	60	20	13,99%
Total	1.320	143	81	56,64%

238

239 Quando analisamos os agrupamentos estabelecidos para as áreas de endemismo
 240 considerando um corte de 50% de similaridade, apenas um agrupamento principal (g1) foi
 241 formando abrangendo as áreas de endemismo Belém e Tapajós (Fig. 3A). A figura gerada
 242 representou bem a matriz de distância, uma vez que o coeficiente de correlação coofenética
 243 foi alto (CCC=0,828). Já a NMDS mostrou que outras áreas de endemismo tiveram a
 244 composição de espécies mais similares entre si, na qual as áreas de endemismo Guiana,
 245 Tapajós, Xingu e Belém (g1' - Fig. 3B) se mostraram mais similar entre si, todas
 246 localizadas à leste da Amazônia.

247 Ao contrário do que esperávamos, os resultados do modelo nulo de distribuição
 248 mostraram que a distribuição das espécies de efemerópteros nas áreas de endemismo foi
 249 mais dissimilar do que o esperado pelo acaso (R^2 observado=0,821, R^2 estimado 0,782,

250 $p < 0,001$ e $z = 23,072$). Portanto, os grandes rios amazônicos representam barreiras
 251 geográficas para a distribuição das espécies e afetam o padrão de endemismo registrado na
 252 Amazônia.
 253



254
 255 **Figura 3** Análise de agrupamento (método de ligação UPGMA) das áreas de endemismo
 256 de acordo com a presença e ausência das espécies de Ephemeroptera da Amazônia
 257 brasileira (Índice de Sorensen).
 258

259
 260 **Bacias de drenagem**

261
 262 A drenagem do rio Negro, Tocantins e Xingu apresentaram os maiores números de
 263 ocorrências de espécies (493, 334 e 204, respectivamente), enquanto que as drenagens do
 264 Purus, Amapá e Parú tiveram menor número de registros (12, 12 e nove, respectivamente)
 265 (Tabela 2). Quanto ao número de espécies registradas, a drenagem do rio Negro, Tocantins
 266 e Madeira foram os mais ricos (79, 57 e 39, respectivamente) e os menos diversos foram
 267 Amapá, Purus e Parú (10, nove e oito espécies, respectivamente) (Tabela 2).

268 Acompanhando a maior riqueza de espécies, as drenagens do rio Negro e Tocantins
 269 possuem uma maior quantidade de espécies exclusivas, com exceção da terceira drenagem
 270 mais rica, Xingu, que obteve apenas seis espécies exclusivas. Ao invés disso, a drenagem
 271 do Solimões foi o terceiro com maior número de espécies exclusivas (oito) (Tabela 2). A
 272 drenagem do rio Paru teve apenas uma espécie exclusiva enquanto que o rio Purus não teve
 273 nenhuma. Diferentemente do que ocorreu nas áreas de endemismo, a quantidade de
 274 espécies exclusivas ao longo das bacias de drenagem não apresentaram correlação com o

275 tamanho da área de cada bacia ($\rho=0,597$; $p=0,052$). Tal resultado mostra que a
 276 ocorrência das espécies não apresenta ruído em relação ao tamanho da bacia, ou até
 277 mesmo, porque elas possuem áreas menores do que as das áreas de endemismo as amostras
 278 (dados disponíveis) se tornam mais homoganeamente distribuídos e portanto, afetando
 279 menos a análises.

280

281 **Tabela 2.** Total de espécies de Ephemeroptera registradas para cada área de endemismo e
 282 para cada bacia de drenagem da região Amazônica, com suas respectivas quantidades e
 283 porcentagens de espécies exclusivas.

Bacia de drenagem	Total de registros	Total de espécies	Total de espécies exclusivas	% espécies exclusivas
Amapá	12	10	2	1,40%
Atlântico	21	11	2	1,40%
Madeira	76	39	6	4,20%
Parú	9	8	1	0,70%
Purus	12	9	0	0,00%
Negro	493	79	28	19,58%
Solimões	21	17	8	5,59%
Tapajós	75	30	5	3,50%
Tocantins	334	57	14	9,79%
Trombetas	63	27	3	2,10%
Xingu	204	33	6	4,20%
Total	1.320	143	75	52,45%

284

285

286 Ao verificar os agrupamentos com relação às bacias de drenagem com um corte de
 287 50% de similaridade, observamos dois grupos: o primeiro (g1) formado pela bacia do
 288 Madeira e Negro, ambos localizados no centro na Amazônia o segundo agrupamento (g2)
 289 formado pela drenagem do Tocantins e Xingu, localizados no centro da calha sul da
 290 Amazônia (Fig. 4A). A árvore gerada representa bem a matriz de distância original
 291 ($CCC=0,895$). Já a ordenação do NMDS gerou agrupamentos um pouco diferentes, com o
 292 primeiro grupo (g1') também composto por Madeira e Negro, porém com a presença do
 293 Trombetas e o segundo grupo (g2') com Tocantins e Xingu acrescido do Tapajós (Fig. 4B).

294

295

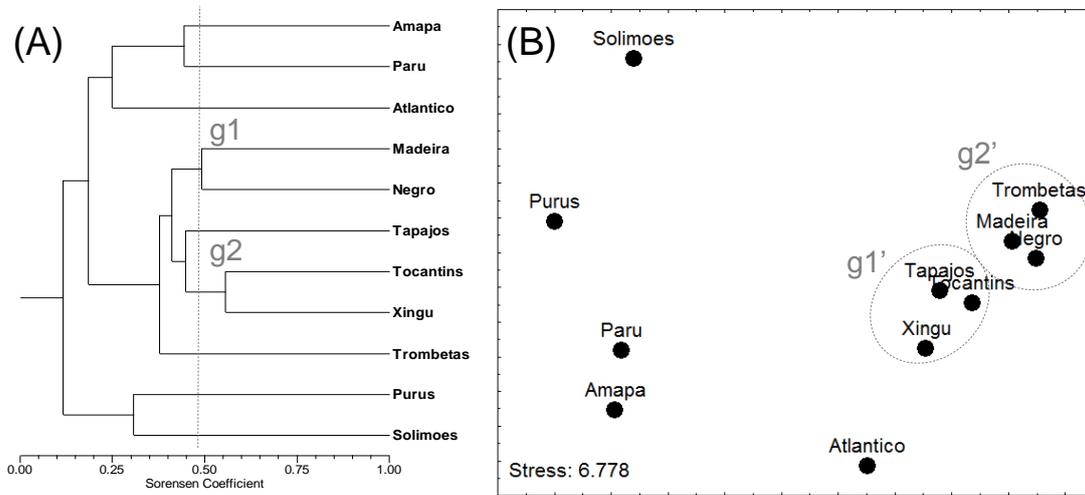
296

297

A distribuição das espécies para as bacias de drenagem também foi diferente do
 esperado pelo modelo nulo (R^2 observado=0,763, R^2 estimado=0,732, $p<0,001$ e $z=$
 18,095) indicando que as espécies foram distribuídas de forma dissimilar do que o
 esperado ao acaso. Esse resultado corrobora nossa hipótese de que a conexão aquática

298 entre bacias de drenagem também contribuíram para o padrão de distribuição de espécies
299 de Ephemeroptera para a Amazônia.

300



301

302

303 **Figura 4** Análise de agrupamento (método de ligação UPGMA) das bacias de drenagem
304 de acordo com a presença e ausência das espécies de Ephemeroptera da Amazônia
305 brasileira (Índice de Sorensen).

306

307

DISCUSSÃO

308

309

310

311

312

313

314

315

316

317

318

319

320

321

322

Apesar de várias hipóteses alternativas à Hipótese de Rios terem sido propostos para explicar os processos de diversificação de espécies na Amazônia, quase todas elas focam na especiação em terra (Farias & Hrbek, 2008), o que dificulta o entendimento dos padrões de distribuição encontrados para os organismos aquáticos. O endemismo para as espécies de Ephemeroptera é resultado de seus requisitos ecológicos e da história evolutiva da linhagem do grupo em questão (Sartori & Brittain, 2015). Em relação aos requisitos ecológicos, sabe-se que as variáveis ambientais exercem grande efeito sobre a distribuição desses organismos (ver Capítulo 5), e também há indícios de que a variação ambiental espacialmente estruturada e a distância geográfica também atuam sobre as comunidades (Shimano et al., 2013; Costa et al., 2014). Além desses efeitos já conhecidos do ambiente e espaço, na região amazônica, muitos outros fatores podem atuar selecionando as espécies, como por exemplo, os fatores biogeográficos.

Nós observamos uma baixa similaridade entre as áreas de endemismos nas análises de agrupamento onde o corte em 50% de similaridade evidenciou poucos grupos. A baixa

323 similaridade entre áreas pode ser explicada por fatores históricos que já são bem descritos
324 pela literatura (e.g. Rossetti et al., 2005; Aleixo & Rossetti, 2007), como por exemplo, que
325 as diferentes áreas da Amazônia passaram por taxas distintas de mudança na paisagem,
326 onde a Amazônia ocidental foi a área mais dinâmica. Mudanças distintas de sedimentação,
327 mudanças climáticas, tectonismo, entre outras variações entre as áreas analisadas podem
328 ter selecionado espécies de formas distintas, ocasionando diferenças observadas entre
329 áreas. Além disso, há indícios de que incursões marinhas do Mioceno foram responsáveis
330 pelo surgimento dos clados de peixes derivados dos clados marinhos, e que o sistema
331 Pebas foi uma interface de transição (Farias & Hrbek, 2008). No caso dos insetos
332 aquáticos, as incursões marinhas, pelo contrário, podem ter sido responsáveis por extinguir
333 os táxons existentes, já que os invertebrados aquáticos não obtiveram sucesso em colonizar
334 a água salgada (Hury et al., 2008).

335 Já o agrupamento encontrado pela ordenação das áreas de endemismo assemelha-se
336 com o agrupamento encontrado através de análises de distribuição e endemismo realizado
337 para os insetos aquáticos da ordem Odonata, onde Belém, Guiana e Tapajós também se
338 apresentaram agrupados, com exceção apenas de Inambari que foi fortemente agrupado
339 com a área de endemismo Guiana (Juen & De Marco, 2012), mas que para Ephemeroptera
340 não foi similar. Por outro lado, o padrão encontrado para efemerópteros foi totalmente
341 dissimilar com o encontrado para os insetos terrestres da ordem Lepidoptera, que foram
342 agrupados em dois grupos Imeri, Inambari e Napo e Rondônia, Pará e Belém (Hall &
343 Harvey, 2002). Como também são organismos aquáticos é possível que Ephemeroptera e
344 Odonata sejam estruturados pela paisagem de forma mais similar do que quando
345 comparado com insetos terrestres já que os ecossistemas aquáticos são totalmente
346 dependentes da paisagem, pois toda água das chuvas drenam para esses ecossistemas
347 (Margalef, 1983). Já as comunidades terrestres podem viver em manchas de hábitat que
348 sejam favoráveis aos seus requisitos ecológicos.

349 Os agrupamentos formados pelas bacias de drenagem pelo cluster também foi
350 pouco evidenciado, enquanto que a ordenação se mostrou mais robusta. Os resultados
351 parecem mostrar que ocorre uma maior similaridade entre as bacias mais próximas, onde
352 encontramos um agrupamento das bacias centrais da Amazônia (Negro, Tocantins e
353 Madeira), e um agrupamento à leste (Tapajós, Xingu e Tocantins) ao contrário das áreas de
354 endemismos que mostraram apenas um grupo das áreas do leste da Amazônia. Essas
355 diferenças, por sua vez, também podem estar ligadas às diferenças no processo de

356 formação da Amazônia, sendo que bacias mais próximas tem maior probabilidade de
357 compartilhar processos de formação.

358 Por outro lado, atualmente, quase 50% dos estudos com a ordem Ephemeroptera no
359 Brasil tem como objetivo descrever espécies, enquanto que uma porcentagem menor tem
360 contribuído para estudos de distribuição (30%) (Capítulo 1). Devido à predominância de
361 estudos taxonômicos, nós verificamos que na área estudada houve muitas espécies de
362 Ephemeroptera com baixo número registros, e conseqüentemente alto de espécies
363 consideradas exclusivas. Isso também pode ter sido um fator crucial para baixa
364 similaridade de espécies entre pontos. Acreditamos que conforme ocorrer o aumento no
365 número de estudos com a ordem será possível encontrar a ocorrência de muitas espécies
366 consideradas exclusivas para outras áreas, principalmente aquelas com um único registro, e
367 com isso o grau de exclusividade provavelmente irá diminuir.

368 Podemos considerar que a capacidade de dispersão é um fator crucial na
369 distribuição atual desses organismos na Amazônia, uma vez que todos os processos
370 sugeridos de formação da Amazônia, até o momento, direcionam à uma forte estruturação
371 das comunidades (e.g. aves – Ribas et al., 2012; primatas – Alfaro et al., 2015; sapos –
372 Funk et al., 2007) pelas barreiras geográficas (e.g. rios largos – Hipótese de Rios; florestas
373 abertas e savanas – Hipótese de Refúgios; rios largos e florestas abertas em áreas de
374 nascentes – Hipótese de Rios-Refúgio; florestas ecologicamente impróprias – Hipótese de
375 Vicariância por Distúrbio; mares continentais- Modelo de Lagos; ecótonos ambientais –
376 Hipótese de Gradiente; ver síntese em Haffer, 2008).

377 A atuação dos rios como conectores e como barreiras sobre a distribuição das
378 espécies de Ephemeroptera pode ser resultado das diferenças biológicas e capacidades de
379 dispersão de cada espécie, porém, pouco se sabe sobre a capacidade de dispersão das
380 espécies de Ephemeroptera da Amazônia, uma vez que os trabalhos com dispersão de
381 Ephemeroptera foram realizados majoritariamente com espécies que não ocorrem no Brasil
382 (Hughes et al., 2003; Hughes & Peck, 2008; Young et al., 2013). Entretanto, há um
383 aumento no número de trabalhos com dispersão e colonização que comprovam que
384 algumas espécies podem dispersar por até 700 km (Sartori & Brittain, 2015). Por outro
385 lado, estudos realizados dentro e entre cabeceiras, indicam que até mesmo obstáculos
386 criados pelo homem, como represas e pontes, podem ter efeito na dispersão do fluxo
387 gênico entre indivíduos da mesma espécie, afetando a diversidade genética das populações
388 de Ephemeroptera (Malnas et al., 2011).

389 A dispersão via deriva também é bem suportada para as ninfas de Ephemeroptera
390 (Brittain, 1982; Drotz et al., 2012), na qual, os efemerópteros geralmente compõe uma
391 parcela significativa do total de invertebrados à deriva (e.g. Lobón-Cerviá et al., 2012;
392 Barbero et al., 2013), e por sua propensão à deriva estão frequentemente entre os primeiros
393 macroinvertebrados à colonizar habitats virgens (Sartori & Brittain, 2015). Ovos e ninfas
394 de efemerópteros derivam rio abaixo, enquanto que os adultos voam rio à cima e
395 compensam a deriva do fluxo gênico rio à baixo (Drotz et al., 2012). Devido aos dois
396 hábitos de vida há uma dicotomia evolutiva com as pressões de seleção atuando nos dois
397 ambientes independentemente (Wilbur, 1980). No entanto no Bioma Amazônico, tanto os
398 rios como as bacias de drenagem se mostram importantes afetando a composição da
399 comunidade. Sendo assim, são vários os fatores que poderiam atuar sobre a distribuição
400 das espécies de efemerópteros nos ecossistemas aquáticos, como por exemplo volume da
401 água, velocidade do fluxo, química (Vinson & Hawkins, 1998), e nos ecossistemas
402 terrestres, como heterogeneidade da paisagem, temperatura (Frimpong et al., 2005; Heino,
403 2009; Macedo et al., 2014), umidade entre outros.

404 A presença de águas claras versus águas carregadas de sedimento, eventos
405 episódicos de aumento na salinidade, variação sazonal dos lençóis freáticos, e a contínua
406 separação e unificação dos sistemas de drenagem menores em escalas de tempo e espaço
407 diferente dentro da vasta área da Amazônia devem ter influenciado o desenvolvimento de
408 sua biota aquática (Wesselingh & Hoorn, 2011). Como os rios amazônicos diferem em sua
409 história, volume, velocidade de fluxo, química e outros fatores, essas diferenças podem
410 afetar significativamente as distribuições das espécies e ainda, podem constituir uma
411 barreira física para a dispersão das espécies (Sioli, 1984; Wiens, 2002; Boubli et al., 2015),
412 ou mesmo atuar como corredores ecológicos ocasionando a conectividade longitudinal
413 (Branco et al., 2012). Além disso, as bacias de drenagem são responsáveis por fornecer um
414 significativo pool de espécies para a biota local dos córregos, os organismos dos córregos
415 geralmente mostram alto grau de dispersão entre locais através do voo, nado ou deriva, e a
416 estrutura da comunidade mostra relações previsíveis com as condições ambientais locais
417 (Heino & Mykrä, 2008).

418 As áreas de endemismo são regiões geográficas com a distribuição de dois ou mais
419 táxons monofiléticos exibindo congruência filogenética e espacial, que possuem seus
420 respectivos grupos próximos acontecendo em outras regiões definidas do mesmo modo
421 (Carvalho, 2010). Em virtude do conhecimento limitado da distribuição das espécies de

422 Ephemeroptera em muitas áreas da Amazônia, ainda não podemos de fato apontar se as
423 áreas de endemismo são congruentes com os outros grupos ou indicar a formação de áreas
424 novas, uma vez que os estudos filogenéticos ainda são pouco realizados para esses
425 organismos (ver Capítulo 1; Dijkstra et al., 2014). Nossos resultados baseados em
426 ocorrência de espécies no presente nos dá apenas um esboço dos verdadeiros processos
427 biogeográficos que levaram aos padrões de distribuição atual de Ephemeroptera. Ainda é
428 necessária a inserção de ferramentas e análises moleculares como, por exemplo,
429 filogeografia e relógios moleculares que possibilitarão a determinação do período de
430 formação das espécies e com isso relacionar quais os fatores geológicos foram importantes
431 para a formação dos padrões de distribuição atual.

432 Nossos resultados mostram que a distribuição das espécies de Ephemeroptera na
433 Amazônia é muito mais complexa do que se imagina. Apesar de acreditarmos que o
434 incremento de registros podem melhorar a detecção de padrões de distribuição, foi possível
435 verificar mais uma vez que há inúmeros fatores ambientais e biológicos que atuam sobre a
436 distribuição desses organismos em ampla escala e que portanto, fatores biogeográficos
437 também são importantes para os organismos aquáticos. Ao contrário do que esperávamos
438 os grandes rios amazônicos atuam na estruturação das comunidades de Ephemeroptera.
439 Porém, a conectividade entre locais pela drenagem dos rios também foi um preditor para
440 esses organismos. Esse resultado pode ter relação com o surgimento da drenagem da bacia
441 amazônica e com os demais eventos evolutivos que podem ter influenciado a dispersão e
442 colonização dos Ephemeroptera.

443

444 **AGRADECIMENTOS**

445

446 Agradecemos a todos os integrados do Laboratório de Ecologia e Conservação (LabECO)
447 da Universidade do Estado do Pará pela ajuda em campo. Ao Dr. Marcos Pérsio Dantas
448 Santos, por sugestões durante a elaboração do artigo. Ao Conselho Nacional de Pesquisa
449 (CNPq) pelo financiamento dos processos 481015/2011-6 - Universal 14/2011 e
450 475611/2012-8 e pela bolsa produtividade de LJ (processo: 303252/2013-8). Ao Programa
451 de Pesquisa em Biodiversidade da Amazônia Oriental (PPBio) e à Fundação Amazônia
452 Paraense de Amparo à Pesquisa (FAPESPA) (ICAAF 03/2011) pelo financiamento.

453

454

455 **REFERÊNCIAS**

456

- 457 Aleixo A. & Rossetti D. de F. (2007) Avian gene trees, landscape evolution, and geology:
 458 Towards a modern synthesis of Amazonian historical biogeography? *Journal of*
 459 *Ornithology*, **148**, 443–453.
- 460 Alfaro J.W.L., Boubli J.P., Paimé F.P., Ribas C.C., Silva M.N.F. da, Messias M.R., Röheg
 461 F., Mercês M.P., Júnior J.S.S., Silva C.R., Pinho G.M., Koshkarian G., Nguyenk
 462 M.T.T., Harada M.L., Rabelo R.M., Queiroz H.L., Alfaro M.E., & Farias I.P.
 463 (2015) Biogeography of squirrel monkeys (genus *Saimiri*): south-central Amazon
 464 origin and rapid pan-Amazonian diversification of a lowland primate. *Molecular*
 465 *Phylogenetics and Evolution*, **82**, 436–454.
- 466 Barbero M., Oberto A.M., & Gualdoni M.C. (2013) Spatial and temporal patterns of
 467 macroinvertebrates in drift and on substrate of a mountain stream (Cordoba, Central
 468 Argentina). *Acta Limnologica Brasiliensia*, **25**, 375–386.
- 469 Boubli J.P., Ribas C., Lynch Alfaro J.W., Alfaro M.E., da Silva M.N.F., Pinho G.M., &
 470 Farias I.P. (2015) Spatial and temporal patterns of diversification on the Amazon: A
 471 test of the riverine hypothesis for all diurnal primates of Rio Negro and Rio Branco in
 472 Brazil. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **82**, 400–412.
- 473 Branco P., Segurado P., Santos J.M., Pinheiro P., & Ferreira M.T. (2012) Does
 474 longitudinal connectivity loss affect the distribution of freshwater fish? *Ecological*
 475 *Engineering*, **48**, 70–78.
- 476 Brittain J.E. (1982) Biology of Mayflies. *Annual Review of Entomology*, 119–147.
- 477 Carvalho C.J.B. (2010) Áreas de Endemismo. *Biogeografia da América do Sul: Padrões e*
 478 *processos* (ed. by C.J.B. Carvalho and E.A.B. Almeida), pp. 41–51. Roca, São Paulo.
- 479 Costa L.D.S.M., Branco C.C.Z., & Bispo P.D.C. (2014) O Papel dos Fatores Ambientais e
 480 Espaciais Sobre a Fauna de Ephemeroptera (Insecta) em Riachos de Mata Atlântica.
 481 *EntomoBrasilis*, **7**, 86–92.
- 482 Dijkstra K.-D.B., Monaghan M.T., & Pauls S.U. (2014) Freshwater biodiversity and
 483 aquatic insect diversification. *Annual Review of Entomology*, **59**, 143–163.
- 484 Drotz M.K., Savolainen E., Saura A., & Ståhls G. (2012) The genetic population structure
 485 of lotic and lentic mayflies of the *Baetis vernus* group (Ephemeroptera: Baetidae). *The*
 486 *Canadian Entomologist*, **144**, 679–690.
- 487 Farias I.P. & Hrbek T. (2008) Patterns of diversification in the discus fishes (*Symphysodon*
 488 spp. Cichlidae) of the Amazon basin. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **49**, 32–
 489 43.
- 490 Frimpong E. a., Sutton T.M., Engel B. a., & Simon T.P. (2005) Spatial-scale effects on
 491 relative importance of physical habitat predictors of stream health. *Environmental*
 492 *Management*, **36**, 899–917.
- 493 Funk W.C., Caldwell J.P., Peden C.E., Padiá J.M., De la Riva I., & Cannatella D.C.
 494 (2007) Tests of biogeographic hypotheses for diversification in the Amazonian forest
 495 frog, *Physalaemus petersi*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **44**, 825–837.
- 496 Haffer J. (2008) Hypotheses to explain the origin of species in Amazonia. *Brazilian*
 497 *journal of biology = Revista brasleira de biologia*, **68**, 917–947.
- 498 Hall J.P.W. & Harvey D.J. (2002) The phylogeography of Amazonia revisited: new
 499 evidence from riordinid butterflies. *Evolution; international journal of organic*
 500 *evolution*, **56**, 1489–1497.

- 501 Heino J. (2009) Biodiversity of Aquatic Insects: Spatial Gradients and Environmental
502 Correlates of Assemblage-Level Measures at Large Scales. *Freshwater Reviews*, **2**, 1–
503 29.
- 504 Heino J. & Mykrä H. (2008) Control of stream insect assemblages: Roles of spatial
505 configuration and local environmental factors. *Ecological Entomology*, **33**, 614–622.
- 506 Hughes J.M., Hillyer M.I.A., & Bunn S.E. (2003) Small-scale patterns of genetic variation
507 in the mayfly *Bungona narilla* (Ephemeroptera : Baetidae) in rainforest streams ,
508 south-east Queensland. 709–717.
- 509 Hughes R.M., Kaufmann P.R., Herlihy A.T., Kincaid T.M., Reynolds L., & Larsen D.P.
510 (1998) A process for developing and evaluating indices of fish assemblage integrity.
511 **1631**, 1618–1631.
- 512 Hughes R.M. & Peck D. V (2008) Acquiring data for large aquatic resource surveys : the
513 art of compromise among science , logistics , and reality. **27**, 837–859.
- 514 Hurnyn A.D., Wallace J.B., & Anderson N.H. (2008) Habitat, life history, secondary
515 production and behavioral adaptations of aquatic insects. *An introduction to the*
516 *aquatic insects of North America* (ed. by R.W. Merritt, K.W. Cummins, and M.B.
517 Berg), pp. 55–104. Kendall Hunt Publishing, Dubuque.
- 518 Jonsson B.G. (2001) A null model for randomization tests of nestedness in species
519 assemblages. *Oecologia*, **127**, 309–313.
- 520 Juen L. & De Marco P. (2012) Dragonfly endemism in the Brazilian Amazon: Competing
521 hypotheses for biogeographical patterns. *Biodiversity and Conservation*, **21**, 3507–
522 3521.
- 523 Junk W.J., Bayley P.B., & Sparks R.E. (1989) The Flood Pulse Concept in River-
524 Floodplain Systems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **106**, 110–
525 127.
- 526 Landeiro V.L., Magnusson W.E., Melo A.S., Espírito-Santo H.M. V., & Bini L.M. (2011)
527 Spatial eigenfunction analyses in stream networks: do watercourse and overland
528 distances produce different results? *Freshwater Biology*, **56**, 1184–1192.
- 529 Legendre P. & Legendre L. (1998) *Numerical Ecology*. Elsevier Science B.V.,
530 Amsterdam.
- 531 Leite R.N. & Rogers D.S. (2013) Revisiting Amazonian phylogeography: Insights into
532 diversification hypotheses and novel perspectives. *Organisms Diversity and*
533 *Evolution*, **13**, 639–664.
- 534 Lobón-Cerviá J., Rezende C.F., & Castellanos C. (2012) High species diversity and low
535 density typify drift and benthos composition in Neotropical streams. *Fundamental*
536 *and Applied Limnology / Archiv für Hydrobiologie*, **181**, 129–142.
- 537 Macedo D.R., Hughes R.M., Ligeiro R., Ferreira W.R., Castro M. a., Junqueira N.T.,
538 Oliveira D.R., Firmiano K.R., Kaufmann P.R., Pompeu P.S., & Callisto M. (2014)
539 The relative influence of catchment and site variables on fish and macroinvertebrate
540 richness in cerrado biome streams. *Landscape Ecology*, **29**, 1001–1016.
- 541 Malnas K., Polyak L., Prill E., Hegedus R., Kriska G., Devai G., Horvath G., & Lengyel S.
542 (2011) Bridges as optical barriers and population disruptors for the mayfly *Palingenia*
543 *longicauda*: an overlooked threat to freshwater biodiversity? *Journal of Insect*
544 *Conservation*, **15**, 823–832.
- 545 Margalef R. (1983) *Limnologia*. Omega, Barcelona.
- 546 Oksanen J., Blanchet F.G., Kindt R., Legendre P., Minchin P.R., O’Hara R.B., Simpson
547 G.L., Solymos P., Stevens M.H., & Wagner H. (2013) vegan: Community Ecology
548 Package. .

- 549 R Development Core Team (2015) R: A language and environment for statistical
550 computing. .
- 551 Racheli L. & Racheli T. (2004) Patterns of Amazonian area relationships based on raw
552 distributions of papilionid butterflies (Lepidoptera: Papilioninae). *Biological Journal*
553 *of the Linnean Society*, **82**, 345–357.
- 554 Ribas C.C., Aleixo a., Nogueira a. C.R., Miyaki C.Y., & Cracraft J. (2012) A
555 palaeobiogeographic model for biotic diversification within Amazonia over the past
556 three million years. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **279**,
557 681–689.
- 558 Rossetti D. de F., Toledo P.M., & Góes A.M. (2005) New geological framework for
559 Western Amazonia (Brazil) and implications for biogeography and evolution.
560 *Quaternary International*, **63**, 78–89.
- 561 Sartori M. & Brittain J.E. (2015) Order Ephemeroptera. *Ecology and General Biology:*
562 *Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates* (ed. by J.H. Thorp and D.C. Rogers),
563 pp. 873–891. Elsevier,
- 564 Shimano Y., Juen L., Salles F.F., Nogueira D.S., & Cabette H.S.R. (2013) Environmental
565 and spatial processes determining Ephemeroptera (Insecta) structures in tropical
566 streams. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology*, **49**, 31–41.
- 567 Silva J.M.C. (2005) Áreas de endemismo da Amazônia. *Ciência & Ambiente*, **31**, 25–38.
- 568 Silva J.M.C. & Oren D.C. (1996) Application of parsimony analysis of endemism in
569 Amazonian biogeography: an example with primates. *Biological Journal of the*
570 *Linnean Society*, **59**, 427–437.
- 571 Silva J.M.C., Rylands A.B., & Fonseca G.A.B. (2005) The fate of Amazonian areas of
572 endemism. *Conservation Biology*, **19**, 689–694.
- 573 Sioli H. (1984) Introduction: History of the discovery of the Amazon and of research of
574 Amazonian waters and landscapes. *The Amazon: limnology and landscape ecology of*
575 *a mighty tropical river and its basin* (ed. by H. Sioli), pp. 1–13. Dr. W. Junk
576 Publishers, Dordrecht.
- 577 Vannote R.L., Minshall G.W., Cummins K.W., Sedell J.R., & Cushing C.E. (1980) The
578 River Continuum Concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **37**,
579 130–137.
- 580 Vinson M.R. & Hawkins C.P. (1998) Biodiversity of stream insects: variation at local,
581 basin, and regional scales. *Annual review of entomology*, **43**, 271–293.
- 582 Wallace A.R. (1852) On the monkeys of the Amazon. *Proceedings of the Zoological*
583 *Society of London*, **20**, 107–110.
- 584 Wallace A.R. (1854) On the Monkeys of the Amazon. *Journal of Natural History Series 2*,
585 **14**, 451–454.
- 586 Wesselingh F.P. & Hoorn C. (2011) Geological development of Amazon and Orinoco
587 basin. *Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes* (ed. by J.S. Albert
588 and R.S. Reis), pp. 59–68. University of California Press, Los Angeles.
- 589 Wiens J.A. (2002) Riverine landscapes: taking landscape ecology into the water.
590 *Freshwater Biology*, **47**, 501–515.
- 591 Young B. a., Schmidt D.J., & Sheldon F. (2013) Small-scale patterns of genetic variation
592 in a headwater specialist mayfly: No influence of selective forest harvesting on
593 diversity. *Austral Ecology*, **38**, 504–515.
- 594

595 MATERIAL SUPLEMENTAR

596

597 **Tabela S1** Espécies de Ephemeroptera registradas para a Amazônia brasileira e suas
598 respectivas ocorrências de acordo com as áreas de endemismo.

ESPÉCIES	ÁREAS DE ENDEMISMO								TOTAL	
	Belem	Guiana	Imeri	Inambari	Napo	Marajó	Rondonia	Tapajos		Xingu
<i>Adebrotus amazonicus</i>	0	1	1	0	0	0	0	0	1	3
<i>Amanahyphes saguassu</i>	1	1	0	0	0	0	0	1	1	4
<i>Americabaetis alphas</i>	1	1	0	0	0	0	1	1	1	5
<i>Apobaetis fuuzai</i>	0	1	0	0	0	0	1	0	1	3
<i>Apobaetis hamadae</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Apobaetis kallawaya</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Apobaetis signifer</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
<i>Askola emmerichi</i>	0	1	0	1	0	0	0	1	0	3
<i>Askola yanoman</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Asthenopus angelae</i>	0	0	1	1	0	0	0	0	0	2
<i>Asthenopus crenulatus</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Asthenopus curtus</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	1	2
<i>Aturbina georgei</i>	1	1	1	1	0	1	0	1	1	7
<i>Aturbina maculata</i>	1	1	0	0	0	0	0	1	1	4
<i>Aturbina nigra</i>	0	1	0	0	0	0	1	1	1	4
<i>Baetodes proiactus</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Brasilocaenis irmleri</i>	0	1	1	1	0	0	0	1	1	5
<i>Brasilocaenis puthzi</i>	1	1	0	0	0	0	0	1	0	3
<i>Brasilocaenis renata</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Caenis candelata</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Caenis cuniana</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Caenis fittkaui</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1	2
<i>Caenis pflugfelderi</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	1	2
<i>Caenis quatipuruica</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Caenis reissi</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Caenis sigillata</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Callibaetis calloventer</i>	0	1	1	0	0	0	1	0	0	3
<i>Callibaetis cruentus</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>Callibaetis gelidus</i>	0	1	0	0	0	0	1	0	0	2
<i>Callibaetis gonzalezi</i>	0	1	0	0	0	0	1	0	0	2
<i>Callibaetis itannae</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Callibaetis nigracyclus</i>	0	1	1	0	0	0	0	0	1	3
<i>Callibaetis pollens</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2
<i>Callibaetoides caaigua</i>	1	1	0	0	0	0	0	1	0	3
<i>Camelobaetidius anubis</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Camelobaetidius billi</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	1	3
<i>Camelobaetidius carolinae</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Camelobaetidius cayumba</i>	0	1	0	0	0	0	1	0	0	2
<i>Camelobaetidius janae</i>	0	1	0	0	0	0	1	1	1	4
<i>Camelobaetidius leentvaari</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Camelobaetidius matilei</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Camelobaetidius ortizi</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Camelobaetidius tepequensis</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Camelobaetidius tuberosus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Campsurus albifilum</i>	0	1	0	0	1	0	0	0	0	2
<i>Campsurus amapaensis</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Campsurus fuliginatus</i>	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2
<i>Campsurus gracilipenis</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Campsurus homaulus</i>	0	0	1	1	1	0	0	0	0	3
<i>Campsurus notatus</i>	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2
<i>Campsurus quadridentatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
<i>Campsurus segnis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1

<i>Campsurus yavari</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Campylocia anceps</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Chane baure</i>	0	1	0	0	0	0	1	0	0	2
<i>Cloeodes auwe</i>	0	1	0	0	0	0	1	0	1	3
<i>Cloeodes barituensis</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Cloeodes hydatation</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	1	2
<i>Cloeodes redactus</i>	1	1	0	0	0	0	0	1	1	4
<i>Corimella thomasi</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Coryphorus aquilus</i>	1	1	0	0	0	0	0	1	1	4
<i>Cryptonympha copiosa</i>	1	1	0	0	0	1	1	1	1	6
<i>Farrodes ochraceous</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Farrodes xingu</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
<i>Fittkaulus cururuensis</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2
<i>Fittkauneuria adusta</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>Guajirolus rondoni</i>	0	1	0	1	0	0	1	1	1	5
<i>Hagenulopsis minuta</i>	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2
<i>Harpagobaetis gulosus</i>	0	1	0	0	0	0	1	0	1	3
<i>Hermanellopsis arsia</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Homoeoneuria (Notochora) fittkaui</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>Hydromastodon sallesi</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	1	2
<i>Hydrosmilodon gilliesae</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	1	2
<i>Leptohyphes populus</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>Macunahyphes australis</i>	0	1	0	1	0	0	0	1	0	3
<i>Macunahyphes incognitus</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
<i>Michophebia surinamensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Microphlebia pallida</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Microphlebia surinamensis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1	2
<i>Miroculis (Atroari) amazonicus</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>Miroculis (Atroari) duckensis</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Miroculis (Miroculis) marauiae</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>Miroculis (Miroculis) tepequensis</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Miroculis (Yaruma) wandae</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>Oligoneuria (Oligoneurioides) amazonica</i>	0	1	0	0	0	0	1	0	1	3
<i>Oligoneuria (Oligoneurioides) mitra</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Oligoneuria (Yawari) truncata</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Oligoneuria amazonica</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
<i>Paracloeodes atroari</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Paracloeodes binodulus</i>	1	1	0	1	0	1	0	1	1	6
<i>Paracloeodes eurybranchus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Paracloeodes leptobranchus</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Paracloeodes pacawara</i>	0	1	0	0	0	0	1	0	0	2
<i>Paracloeodes waimiri</i>	0	1	0	0	0	0	1	0	0	2
<i>Paramaka convexa</i>	0	0	0	1	0	0	0	1	1	3
<i>Paramaka pearljam</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Rivudiva trichobasis</i>	0	1	0	0	0	0	1	0	1	3
<i>Simothraulopsis demerara</i>	0	1	1	0	0	1	0	0	0	3
<i>Spaniophlebia kayapo</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Spaniophlebia trailae</i>	0	0	0	1	0	0	1	0	1	3
<i>Spiritops silvudus</i>	0	1	0	1	0	0	1	1	1	5
<i>Terpides guyanensis</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Terpides sooretamae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Thraulodes cochunaensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Thraulodes schlingeri</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Thraulodes xavantinensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Tikuna bilineata</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2
<i>Tomedontus primus</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	0	2
<i>Tortopsis limoncocha</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Tortopsis spatula</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Tortopus harrisi</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Tortopus igaranus</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Tortopus ipixuna</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Traverhyphes (Mocohyphes) edmundsi</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Traverhyphes (Mocohyphes) yuati</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Traverhyphes (Traverhyphes) indicator</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Tricorythodes barbuis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Tricorythodes faeculopsis</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1

<i>Tricorythodes hiemalis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Tricorythodes mirca</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Tricorythodes quizeri</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2
<i>Tricorythodes rondoniensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Tricorythodes sallesi</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Tricorythodes santarita</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2
<i>Tricorythodes yapekuna</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	0	2
<i>Tricorythodes yura</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Tricorythodes zunigae</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
<i>Tricorythopsis acara</i>	1	1	0	0	0	0	0	1	0	3
<i>Tricorythopsis bahiensis</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	1	2
<i>Tricorythopsis chiriguano</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Tricorythopsis intercalatus</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Tricorythopsis rondoniensis</i>	0	1	0	0	0	0	1	0	0	2
<i>Tricorythopsis yucupe</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Tupiara ibirapitanga</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Ulmeritoides flavopedes</i>	1	1	0	0	0	0	0	1	1	4
<i>Ulmeritoides misionensis</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Ulmeritoides nigribullae</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
<i>Ulmeritoides oepa</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Ulmeritoides uruguayensis</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Varipes helenae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Waltzoyphius fasciatus</i>	1	1	0	0	0	1	0	0	1	4
<i>Waltzoyphius roberti</i>	1	1	0	0	0	0	0	1	1	4
<i>Zelus principalis</i>	0	1	1	0	1	0	0	1	1	5
TOTAL	18	80	17	22	3	7	28	34	60	

599

600

601

602 **Tabela S2** Espécies de Ephemeroptera registradas para a Amazônia brasileira e suas
 603 respectivas ocorrências de acordo com as bacias de drenagem.

ESPÉCIES	BACIAS DE DRENAGEM											Total
	Amapa	Atlantico Acara	Madeira	Paru	Purus	Negro	Solimoes	Tapajos	Tocantins Araguaia	Trombetas	Xingu	
<i>Adebrotus amazonicus</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	2
<i>Amanahyphes saguassu</i>	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	7
<i>Americabaetis alphas</i>	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	6
<i>Apobaetis fuzai</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	4
<i>Apobaetis hamadae</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Apobaetis kallawaya</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Apobaetis signifer</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>Askola emmerichi</i>	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	4
<i>Askola yanoman</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Asthenopus angelae</i>	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2
<i>Asthenopus crenulatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
<i>Asthenopus curtus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	3
<i>Aturbina georgei</i>	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	9
<i>Aturbina maculata</i>	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	5
<i>Aturbina nigra</i>	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	6
<i>Baetodes proiectus</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Brasilocaenis irmleri</i>	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	7
<i>Brasilocaenis puthzi</i>	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	3
<i>Brasilocaenis renata</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Caenis candelata</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Caenis cuniana</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2
<i>Caenis fittkai</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
<i>Caenis pflugfelderi</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	4
<i>Caenis quatipuruica</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Caenis reissi</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>Caenis sigillata</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Callibaetis calloventer</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	3
<i>Callibaetis cruentus</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Callibaetis gelidus</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	2
<i>Callibaetis gonzalezi</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Callibaetis itannae</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Callibaetis nigracyclus</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	3
<i>Callibaetis pollens</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2
<i>Callibaetoides caaigua</i>	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	4
<i>Camelobaetidius anubis</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Camelobaetidius billi</i>	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	4
<i>Camelobaetidius carolinae</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Camelobaetidius cayumba</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	2
<i>Camelobaetidius janae</i>	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	4
<i>Camelobaetidius leentvaari</i>	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2
<i>Camelobaetidius matilei</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Camelobaetidius ortizi</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Camelobaetidius tepequensis</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Camelobaetidius tuberosus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Campsurus albifilum</i>	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	2
<i>Campsurus amapaensis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Campsurus fuliginatus</i>	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	2
<i>Campsurus gracilipenis</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Campsurus homaulus</i>	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2
<i>Campsurus notatus</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	2
<i>Campsurus quadridentatus</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Campsurus segnis</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Campsurus yavari</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Campylocia anceps</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1

<i>Chane baure</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	2
<i>Cloeodes auwe</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	4
<i>Cloeodes barituensis</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Cloeodes hydatation</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	2
<i>Cloeodes redactus</i>	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	6
<i>Corinnella thomasi</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Coryphorus aquilus</i>	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	5
<i>Cryptonympha copiosa</i>	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	9
<i>Farrodes ochraceus</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Farrodes xingu</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Fittkaulus cururuensis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	3
<i>Fittkauneuria adusta</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Guajirolus rondoni</i>	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	4
<i>Hagenulopsis minuta</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Harpagobaetis gulosus</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	4
<i>Hermanellopsis arsia</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Homoeoneuria (Notochora) fittkaui</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Hydromastodon sallesi</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	2
<i>Hydrosmilodon gilliesae</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	3
<i>Leptohyphes populus</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Macunahyphes australis</i>	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	3
<i>Macunahyphes incognitus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Michophebia surinamenses</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Microphlebia pallida</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Microphlebia surinamensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2
<i>Miroculis (Atroari) amazonicus</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Miroculis (Atroari) duckensis</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Miroculis (Miroculis) marauiae</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Miroculis (Miroculis) tepequensis</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Miroculis (Yaruma) wandae</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Oligoneuria (Oligoneurioides) amazonica</i>	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	4
<i>Oligoneuria (Oligoneurioides) mitra</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Oligoneuria (Yawari) truncata</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Oligoneuria amazonica</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>Paracloeodes atroari</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	2
<i>Paracloeodes binodulus</i>	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	8
<i>Paracloeodes eurybranchus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Paracloeodes leptobranchus</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Paracloeodes pacawara</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	2
<i>Paracloeodes waimiri</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	3
<i>Paramaka convexa</i>	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	4
<i>Paramaka pearljam</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Rivudiva trichobasis</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	4
<i>Simothraulopsis demerara</i>	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	3
<i>Spaniophlebia kayapo</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Spaniophlebia trailae</i>	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	3
<i>Spiritiops silvudus</i>	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	6
<i>Terpides guyanensis</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Terpides sooretamae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Thraulodes cochunaensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Thraulodes schlingeri</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Thraulodes xavantinensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Tikuna bilineata</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2
<i>Tomedontus primus</i>	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	3
<i>Tortopsis limoncocha</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Tortopsis spatula</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Tortopus harrisi</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Tortopus igaranus</i>	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2
<i>Tortopus ipixuna</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Traverhyphes (Mocohyphes) edmundsi</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Traverhyphes (Mocohyphes) yuati</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Traverhyphes (Traverhyphes) indicator</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Tricorythodes barbuis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Tricorythodes faeculopsis</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	3
<i>Tricorythodes hiemalis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2
<i>Tricorythodes mirca</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1

<i>Tricorythodes quizeri</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2
<i>Tricorythodes rondoniensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Tricorythodes sallesi</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Tricorythodes santarita</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2
<i>Tricorythodes yapekuna</i>	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	4
<i>Tricorythodes yura</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Tricorythodes zunigae</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>Tricorythopsis acara</i>	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	0	5
<i>Tricorythopsis bahiensis</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	3
<i>Tricorythopsis chiriguano</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Tricorythopsis intercalatus</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	2
<i>Tricorythopsis rondoniensis</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	3
<i>Tricorythopsis yucupe</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	2
<i>Tupiara ibirapitanga</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
<i>Ulmeritoides flavopedes</i>	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	5
<i>Ulmeritoides misionensis</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Ulmeritoides nigribullae</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>Ulmeritoides oepa</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Ulmeritoides uruguayensis</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Varipes helenae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Waltzoyphius fasciatus</i>	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	5
<i>Waltzoyphius roberti</i>	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	6
<i>Zelus principalis</i>	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	6
Total	10	11	39	8	9	79	17	30	57	27	33	

604

Running title:

Oil palm cultivation and mayfly assemblages

Full title:

How oil palm cultivation is affecting mayfly assemblages in Amazon streams?

Authors:

Yulie Shimano¹ & Leandro Juen²

¹Graduate Program in Zoology, Universidade Federal do Pará/Goeldi Museum, Rua Augusto Correia, nº 1 Bairro Guamá, 66.075-110, Belém, PA, Brazil.

shimano.yulie@gmail.com

²Institute of Biological Sciences, Universidade Federal do Pará, Rua Augusto Correia, nº 1 Bairro Guamá, 66.075-110, Belém, PA, Brazil. leandrojuen@gmail.com

Abstract. The effects of the implantation of oil palm plantations on a series of environmental variables and the diversity and distribution of mayflies nymphs was investigated through a survey of 23 streams located in areas of plantation and natural forest in the eastern Amazon basin. Composition and richness of mayflies genera were compared among streams in order to verify which genera respond to the habitat disturbance gradient and determine thresholds for each variable. The genera number was higher in forest streams, although genus composition was similar between treatments. Only nine of the 114 physical variables measured differed significantly between plantation and forest, and only three limnological variables were significantly different. TITAN analysis indicated that four genera were significantly associated with these variables. Of these, *Miroculis* and *Ulmeritoides* were associated with the largest number of variables. Given the different options available for the use of the soil in Amazon basin, oil palm plantations appear to be one of the least deleterious for native fauna. In Brazilian Amazon basin, government-sponsored zoning for the establishment of oil palm plantations as a strategy for the recuperation of degraded land thus appears to be a viable option for the reintegration of areas left damaged by agricultural activities, as long as the process is implemented adequately and monitored systematically by federal environment agencies. Also, must respect the legislation, in particular the permanent preservation of riparian zones, which may function as effective buffer zones to the runoff of pesticides and sediments.

Key words. Aquatic insects; *Elaeis guineenses*; TITAN; indicator species.

Introduction

Over the past few decades, oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) plantations have expanded dramatically throughout the tropics (Koh and Wilcove, 2008), driven primarily by high market prices and the excellent productivity of this species in comparison with other oil-producing crops (Butler and Laurance, 2009). An additional factor is the versatility of this palm, which can be used for the production of biofuels, cosmetics, foodstuffs, pharmaceutical products, and other raw materials (Rocha and Castro, 2012). While the oil palm is a major source of economic growth as an alternative source of biofuel, the ongoing expansion of plantations contributes to deforestation, soil degradation, loss of diversity, wildfires, and a range of social problems (Sheil *et al.*, 2009).

Oil palm plantations are considered one of the main drivers of deforestation in the tropics (Kongsager and Reenberg, 2012). As they are less complex structurally than typical tropical forests, with trees of a uniform age, low canopy cover, sparse undergrowth, less stable microclimates, and are renewed every 25 to 30 years, palm plantations are poor substitutes for native tropical forests (Fitzherbert *et al.*, 2008). These characteristics are unfavorable to much of the wildlife that depends on forest habitats, and these plantations may eventually become a major threat to the preservation of tropical biodiversity (Butler and Laurance, 2009). In addition to the modification of habitats, groundwater quality may also be impacted by the incorrect use of the land, given that intensive agricultural practices tend to contribute to an increase in erosion and siltation, as well as the leaching of nutrients and agricultural chemicals into the water table, streams, and rivers (Foley *et al.*, 2005).

In 2008, Brazil was ranked 15th among the world's palm oil producing countries, and corporate and political entities are encouraging the aggressive expansion of the industry (Butler and Laurance, 2009). Despite being one of the countries that most produces palm oil, Brazil is unable to meet domestic demand, which is another reason for believing that the total area planted will expand considerably over the next few years (Rocha and Castro, 2012).

On the other hand, cultivation of the oil palm may represent a viable alternative for the reforestation of impacted areas in the Amazon basin (Ramalho-Filho and Mota, 2010). According to some scientists, cultivation of the oil palm may be an excellent alternative for the production of oils, and may thus provide an important resource for the Brazilian government's program that seeks to diversify and amplify the energy sources available to

the country, as well as creating jobs and increasing the income of the populations involved in this activity (Ramalho-Filho and Mota, 2010). Given this perspective, the use of oil palm plantations as a strategy for the recuperation of deforested areas has received such strong incentives from the Brazilian government that over the past few years, a study has been developed to provide a database for the zoning of the anthropogenic habitats destined for the cultivation of *E. guineensis* (http://www.cnps.embrapa.br/zoneamento_dende/).

From an ecological viewpoint, few studies have evaluated the real effects of oil palm plantations on the planet's biodiversity, and no data whatsoever are available for the Amazon region. According to the data analyzed by Danielsen *et al.* (2008), mainly from Asia, the species richness of birds, lizards, and mammals is invariably lower in areas with oil palm plantations, although the mean total richness of invertebrates may be unaffected, and the diversity of some groups, such as ants, bees, and moths, may actually increase in the plantation environment. However, Lucey *et al.* (2014) recorded a 22% reduction in the diversity of ants in palm plantations, and Mercer *et al.* (2013) found that aquatic macroinvertebrates were more abundant and diverse in forested areas in comparison with oil palm plantations. Given the contradictory nature of the available evidence and the probable continuing expansion of plantations in the Brazilian Amazon basin, it has become increasingly important to understand the real effects of this monoculture on different groups of animals, in particular those most sensitive to environmental impacts, such as the aquatic macroinvertebrates.

A number of animal groups are used as bioindicators of environmental quality, and of those which may provide more systematic insights into the effects of oil palm plantations, the aquatic insects of the order Ephemeroptera (mayflies) may be among the most promising. The composition of a mayfly assembly may reflect impacts over a wide area (Shimano *et al.*, 2013), considering that these insects spend most of their lives in the waters of streams and lakes, the characteristics of which are influenced by the runoff of precipitation throughout the local drainage basin. A number of studies have recorded the response of mayflies (ephemeroterans) species to different types of soil use, identifying taxa associated with distinct extremes of habitat integrity, such as cattle ranching (Bottová *et al.*, 2012), the eutrophization of lentic habitats (Menetrey *et al.*, 2008), pollutant concentrations (Eftenoiu *et al.*, 2011), deforestation (Buss and Salles, 2007; Silva *et al.*, 2010; Souza, *et al.* 2011), and urban areas (Couceiro *et al.*, 2012; Hepp and Santos, 2009; Monteiro-Júnior *et al.*, 2013).

Based on these findings, our aim was to verify how oil palm plantations affect environmental parameters and, in turn, the distribution of ephemeropteran nymphs, and discover which genera respond to the gradient of disturbance caused by plantations, and how they respond. Two hypotheses were tested - (i) oil palm plantations have a significant influence on the composition and diversity of ephemeropteran assemblages, and (ii) certain taxa will be associated intimately with one or other environmental extreme, given that, while some specialist species are highly sensitive to environmental impacts, other, more generalist species will be found in impacted areas. It is hoped that the evaluation of the effects of oil palm plantations on the diversity of ephemeropteran assemblages at the genus level may provide valuable guidelines for the development of programs of water biomonitoring based on this group of insects. This biomonitoring would have a number of advantages, including the relatively straightforward procedures for the collection and identification of specimens, which would facilitate the participation of technicians or even laypersons.

Material and methods

The present study focused on the Agropalma Agroindustrial complex in the municipality of Tailândia, located in the southeast of the Brazilian state of Pará. Agropalma is currently the largest producer of palm oil in Latin America, with a total of 39,000 hectares of plantation (Agropalma, 2014). The company's natural forest reserves cover an area of approximately 50,000 hectares, divided into a number of fragments isolated within the area of the plantations (Fig. 1). These reserves are composed predominantly of typical Amazonian *terra firme* rainforest. The local climate is humid tropical, with a rainy season between December and May, and a less rainy season between June and November. Mean annual precipitation recorded between 1978 and 2008 was 2344 mm, with monthly means of up to 427 mm in March, and as low as 54 mm in September (Albuquerque *et al.*, 2010). Mean annual temperature is approximately 26°C, and the relative humidity of the air around 85%.

A total of 23 streams were sampled, eight of which were located within forest reserves, in areas of primary forest, with the other 15 being located within oil palm plantations (Fig. 1). A 150 m stretch of each stream was demarcated as a standard sample plot, within which data were collected in the dry season periods of 2012 and 2013. Each

sample plot was subdivided into 10 sectors of 15 m, for the evaluation of habitat integrity, following the protocol described below.

For the collection of ephemeropteran nymphs, the 15 m sectors were subdivided into three sectors of 5 m, with specimens being collected only in the first two. This approach was adopted to increase the number of sub-samples, necessary to estimate genus richness reliably. In each plot, then, 20 of the 30 subsectors were sampled.

In each segment, two samples of the substrate were collected using a dip netting (18 cm in diameter, with a 0.05 mm mesh). This method of collection can be characterized as an active search type of procedure, in which the collector attempts to sample the greatest possible number of the substrates found along the length of a transect, with the objective of collecting the highest possible diversity of the target group, in this case, the Ephemeroptera. The material collected was triaged in the field and conserved in absolute ethanol. This procedure has been used successfully in previous field studies of ephemeropterans (Shimano *et al.*, 2010). The identification of the nymphs was based on the taxonomic key of Domínguez *et al.* (2006), and complementary works of reference. Voucher specimens were deposited in the zoological collection of the Federal University of Pará in Belém.

The physical conditions found at each stream were evaluated using a protocol adapted from Peck *et al.* (2006). This involved the measurement of a number of characteristics, including 26 variables of channel morphology, 29 concerning substrate type and quantity, five on streams hydraulics, 16 on the flow patterns of the channel, four on terrain (slope), one on sinuosity, four on the riparian vegetation cover, 33 on the type and quantity of the riparian vegetation cover, 60 different aspects of the types and size of the wood litter found in the stream bed, and 32 on the possible types and quantity of refuges available for insects and their predators. Overall, then, a total of 208 measures of the physical environment were obtained for each stream. Nessimian *et al.*'s (2008) Habitat Integrity Index was also applied to provide a general indicator of the integrity of the habitat at each stream.

In addition to these data, three measurements (at the extremes and center of each 150 m plot) were taken of water temperature, turbidity, dissolved oxygen concentrations, conductivity, total dissolved solids, Oxidation Reduction Potential (ORP), and pH to provide a mean parameter for each stream. Measurements were taken with a Horiba portable probe.

Statistical analyses

Genus richness was compared using the nonparametric Jackknife estimator (Coddington *et al.*, 1991; Colwell and Coddington, 1994). This method estimates total richness by correcting observed richness (the number of taxa recorded) by a parameter calculated from the number of rare taxa (which were recorded in only one sample). This procedure provides a more reliable estimate of the richness of taxa in a community (Krebs, 1999), as well as a confidence interval, which permits the statistical analysis of the estimates collected at two or more sites, or at the same site during different periods. This analysis was run in the EstimateS Win 7.5 software (Colwell, 2005).

A non-metric multidimensional scaling (NMDS) analysis was used to evaluate the effects of soil use on the composition of the ephemeropteran assemblages, based on the presence and absence of genera at each stream, with the Jaccard index being used as a measure of dissimilarity (Legendre and Legendre, 2012). Differences between the groups ranked by the NMDS were tested using an analysis of similarity, or ANOSIM (Clarke and Warwick, 1994). These analyses (NMDS and ANOSIM) were run in the R program using the Vegan and MASS packages (R Core Team, 2014).

In order to minimize the potential problem of multicollinearity in the environmental data, as well as to reduce the number of variables analyzed, correlation matrices were produced, and variables with a correlation of above 0.7 were excluded from the analysis. Subsequently, t tests were applied to the remaining variables to select those that were different between the plantation and natural forest areas. The variables were log-transformed to minimize the effect of homoscedasticity.

A Threshold Indicator Taxa ANalysis - TITAN (Baker and King, 2010) was run for each variable that presented a significant difference between plantation and forest, for the identification of the genera that responded to the gradient of disturbance created by the oil palm plantations. This analysis aimed to detect changes in the distribution of the different taxa over a continuous environmental gradient and verify the existence and nature of specific associations in the frequency and relative abundance of the taxa along this gradient (Baker and King, 2010). This analysis was also based on the criteria of the Indicator species index (IndVal), that is, specificity and fidelity (Dufrêne and Legendre, 1997) and the Change Point Analysis - nCPA (King and Richardson, 2003), which

associates the taxa with continuous environmental scores and creates confidence limits and points of change (positive or negative) in the taxa, which define the limits of a community for each variable tested (Baker and King, 2010; King *et al.*, 2011).

As the environmental parameters measured may either increase or decrease according to the presence of oil palm plantations, the results of the study will be presented separately in order to avoid possible problems of interpretation. The limnological and physical variables were also analyzed separately, given that they may reflect changes in the environment in different ways. Limnological variables are altered temporarily by climatic processes, such as rainfall, and tend to return rapidly to their normal conditions, whereas physical variables may take many years to return to their original state, depending on the degree of impact.

Results

Oil palm plantations and the distribution of ephemeropteran nymphs

A total of 1.232 specimens were collected during the present study, representing 21 genera. Comparing areas of forest and plantation, there was no difference in the mean abundance of ephemeropterans ($t = -1.12$, $df = 21$, $p = 0.27$). However, the estimates of total taxon richness in the two environments indicate that the forest streams contained around ten additional genera, on average (mean \pm 95% confidence interval = 30 ± 6.89) in comparison with the streams located within oil palm plantations (20 ± 5.04).

With regard to the taxonomic composition, three genera - *Zelus*, *Tricorythopsis* and *Tricorythodes* - were unique to the forest streams (that is, they were found only in these habitats), and three others - *Microphlebia*, *Macunahyphes* and *Cryptonympha* - were unique to plantation streams (Fig. 2). However, when the streams were ranked according to the presence/absence of genera, the forest and plantation sites were not well differentiated (Fig. 3), a pattern confirmed by the ANOSIM ($R = 0.049$, $p = 0.252$), reinforcing the conclusion that there was no significant difference in the composition of the ephemeropteran assemblages in the two types of habitat.

Oil palm plantations and environmental variables

A total of 114 physical and seven limnological variables were evaluated in relation to the differences between oil palm plantations and native forest. Of these, only nine physical and three limnological variables differed significantly between habitats (Fig. 4, Appendix I).

The physical variables with significantly higher values in the plantation streams were live trees and roots. In the forest streams, by contrast, the percentages of algae, the mean proportion of bank undercut, the percentage of fine sediment, the HII, mean slope of the bank, width: depth ratio of the stream, and the percentage of wood fragments were all higher (Fig. 4). In the case of the limnological variables, pH and temperature were higher in the plantation streams, whereas the highest ORP values were recorded in the forest streams (Fig. 4).

Environmental variables and ephemeropteran nymphs

Four ephemeropteran genera presented an association with at least one variable (physical or limnological) that increased in either the plantation or forest streams. In the plantation streams (Table 1), *Campylocia* and *Miroculis* were associated negatively with pH and low temperatures (found in the forest streams [-]), while *Ulmeritoides* was positively associated (+) with these variables, indicating a preference for the higher values recorded in the plantation streams (Table 1). In the case of physical variables, *Miroculis* was associated with those that decrease in the forest (bank slope and fine roots), whereas *Ulmeritoides* presented a positive association with these variables, reinforcing its association with the plantation habitats. By contrast, *Campylocia* presented a negative relationship with bank slope and fine roots, indicating its preference for the forest streams, but contradicting the findings for the limnological variables. *Campsurus* also presented a negative association with fine roots, indicating a preference for forest habitats.

The ORP was the only limnological variable that returned a tendency to increase in forest streams (Table 2). *Campylocia* and *Miroculis* were associated positively with this variable, indicating a preference for forest habitats, while *Ulmeritoides* was negatively related to this variable (Table 1). *Campsurus* and *Ulmeritoides* were associated negatively with almost all the physical variables analyzed, with the exception of the proportion of bank undercut, indicating a strong association with the low values recorded for these variables in the plantation. The opposite pattern was recorded for *Miroculis*, which was

positively associated with these same variables. *Campylocia* was associated negatively with the width:depth ratio of the streams, but positively with the proportion of bank undercut.

A comparative overview of the results (limnological and physical variables) indicate that *Miroculis* and *Ulmeritoides* presented the same type of association for all the significant patterns, whereas the other genera varied in their response, being associated with the higher values recorded in the plantation for some variables, and with the higher values recorded in the forest for others. In the specific case of *Campsurus*, the genus was only associated with physical variables.

Given that *Miroculis* and *Ulmeritoides* appear to be the most important indicators, environmental thresholds are presented here only for these two genera (Table 3). Analyzing limnological variables first (highlighted in bold in the table), in the specific case of the oxy-redux potential, there is an exact point - 324.5 mV - at which *Ulmeritoides* tends to disappear and *Miroculis* begins to colonize. *Ulmeritoides* also tends to disappear at low pH values, especially those lower than 4.82, when the water becomes more acid, whereas *Miroculis* tends to appear when the pH exceeds 4.5. *Ulmeritoides* also tends to disappear when the temperature of the water exceeds 26.41°C, whereas *Miroculis* avoids temperatures below 24.75°C. In habitats with intermediate temperatures, both genera may be found.

With regard to the physical variables (Table 3), *Ulmeritoides* is only present when alga is absent, for example, although *Miroculis* tolerates a 0.2% coverage, on average. In relation to the relative dimensions of the stream, *Miroculis* tends to occur in streams which have a width:depth ratio of around four, whereas *Ulmeritoides* generally disappears when this value is equal to two. Fine sediment also plays a role - *Miroculis* tends to appear at values of above 8%, whereas *Ulmeritoides* disappears at values of below 3%. In the case of the habitat integrity index (HII), there is an exact value - 0.66 - below which *Miroculis* is substituted by *Ulmeritoides*.

In relation to the wood litter, *Miroculis* tends to appear in streams with values of over 36.78%, whereas *Ulmeritoides* appears in streams with values below 11.63%. *Miroculis* is only found where there are no fine roots (0%), while *Ulmeritoides* appeared in streams with at least 0.01%. The slope of the bank also played a role - *Miroculis* tends to disappear from streams with a slope of less than 15°. Finally, *Ulmeritoides* tends to

disappear when less than 2.73% of the bank have undercut and more than 21.83% of the stream has live trees.

Discussion

Despite the growing controversies over the negative impacts of the production of biofuels on land use and biodiversity, the oil palm industry continues to grow, driven by the increasing demand for edible vegetable oils (Corley, 2009). While any impact on the environment may result in modifications of a local community, there must be trade-offs between the satisfaction of immediate human needs and guaranteeing the capacity of the ecosystem to provide goods and services in the future (Foley *et al.*, 2005).

According to the zoning of palm oil production proposed by the Brazilian government, oil palm plantations should only be expanded in areas of degraded land (Koh and Wilcove, 2008), which would represent a more subtle way to protect the soil. However, future demand for foodstuffs and shifts in public policy are unpredictable, and any such strategy may ultimately be undermined by the economic benefits resulting from the increase in the production of this resource. In particular, the expansion of oil palm plantations may displace less profitable activities, such as cattle ranching and even subsistence agriculture into the forest (Drouvot and Drouvot, 2011).

Overall, it is possible to conclude that oil palm plantations contribute to a reduction in diversity, but do not clearly modify the composition of the mayfly community. In comparison with other long-term crops, such as banana, the ephemeropteran fauna was less affected in the present case, given that banana plantations may have a significant effect on both the species richness and composition of aquatic insects (Corbi *et al.*, 2013; Kleine *et al.*, 2011). In sugarcane plantations, Corbi and Trivinho-Strixino (2008) found a lower diversity of taxa in comparison with areas of riparian vegetation, and a higher percentage of sensitive taxa in well-conserved habitats. In the case of short-cycle crops, such as rice (Mize *et al.*, 2008), plantations may also modify the composition of aquatic macroinvertebrate assemblages.

This pattern is even clearer when the relatively small proportion of physical variables that differed significantly between plantation and forest habitats - only nine (approximately 8%) of the 114 variables analyzed - is taken into account. The small number of variables affected by the implantation of oil palm plantations indicates that this

type of crop may be less aggressive to the environment than other cultivars. This may be related to the large size of the oil palms, which may reach a height of 15 meters (Campos and Carmélia, 2007), thus providing good cover for the soil against the effects of sun and rain, as well as a habitat structure similar to that of natural forest. In addition, the soil is not exposed on a regular basis, as in the case of short-cycle crops, such as rice, maize or soybean, given that the ground is covered by grass throughout the year, helping to retain humidity and nutrients.

Even if the cultivation of oil palms has less impact on the environment, it is important to note the need for the preservation of gallery forests. Under Brazilian legislation (the Brazilian Forest Code, federal law number 12,651/12), a 30-meter wide riparian zone of natural vegetation must be maintained permanently over any watercourse of less than 10 m in width. These areas of permanent preservation, together with the legal reserves of natural vegetation required for any rural property, may provide an important buffer that reduces runoff and the transfer of nutrients and other material into local bodies of water (Schäffer *et al.*, 2011). Within the area of the present study, most of the streams have areas of permanent preservation, which almost certainly contribute to the reduction of the impacts of this land use.

Three (43%) of the seven limnological variables were affected by the plantations, which indicates that these factors may be more affected by the cultivation of oil palms than the physical characteristics of the streams. The associations between ephemeropteran taxa and limnological variables were expected, given the marked sensitivity of these insects to such factors (Shimano *et al.*, 2013). A number of studies have reported on the sensitivity of ephemeropterans to contaminants, such as heavy metals, ammonia, and other chemical compounds (Clements *et al.*, 2002), and the potential of these insects for biomonitoring. Such contaminants have a major impact on local human populations, given that most residents of the study area depend on streams that cross oil palm plantations for drinking water and bathing. The water of these streams is contaminated with the pesticides used in the oil palm plantations, which provoke itching and boils (Glass, 2013). Clearly, it would be important to implement stricter controls on the quantity and types of herbicides, insecticides, and fungicides used in this type of plantation.

As the monitoring and regulation of the quality of the water of streams that flow through agricultural areas is often difficult or financially not viable, the biomonitoring of live organisms may represent an extremely useful option for the detection of variations in

the physical-chemical attributes of the water, given that it avoids the need for daily or even weekly measurements, considering that the presence or absence of specific taxa may indicate long-term impacts on the environment. In the case of the Ephemeroptera, the genera most clearly indicated by the TITAN (highest number of variables) were *Ulmeritoides* and *Miroculis*, with *Ulmeritoides* being associated invariably with the variable related to the plantation habitats, and *Miroculis* to those of the forest. However, no data are available on the biology of these genera that might provide insights into the factors that determine the differences in their sensitivity to habitat modifications. *Ulmeritoides* appears to have a preference for calmer waters, such as those of marshes associated with riparian habitats, in which the structure of their gills (which have a large number of filaments) may represent an adaptation for the efficient absorption of oxygen (Da-Silva *et al.*, 2010). An indeterminate species of *Ulmeritoides* has also been found in river sectors with almost no current, that form a series of pools (Nolte *et al.*, 1997). However, Domínguez *et al.* (2006) collected *Ulmeritoides* specimens from leaf and wood litter in a range of conditions, varying from still pools to running water. *Miroculis* can be found in both riparian and potamal habitats, and even in reservoirs (Da-Silva *et al.*, 2010) occupying a wide range of substrates (Domínguez *et al.*, 2006).

For the other genera that presented some association with specific variables (*Campylocia* and *Campsurus*), responses varied according to the type of variable analyzed. *Campsurus* was only affected by physical variables, which may be related to the behavior of the larvae of this genus, which live underground, digging U-shaped tunnels, preferentially in soft, clayey sediments, which represent a physical variable (Domínguez *et al.*, 2006; Salles, 2006).

The results of the TITAN also indicated thresholds for each variable and associated genus. Based on these data, the impact of the modification in a specific variable on the ephemeropteran assemblages can be predicted easily. For example, when the temperature decreases to below 24.75°C, *Miroculis* tends to disappear (see change points and indications in Table 3). Based on the threshold presented for each variable, it is possible to predict the impacts and modifications of the assembly for each variable, facilitating the establishment of preventive measures for the maintenance of the aquatic diversity of these habitats.

Overall, then, *Ulmeritoides* and *Miroculis* appear to be the principal candidates for the effective biomonitoring of areas with oil palm plantations. This is reinforced by the fact

that these genera are easily identified by specific morphological traits. Both genera can be identified by the structure of the gills, which are composed of two lamellae. In *Ulmeritoides*, the gills are oval in shape, with a fringe around the whole of their edges, while in *Miroculis*, they are lanceolate, with hyaline lateral wings of varying shapes (Appendix 2).

While the implantation of oil palm plantations may be a viable strategy for the recuperation of degraded areas in the Amazon basin, it requires careful monitoring in order to ensure that forested areas are not encroached, and in particular that areas of permanent preservation are maintained intact.

The results of the present study indicate that oil palm plantations may be less damaging to the region's biodiversity than other agricultural practices, in particular cattle ranching, which is the principal driver of deforestation in the Amazon basin (Rivero *et al.*, 2009). It is important to remember, however, that the present study focused on aquatic invertebrates, and that more conclusive guidelines would require reliable data on terrestrial invertebrates, as well as aquatic and terrestrial vertebrates.

It is important to note that, while oil palm plantations may have a positive role to play in the recuperation of degraded and deforested areas, where this cultivar may be both economically and ecologically viable, the deforestation of pristine areas for the implantation of this activity cannot be recommended. Similarly, while the present study has shown that oil palm cultivation may be less damaging to the local aquatic fauna than other cultivars or cattle ranching, additional studies are clearly needed in order to confirm whether organic oil palm plantations would be an even more effective solution for the recuperation of abandoned and exposed soils in the Amazon basin.

Acknowledgments

We would like to thank the participants of the Laboratório de Ecologia e Conservação of Universidade Federal do Pará for their assistance with the fieldwork, Erlane Cunha for the organization of the environmental data and the Propesp for the manuscript translation. The Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) provided LJ (process 303252/2013-8) with research fellowships. We also thank Agropalma and 33 Forest for supporting fieldwork.

References

- Agropalma, 2014. Sobre a Agropalma. <http://www.agropalma.com.br>. Accessed in jun, 2014.
- Albuquerque M.F., Souza E.B., Oliveira M.C.F. and Souza-Jr J.A., 2010. Precipitação nas mesorregiões do Estado do Pará: Climatologia, variabilidade e tendências nas últimas décadas (1978-2008). *Rev. Bras. Climatol.*, 6, 151-168.
- Baker M.E. and King R.S., 2010. A new method for detecting and interpreting biodiversity and ecological community thresholds. *Method. Ecol. Evol.*, 1, 25-37.
- Bottová K., Derka T. and Svitok M., 2012. Life History and Secondary Production of Mayflies (Ephemeroptera) Indicate Disturbance in Two Small Carpathian Streams. *Int. Rev. Hydrobiol.*, 97, 100-116.
- Buss D.F. and Salles F.F., 2007. Using Baetidae species as biological indicators of environmental degradation in a Brazilian river basin. *Environ. Monit. Assess.*, 130, 365-372.
- Butler R.A. and Laurance W.F., 2009. Is oil palm the next emerging threat to the Amazon? *Trop. Conserv. Sci.*, 2, 1-10.
- Campos A.A. and Carmélia E.C., 2007. Viabilidade de extração de óleo de dendê no estado do Pará, Ministério do Desenvolvimento Agrário, Viçosa.
- Clarke K.R. and Warwick R.M., 1994. Similarity-based testing for community pattern: the two-way layout with no replication. *Mar. Biol.*, 118, 167-176.
- Clements W.H., Carlisle D.M., Courtney L.A. and Hurray E.A., 2002. Integrating observational and experimental approaches to demonstrate causation in stream biomonitoring studies. *Environ. Toxicol. Chem.*, 21, 1138-1146.
- Coddington J.A., Griswold C.E., Davila D.S., Penaranda E. and Larcher S.F., 1991. Designing and testing sampling protocols to estimate biodiversity in tropical ecosystems. Pp. 44-60. In: The unity of evolutionary biology: Proceedings of the fourth international congress of systematic and evolutionary biology, 2 vols.
- Colwell R.K., 2005. EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 7.5. [6.0b1]. Ref Type: Computer Program.
- Colwell R.K. and Coddington J.A., 1994. Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. *Philos. T. Roy. Soc. B.*, 345, 101-118.
- Corbi J.J., Kleine P. and Trivinho-Strixino S., 2013. Are aquatic insect species sensitive to banana plant cultivation? *Ecol. Indic.*, 25, 156-161.
- Corbi J.J. and Trivinho-Strixino S., 2008. Relationship between Sugar Cane Cultivation and Stream Macroinvertebrate Communities. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 51, 769-779.
- Corley R.H.V., 2009. How much palm oil do we need? *Environ. Sci. Policy*, 12, 134-139.
- Couceiro S.R.M., Hamada N., Forsberg B.R., Pimentel T.P. and Luz S.L.B., 2012. A macroinvertebrate multimetric index to evaluate the biological condition of streams in the Central Amazon region of Brazil. *Ecol. Indic.*, 18, 118-125.
- Da-Silva E.R., Nessimian, J.L. and Coelho, L.B.N., 2010. Leptophlebiidae ocorrentes no Estado do Rio de Janeiro, Brasil: habitats, meso-habitats e hábitos das ninfas (Insecta: Ephemeroptera). *Biota Neotrop.*, 10, 87-94.
- Danielsen F., Beukema H., Burgess N.D., Parish F., Brühl C.A., Donald P.F., Murdiyarsa D., Phalan B., Reijnders L., Struebig M. and Fitzherbert E.B., 2008. Biofuel plantations on forested lands: Double jeopardy for biodiversity and climate. *Conserv. Biol.*, 23, 348-358.

- Domínguez E., Molineri C., Pescador M.L., Hubbard M.D. and Nieto C., 2006. Ephemeroptera of South America, Pensoft, Moscow, 646 p.
- Drouvot C.M. and Drouvot H., 2011. O Programa de Produção Sustentável do Dendê na Amazônia: a mobilização dos grupos de interesse no reflorestamento das áreas degradadas. *6º Congresso do Instituto Franco-Brasileiro de Administração de Empresas*, 1–16.
- Eftenoiu C.C., Petrovici M. and Pârvulescu L., 2011. Assessment on the Ephemeroptera distribution (Insecta) in relation with aquatic parameters in different rivers from Aninei Mountains (SW Romania). *AACL Bioflux*, 4, 27–39.
- Fitzherbert E.B., Struebig M.J., Morel A., Danielsen F., Brühl C.A., Donald P.F. and Phalan B., 2008. How will oil palm expansion affect biodiversity? *Trends. Ecol. Evol.*, 23, 538–545.
- Foley J.A., DeFries R., Asner G.P., Barford C., Bonan G., Carpenter S.R., Chapin F.S., Coe M.T., Daily G.C., Gibbs H.K., Helkowski J.H., Holloway T., Howard E.A., Kucharik C.J., Monfreda C., Patz J.A., Prentice C., Ramankutty N. and Snyder P.K., 2005. Global consequences of land use. *Science*, 309, 570–574.
- Glass V., 2013. Expansão do dendê na Amazônia brasileira: Elementos para uma análise dos impactos sobre a agricultura familiar no nordeste do Pará, Repórter Brasil, São Paulo, 15 p.
- Hepp L.U. and Santos S., 2009. Benthic communities of streams related to different land uses in a hydrographic basin in southern Brazil. *Environ. Monit. Assess.*, 157, 305–318.
- King R.S., Baker M.E., Kazyak P.F. and Weller D.E., 2011. How novel is too novel? Stream community thresholds at exceptionally low levels of catchment urbanization. *Ecol. Appl.*, 21, 1659–1678.
- King R.S. and Richardson C.J., 2003. Integrating bioassessment and ecological risk assessment: an approach to developing numerical water-quality criteria. *Environ. Manage.*, 31, 795–809.
- Kleine P., Trivinho-Strixino S. and Corbi J.J., 2011. Relationship between banana plant cultivation and stream macroinvertebrate communities. *Acta Limnol. Bras.*, 23, 344–352.
- Koh L.P. and Wilcove D.S., 2008. Is oil palm agriculture really destroying tropical biodiversity? *Conserv. Lett.*, 1, 60–64.
- Kongsager R. and Reenberg A., 2012. Contemporary land-use transitions: the global oil palm expansion, GLP-IPO, Copenhagen, 44 p.
- Krebs C.J., 1999. Ecological Methodology, Addison-Wesley Longman, Inc., Menlo Park, CA., 620 p.
- Legendre P. and Legendre L., 2012. Numerical Ecology, Elsevier, Amsterdam, 990 p.
- Lucey J.M., Tawatao N., Senior M.J.M., Khen C.V., Benedick S., Hamer K.C., Woodcock P., Newton R.J., Bottrell S.H. and Hill J.K., 2014. Tropical forest fragments contribute to species richness in adjacent oil palm plantations. *Biol. Conserv.*, 169, 268–276.
- Menetrey N., Oertli B., Sartori M., Wagner A. and Lachavanne J.B., 2008. Eutrophication: are mayflies (Ephemeroptera) good bioindicators for ponds? *Hydrobiologia*, 597, 125–135.
- Mercer E.V., Mercer T.G. and Sayok A.K., 2013. Effects of forest conversions to oil palm plantations on freshwater macroinvertebrates: a case study from Sarawak, Malaysia. *J. Land. Use. Sci.*, DOI: 10.1080/1747423X.2013.786149, 1–18.

- Mize S.V., Porter S.D. and Demcheck D.K., 2008. Influence of fipronil compounds and rice-cultivation land-use intensity on macroinvertebrate communities in streams of southwestern Louisiana, USA. *Environ. Pollut.*, 152, 491–503.
- Monteiro-Júnior C.S., Couceiro S.R.M., Hamada N. and Juen L., 2013. Effect of vegetation removal for road building on richness and composition of Odonata communities in Amazonia. *Brazil. Int. J. Odonatol.*, 16, 135–144.
- Nessimian J.L., Venticinque E.M., Zuanon J., De Marco P., Gordo M., Fidelis L., Batista J.D. and Juen L., 2008. Land use, habitat integrity, and aquatic insect assemblages in Central Amazonian streams. *Hydrobiologia*, 614, 117–131.
- Nolte U., Oliveira M.J. and Sturs E., 1997. Seasonal, discharge-driven patterns of mayfly assemblages in an intermittent Neotropical stream. *Freshwater. Biol.*, 37, 333–343.
- Peck D.V., Herlihy A.T., Hill B.H., Hughes R.M., Kaufmann P.R., Klemm D.J., Lazorchak J.M., McCormick F.H., Peterson S.A., Ringold P.L., Magee T. and Cappaert M., 2006. Environmental monitoring and assessment program-surface waters westerns pilot study: Field operations manual for wadeable streams EPA/620/R-06/003. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Washington, D.C.
- R Development Core Team, 2014. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria, R Foundation for Statistical Computing. Ref Type: Computer Program.
- Ramalho-Filho A. and Mota P.E.F., 2010. Contexto e objetivos do Zoneamento Agroecológico para cultura da palma de óleo nas áreas desmatadas da Amazônia Legal. In: A. Ramalho-Filho (ed.), Zoneamento agroecológico, produção e manejo da cultura de palma de óleo na Amazônia, Embrapa Solos, Rio de Janeiro, 19–22.
- Rivero S., Almeida O., Ávila S. and Oliveira W., 2009. Pecuária e desmatamento: uma análise das principais causas diretas do desmatamento na Amazônia. *Nova Economia*, 19, 41–66.
- Rocha M.G. and Castro A.M.G., 2012. Fatores limitantes à expansão dos sistemas produtivos de palma na Amazônia Departamento Transferência de Tecnologia, Brasília.
- Schäffer W.B., Rosa M.R., Aquino L.C.S. and Medeiros J.D., 2011. Áreas de Preservação Permanente e Unidades de Conservação and Áreas de Risco. O que uma coisa tem a ver com a outra? Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 193 p.
- Sheil D., Casson A., Meijaard E., Van Noordwijk M., Gaskell J., Sunderland-Groves J., Wertz K. and Kanninen M., 2009. The impacts and opportunities of oil palm in Southeast Asia: What do we know and what do we need to know? Occasional paper n° 51. CIFOR, Bogor, Indonesia.
- Shimano Y., Cabette H.S.R., Salles F.F. and Juen L., 2010. Composição e distribuição da fauna de Ephemeroptera (Insecta) em área de transição Cerrado-Amazônia, Brasil. *Iheringia*, 100, 301–308.
- Shimano Y., Juen L., Salles F.F., Nogueira D.S. and Cabette H.S.R., 2013. Environmental and spatial processes determining Ephemeroptera (Insecta) structures in tropical streams. *Ann. Limnol. – Int. J. Limn.*, 49, 31–41.
- Silva D.P., De Marco P. and Resende D.C., 2010. Adult odonate abundance and community assemblage measures as indicators of stream ecological integrity: A case study. *Ecol. Indic.*, 10, 744–752.
- Souza H.M.L., Cabette H.S.R. and Juen L., 2011. Baetidae (Insecta, Ephemeroptera) em córregos do cerrado matogrossense sob diferentes níveis de preservação ambiental. *Iheringia Ser. Zool.*, 101, 181–190.

Tables

Table 1 Ephemeropteran genera associated with the environmental variables that increase (+) or decrease (-) in streams rounded by oil palm plantation.

Environmental variables that increase in plantation		<i>Campsurus</i>	<i>Campylocia</i>	<i>Miroculis</i>	<i>Ulmeritoides</i>
Limnological variables	pH		-	-	+
	Temperature		-	-	+
Physical variables	Bank slope		+	-	
	Live trees (%)				+
	Fine roots (%)	-	+	-	+

Table 2 Ephemeropteran genera associated with environmental variables that increase (+) or decrease (-) in streams rounded by natural forest.

Environmental variables that increase in forest		<i>Campsurus</i>	<i>Campylocia</i>	<i>Miroculis</i>	<i>Ulmeritoides</i>
Limnological variables	ORP		+	+	-
	HII			+	-
Physical variable	Width: depth ratio	-	-	+	-
	Fine sediment	-		+	-
	Wood litter (%)	-		+	-
	Algae (%)	-		+	-
	Bank undercut		+		

Table 3 Results of TITAN showing the change points for *Miroculis* and *Ulmeritoides* (only those environmental variables for which significant values were recorded). * **Limnological variables**.

Genus	Variable	Change Point	Freq.	IndVal	Z	5%	95%	Purity	Confidence	High values in	Indication
<i>Miroculis</i>	Alga (%)	0.02	194	79.83	9.06	0.02	0.02	1.00	1.00	Forest	Z+
	Width:depth ratio	4.00	194	66.44	10.24	3.33	7.33	1.00	1.00	Forest	Z+
	Fine sediment (%)	8.00	194	66.56	9.30	1.65	9.33	1.00	1.00	Forest	Z+
	HII	0.66	194	67.94	7.23	0.66	0.78	1.00	1.00	Forest	Z+
	ORP*	324.50	194	53.35	7.39	283.33	325.33	1.00	1.00	Forest	Z+
	Wood (%)	36.78	194	66.07	8.01	20.69	38.15	1.00	1.00	Forest	Z+
	Slope	15.00	194	80.26	8.46	5.68	16.82	1.00	1.00	Oilpalm	Z-
	Fine roots (%)	0.00	194	74.72	8.48	0.00	0.01	1.00	1.00	Oilpalm	Z-
	pH*	4.51	194	81.69	8.45	4.48	4.79	1.00	1.00	Oilpalm	Z-
Temperature*	24.75	194	82.11	9.27	24.18	25.19	0.98	0.98	Oilpalm	Z-	
<i>Ulmeritoides</i>	Algae(%)	0.00	61	37.24	10.62	0.00	0.01	1.00	1.00	Forest	Z-
	Width: depth ratio	2.00	61	25.35	8.96	0.00	2.67	1.00	1.00	Forest	Z-
	Bank undercut	2.73	61	27.32	9.55	1.82	3.18	1.00	1.00	Forest	Z-
	Fine sediment (%)	3.00	61	33.22	14.01	2.67	3.33	1.00	1.00	Forest	Z-
	HII	0.67	61	48.20	13.96	0.61	0.73	1.00	1.00	Forest	Z-
	ORP*	324.50	61	38.19	14.23	313.63	332.00	1.00	1.00	Forest	Z-
	Wood litter (%)	11.63	61	24.94	8.33	8.54	22.14	1.00	1.00	Forest	Z-
	Fine roots (%)	0.01	61	26.87	7.86	0.01	0.02	1.00	1.00	Oilpalm	Z+
	Live trees	21.82	61	30.20	10.78	20.68	22.50	1.00	1.00	Oilpalm	Z+
	pH*	4.82	61	32.72	13.35	4.79	4.85	1.00	1.00	Oilpalm	Z+
	Temperature*	26.41	61	37.48	11.91	25.69	26.45	1.00	1.00	Oilpalm	Z+

Figure legends

Fig. 1 Sampling points for the collection of ephemeropteran specimens in areas of oil palm plantation and forest in the Agropalma Agroindustrial Complex in Tailândia, Pará (Brazil).

Fig. 2 Density of ephemeropteran genera collected in Amazonian streams, ranked by the presence (gray background) and absence (white) of oil palm plantations. (*) genera found only in areas with oil palm plantations and (**) genera present only where plantations are absent.

Fig. 3 Ranking of the study streams in the eastern Amazon basin based on the presence or absence of the ephemeropteran genera surveyed in the present study.

Fig. 4 Diagram showing the physical and limnological variables of the plantation and forest streams, and their relationships (positive or negative) with conservation levels.

Figures

Fig. 1

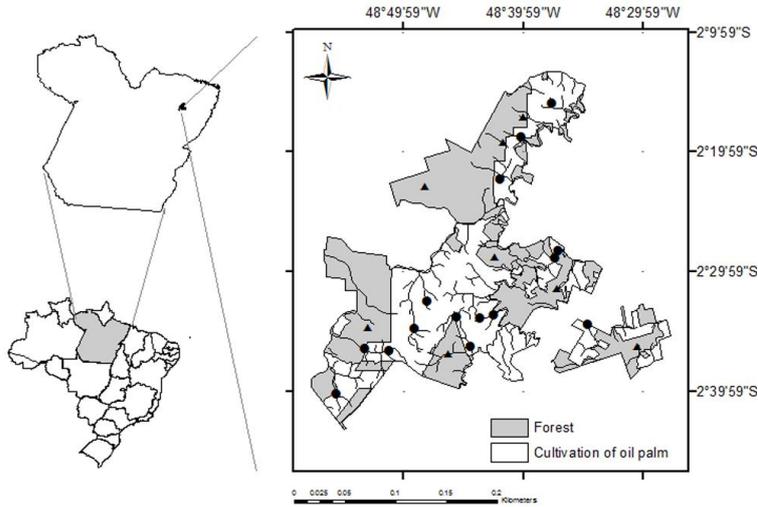


Fig. 2

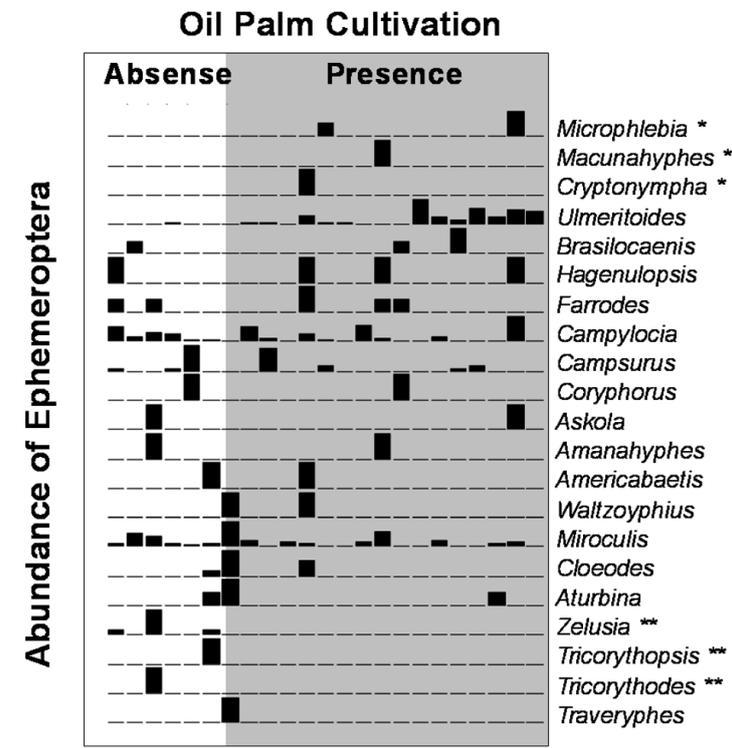


Fig. 3

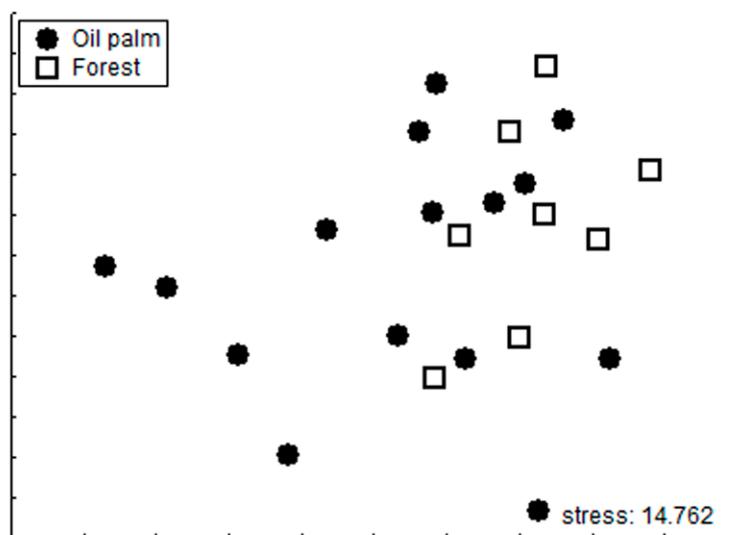
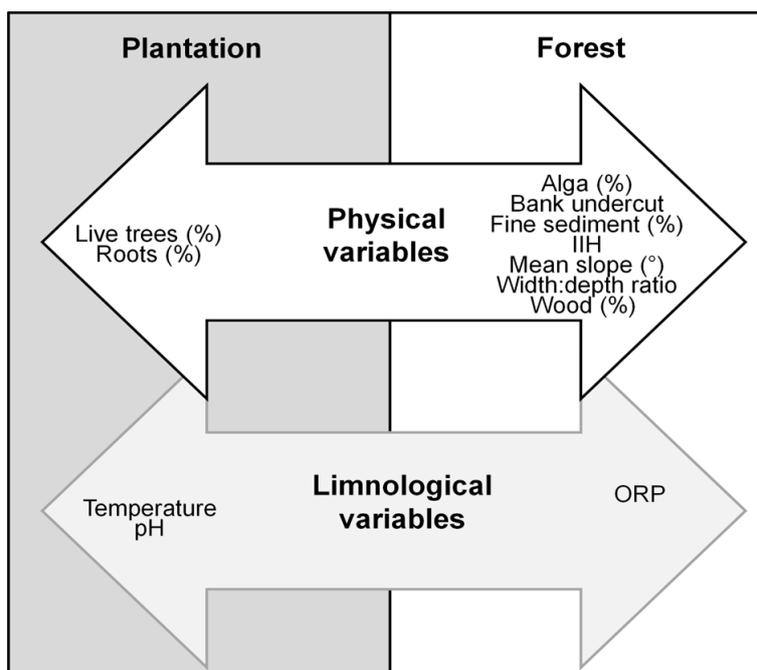


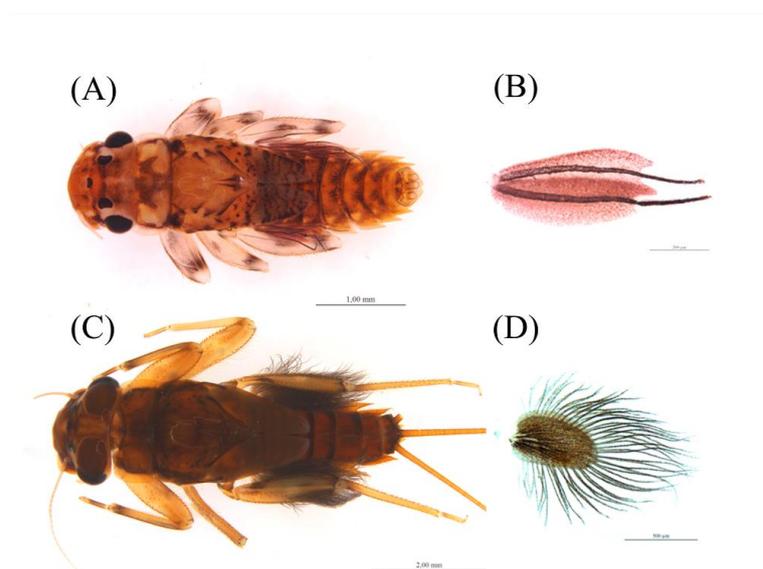
Fig. 4



Appendices

Appendix 1 Results of the t tests for the limnological and physical variables (only those which presented significant differences) measured in the plantation and forest streams. DF = Degrees of Freedom; t-value separ. var.= t test with separated variance.

	Oil palm		Forest		t-value	df	p	t-value separ. Var.	df	p
	Mean	Std. Dev.	Mean	Std. Dev.						
Limnological variables										
Temperature	26.184	0.582	25.416	0.956	2.409	21.000	0.025			
pH	4.981	0.195	4.707	0.246	2.941	21.000	0.008			
ORP	308.200	38.825	365.625	26.189	-3.735	21.000	0.001			
Physical variables										
Width:depth ratio	1.378	1.246	3.583	2.959				-2.015	8.350	0.077
Mean angle (°)	0.267	0.422	1.250	1.151				-2.334	8.017	0.048
Fine sediment (%)	3.111	2.399	5.750	3.342	-2.192	21.000	0.040			
Wood (%)	14.731	9.956	24.762	11.747	-2.164	21.000	0.042			
Alga (%)	0.004	0.005	0.010	0.007	-2.243	21.000	0.036			
Mean of bank undercut	0.939	1.037	3.097	2.683				-2.188	8.135	0.060
Live trees (%)	33.121	8.210	22.813	12.660	2.374	21.000	0.027			
Roots (%)	0.016	0.005	0.009	0.005	3.074	21.000	0.006			
HII	0.681	0.052	0.824	0.051	-6.324	21.000	0.000			



Appendix 2 Ephemeroptera genera associated to Forest (A, B) and oil palm cultivation (C, D). (A) *Miroculis* and (B) detail of the gill; (C) *Ulmeritoides* and (D) detail of the gill.

CONCLUSÃO GERAL

Nós concluímos que ainda há muitas lacunas a respeito do conhecimento ecológico da ordem Ephemeroptera no Brasil, principalmente vinculado às variáveis estruturadoras da distribuição e abundância desses organismos. Os conhecimentos genético e filogeográfico também são muito baixos, o que impossibilita, de fato, estudos mais aprofundados sobre origem e padrões de distribuição. Como são organismos paleológicos, estudos de biogeografia e filogeográficos são necessários para entender o processo de formação e diversidade da ordem, tanto na Amazônia brasileira, como nas demais regiões do Brasil e do mundo. Além disso, como são organismos anfibióticos e vivem na água e na terra, são extremamente interessantes para estudos evolutivos e ecológicos. Mas é preciso resolver lacunas importantes, onde podemos citar áreas relacionadas ao estudo de diversidade funcional, diversidade filogenética, filogeografia, metacomunidades, dispersão, além de estudos comportamentais de cópula e oviposição.

Por outro lado, o cenário não é muito pessimista, uma vez que o estudo dos insetos aquáticos no Brasil ainda é muito recente e há muitos esforços para a melhoria e avanço de estudos nessa área. Seguindo no ritmo atual de pesquisa (ver tabela 1 do capítulo 1), muito em breve as lacunas serão sanadas e estudos mais aplicados e teóricos também poderão ser desenvolvidos.

Com essa tese, nós tentamos aumentar o conhecimento a respeito da abundância (déficit Prestoniano), distribuição (déficit Wallaceano) e das relações desses organismos com o ambiente, alterações ambientais e naturais, além de variáveis da paisagem e fatores históricos (déficit Hunchinsoniano). Ainda, na tentativa de incentivar trabalhos ecológicos com esses organismos buscando aumentar o conhecimento a respeito dos mesmos, propomos metodologias e tentamos simplificá-la para que o público científico tenha um maior acesso ao estudo não só desses organismos, mas de todos os invertebrados aquáticos, em especial dos insetos.