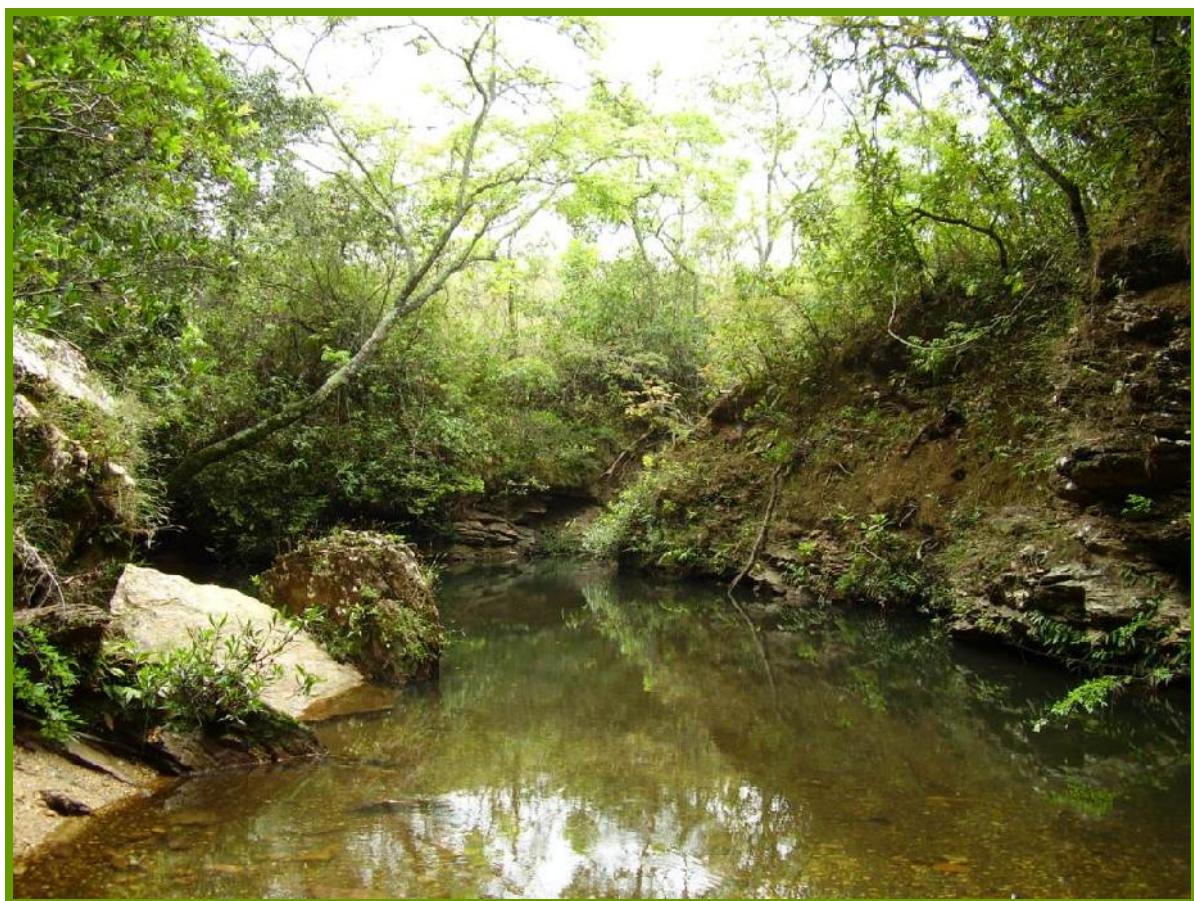


Universidade Federal de Minas Gerais  
Instituto de Ciências Biológicas  
Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo de Vida Silvestre

*Dissertação de Mestrado*

**Assembleias de Ephemeroptera (Insecta) em riachos de cabeceira  
no bioma Cerrado**



**Kele Rocha Firmiano**

Orientador: Prof. Dr. Marcos Callisto  
Co-orientador: Prof. Dr. Raphael Ligeiro

Belo Horizonte, Fevereiro de 2015

Universidade Federal de Minas Gerais  
Instituto de Ciências Biológicas  
Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo de Vida Silvestre

## **Assembleias de Ephemeroptera (Insecta) em riachos de cabeceira no bioma Cerrado**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, como pré-requisito do Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo de Vida Silvestre, para a obtenção do título de Mestre em Ecologia.

**Kele Rocha Firmiano**

Orientador: Prof. Dr. Marcos Callisto  
Co-orientador: Prof. Dr. Raphael Ligeiro

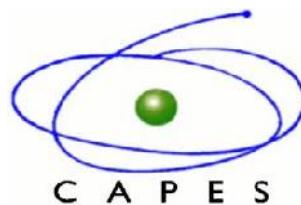
(Departamento de Biologia Geral, ICB, UFMG)

Belo Horizonte, Fevereiro de 2015

Financiamento:



Bolsa:



Apoios:



*Esta dissertação é  
carinhosamente dedicada aos  
meus pais, Maura e Vanderli.*

*Congele o tempo pra eu ficar devagarinho  
Com as coisas que eu gosto e que eu sei que são efêmeras  
E que passam perecíveis  
E acabam, se despedem, mas eu nunca me esqueço.*

*(Efêmera - Tulipa Ruiz)*

## Agradecimentos

Ao Prof. Marcos Callisto por me receber em seu laboratório e pela orientação durante todos esses anos! Obrigada por todo apoio, oportunidades, aprendizado e pelo convívio!

À CEMIG – Programa Peixe Vivo pelo financiamento do projeto IBI, à CAPES pela bolsa de mestrado ao CNPq e à FAPEMIG pelos apoios financeiros.

Aos Professores Leandro Juen (UFPA), Gilmar Bastos Santos (PUC-Minas) e Frederico de Siqueira Neves (UFMG) que gentilmente aceitaram o convite para compor a banca avaliadora.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo de Vida Silvestre: aos professores por todos ensinamentos e preocupação constante em nos formar ecólogos éticos e competentes. Aos secretários Fred e Cris pela prontidão e eficiência.

Ao Prof. Raphael Ligeiro por toda co-orientação: pelas valiosas discussões ecológicas, estatísticas e revisões de escrita. Obrigada principalmente pela amizade e boas gargalhadas nos momentos de descontração.

À Profª Joseline Molozzi pela tutoria durante o mestrado, acompanhando meu trabalho e ajudando a melhorá-lo. Mais do que isso, agradeço à alegre convivência, companheirismo e pela grande amizade.

Ao Profº Frederico Falcão Salles pelo treinamento na identificação das ninfas e confirmação de diversas identificações. Obrigada Fred por me contagiar com o seu fascínio por estes insetos espetaculares.

Às belas palavras de Ruppert, Fox e Barnes ao definir Ephemeroptera em *Zoologia dos Invertebrados*: "o adulto é um inseto voador delicado e gracioso com asas com veias em rede". Isso foi o suficiente para despertar minha vontade, ainda no 3º período do curso de estudar esses insetos.

Aos funcionários da FUNDEP pela eficiência na gestão do projeto.

Aos pesquisadores Robert Hughes e Philip Kaufmann pelas valiosas discussões e calorosa receptividade em Corvallis.

Aos Amigos do Laboratório de Ecologia de Bentos - LEB/NUVELHAS/Manuelzão. Os considero como uma família! A todos vocês (os que se mantém firmes e fortes no LEB e os buscaram outros horizontes) só tenho a agradecer: Ju França, amiga e parceira em diversas empreitadas: de expedição pelo Velhas a coletas IBI. Wander, por estar sempre disposto ajudar, seja um paper que não encontro, seja a cafeteira que não funciona. Cacá pelo imprescindível apoio logístico durante o projeto e às piadas e divertidas histórias de pescador. Diego Macedo, pelas rotas e mapas que não nos deixaram muito perdidos no campo. Taynan, pelas boas conversas e sugestões. Diego Castro pelos convites de eventos acadêmicos e as valiosas trocas de idéias. Déborah, pela alegria e parceria nas triagens e identificações. Hanna e Letícia, pela amizade, conselhos, pelo ombro amigo, risadas, e pela alegria e disposição no carnavais, sambas e baladas, obrigada meninas! Ana Paula pelas divertidas conversas. Isabela, Cíntia e Gisele pela docura, simpatia e amizade. Katiene pelo alto astral e disposição no campo. Maria Luiza pela prontidão sempre. Às sapecas Elisa e Maria Thereza pela espontaneidade e aquela ajuda nas triagens. À comitiva nordestina: Laryssa, Rafaela, Janaína, Shakira e Marden pelos "oxe", "armaria", "rápaiz", "tá com a gota" que tanto dá gosto de ouvir. Anna Carolina pelo apoio à distância. Luciana, Stella e Marina por encararem as longas triagens, identificações e pela amizade.

Aos Professores e alunos da UFLA, PUC-Minas, e CEFET-MG, pelos ensinamentos e companhia nas pesadas mas divertidas coletas do projeto IBI. Bárbara Sanches e Barbara Becker, Igor, Pedro, Ciça e Mírian.

Aos Amigos da Pós graduação em Ecologia Conservação e Manejo de Vida Silvestre, pela companhia, alegria e fundação do "Zoca bar"! Obrigada aos amigos dos laboratórios agregados, pela amizade e companhia nas divertidas baladas! Ju Braidotti, pela imensa amizade, carinho e por (quase) nunca recusar um sambinha!

Ao Clube Atlético Mineiro, Galo Doido, Campeão da Copa Libertadores 2013!

Aos amigos Hugo Almeida, Juliana Leroy, Wilton Vinícios, Diego Serelli e Pamela Schrier que sempre me apoiaram e torceram por mim, obrigada pelos momentos de descontração. Amigos do "Cortiço", Ana Teresa e Leo pela amizade e companheirismo, e pela

maravilhosa companhia nos jogos do Galo. Tiago Almeida, pela convivência durante o mestrado! Aos meninos de Ibirité, Marcinho e Gabriel pela amizade e carinho de longa data!

À minha família, todos os Rocha e Firmiano pelo carinho e apoio: aos meus queridos e amados mãe e pai, sem vocês nada disso seria possível! Sou eternamente grata pela dedicação, amor e pela compreensão em me ter longe de casa! Obrigada pela forma ímpar com que vocês me educaram! Meus irmãos, Thiago e Frank pelo companheirismo, sempre me amparando quando eu precisei, e também pelas molecagens! Aos meus avós Bela, Abel, Toninha e Zezé (*in memorian*) por todo amor e pelo esforço em tentar entender o que um biólogo faz! Aos meus tios Tião e João pelos churrascos de domingo! À todos os tios e tias, primos e primas, afilhados, agregados e "sobrinhos-tortos" por encherem a casa e minha vida de alegria!

A Deus, por me conceder tantas oportunidades, por me confortar, abençoar e me guiar nesta vida.

A todos que de longe ou perto observaram, que me direcionaram teus sinceros e bons pensamentos para que tudo desse certo nesta etapa de minha vida: MUITO OBRIGADA!

## **Sumário**

Resumo	1
Abstract	3
Introdução geral	5
Metodologia	
Área de Estudos e procedimentos em campo	8
Procedimentos em laboratório	11
Análises Estatísticas	13
Referências	18
Manuscrito: <i>Mayflies are indicators of tropical headwater streams in good environmental conditions</i>	24
Conclusões	47
Perspectivas Futuras	48
Anexos	49

## **Resumo**

Diferentes usos antrópicos do solo ameaçam a biodiversidade em rios e riachos, especialmente daqueles localizados em países tropicais em desenvolvimento, em virtude de suas maiores taxas de modificações de usos do solo. Para o monitoramento dos efeitos dessas conversões, tem sido usado organismos sensíveis a distúrbios nos sistemas aquáticos. Os mais utilizados são macroinvertebrados bentônicos, sendo observada diminuição de organismos sensíveis e predominância daqueles tolerantes em riachos sob pressão de distúrbios antrópicos. Os objetivos desta dissertação foram inventariar a fauna de Ephemeroptera em riachos no cerrado, e avaliar o efeito de distúrbios antrópicos em riachos de cabeceira sobre a estrutura de assembleias de Ephemeroptera (riqueza, abundância e composição taxonômica), testando ainda sua viabilidade como bioindicador. A hipótese testada foi de que riachos expostos a múltiplas perturbações antrópicas afetam negativamente a estrutura de assembleias de Ephemeroptera. Foram amostrados 80 trechos de riachos nas bacias hidrográficas dos altos rios Araguari e São Francisco, sendo mensurada a exposição a distúrbios antrópicos em escalas local (leito e vegetação ripária) e de bacia de drenagem (% de usos do solo). Foi utilizado um Índice de Distúrbio Integrado para diferenciar grupos de riachos em condições menos e mais perturbadas. Os riachos da bacia do alto rio Araguari apresentaram condições menos e mais perturbadas se comparados aos riachos da bacia do alto rio São Francisco classificados nas mesmas categorias. A riqueza e abundância de ninfas de Ephemeroptera foram significativamente maiores nos riachos do alto rio São Francisco [35 gêneros ( $11,38 \pm 5,42$ ) e 12.533 ninfas ( $313,33 \pm 356,71$ )] se comparadas às do alto rio Araguari [30 gêneros ( $6,73 \pm 8,84$ ) e 3.291 ninfas ( $82,28 \pm 130,64$ )]. A exposição a distúrbios antrópicos em escala de bacia de drenagem influenciou negativamente a riqueza apenas na bacia do alto rio Araguari, onde foi observada maior porcentagem de usos do solo, como áreas de agricultura e pastagens. Somente nesta bacia foram encontrados gêneros indicadores de riachos menos perturbados [*Aturbina*, *Cloeodes* (Baetidae) *Farrodes*, *Miroculis*, *Ulmeritoides* (Leptophlebiidae)]. A composição das assembleias diferiu significativamente tanto em riqueza como em abundância entre as condições menos e mais perturbadas apenas nos riachos da bacia do alto rio Araguari. Os resultados sugerem que os Ephemeroptera são indicadores de riachos em boas condições ambientais, sendo mais sensíveis a distúrbios em escala de bacia de drenagem, e que bacias com alto grau de exposição a distúrbios

antrópicos apresentam assembleias diferentes tanto em composição quanto em abundância de organismos sensíveis.

**Palavras-chaves:** usos do solo, distúrbios antrópicos, *taxa* indicadores, conservação de biodiversidade, biondicadores de qualidade de água, insetos aquáticos.

## **Abstract**

Different anthropogenic land uses have threaten biodiversity in rivers and streams, especially at tropical developing countries, due of their higher rates of changes of land uses. Sensitive organisms have been used for monitoring the effects of those conversions in aquatic systems. The benthic macroinvertebrates community is commonly used as bioindicators of ecosystem health, because a decreased of sensitive organisms is observed while tolerant ones prevalence, in streams under anthropogenic disturbances pressure. We aim to (1) inventory the mayfly fauna in streams in the Cerrado biome, (2) evaluate the effect of anthropogenic disturbances in headwater streams on the structure of mayfly assemblies (richness, abundance and taxonomic composition) and (3) to test its viability as bioindicators. We hypothesized that streams exposed to multiple human disturbance affect negatively the structure of Ephemeroptera assemblies. Eighty stream sites were sampled in the upper Araguari and São Francisco river basins, and the exposure to human disturbances was measured at local (stream bed and riparian vegetation) and catchment scales (% of land uses). An Integrate Disturbance Index was used to differentiate streams in least and most disturbed conditions. The Araguari basin includes least and most disturbed streams when compared to streams of upper São Francisco basin. The richness and abundance of mayflies nymphs were higher in streams of upper São Francisco river basin [35 genera ( $11.38 \pm 5.42$ ) and 12,533 nymphs ( $313.33 \pm 356.71$ )] compared to upper Araguari river basin [30 genera ( $6.73 \pm 8.84$ ) and 3,291 nymphs ( $130.64 \pm 82.28$ )]. The exposure to human disturbance in watershed scale, negatively influenced the richness only in the upper Araguari river basin, where agriculture and pastures activities occur. Only in this basin were found genera that indicates least disturbed streams [*Aturbina*, *Cloeodes* (Baetidae), *Farrodes*, *Miroculis* and *Ulmeritoides* (Leptophlebiidae)]. The composition of the assemblies differed significantly in richness and abundance between the least and most disturbed conditions only in streams of the upper Araguari river basin. The results suggest that the mayflies are indicators of streams in good environmental conditions, being more sensitive to disturbances in the catchment scale, and that basins with high exposure to anthropogenic disturbances have different assemblies, both in composition and abundance of sensitive organisms.

**Keywords:** land uses, anthropogenic disturbance, indicator taxa, biodiversity conservation, bioindicators of water quality, aquatic insects.

## **Introdução geral**

Os ecossistemas aquáticos continentais são altamente ameaçados por atividades humanas decorrentes dos diversos usos da terra (Sala *et al.*, 2000). Atividades antrópicas têm causado desflorestamento de áreas de vegetação natural e substituição por áreas de agricultura e pastagens bem como atividades urbanas e industriais (Allan, 2004), resultando em aumento na carga de nutrientes, sedimentos e poluentes carreados para os ecossistemas aquáticos (Woodward *et al.*, 2012). Assim, rios e riachos localizados em regiões tropicais, especialmente em países em desenvolvimento, têm sofrido estes efeitos mais fortemente, pois estes estão mais sujeitos a maiores danos ambientais (Boyero & Bailey, 2001). No Brasil as principais ameaças são: poluição orgânica por lançamento de dejetos domésticos e industriais sem tratamento, destruição e degradação de habitats e processos de erosão e assoreamento (Moreno & Callisto, 2006; Callisto & Moreno, 2008), barramentos de grandes rios para geração de energia hidrelétrica (Molozzi *et al.*, 2013) e canalizações causando assim, modificações no morfologia fluvial (Feio *et al.*, 2013)

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, cobrindo cerca de 20% do território nacional (~ 2 milhões de Km<sup>2</sup>) (Wantzen *et al.*, 2003). No entanto, mais da metade de suas áreas naturais vêm sendo convertidas em áreas agrícolas (p. ex. cultivos de soja, algodão, milho, cana-de-açúcar), e áreas de pastagens e urbanização (Klink & Machado, 2005). Essas atividades ameaçam a biodiversidade de diversas formas, destacando-se a destruição e fragmentação de habitats, apontadas como as principais causas de perdas globais de biodiversidade (Primack & Rodrigues, 2005). Além disso, dada à alta taxa de degradação ambiental e elevada diversidade e endemismo de espécies animais e vegetais, o Cerrado é apontado por Myers *et al.* (2000) como um dos "hotspots" globais de biodiversidade.

Este bioma possui um alto potencial hídrico devido ao grande número de riachos de cabeceira drenando para importantes bacias hidrográficas. Neste cenário, destacam-se as nascentes dos rios Paraguai e São Francisco (Machado *et al.*, 2011). Riachos de cabeceira são os principais componentes de redes hidrográficas, contribuindo com 60% a 80% do total de cursos d'água (Benda *et al.*, 2005; Hughes *et al.*, 2011), e são ainda cruciais no processamento da matéria orgânica (Gonçalves *et al.*, 2006; Ligeiro *et al.*, 2010; Gonçalves & Callisto, 2013) e na ciclagem de nutrientes (Vannote *et al.*, 1980; Clarke *et al.*, 2008). Devido à importância dos riachos de cabeceira na formação de

bacias hidrográficas no Cerrado, torna-se estratégico o estudo destes ecossistemas, avaliando suas condições ecológicas, no sentido de subsidiar gestores de bacias hidrográficas na tomada de decisões de conservação e manejo (Callisto *et al.*, 2012a, b; Macedo *et al.*, 2012).

Riachos de cabeceira possuem alta diversidade biológica em razão de suas características abióticas intrínsecas, que podemos citar: baixas incidência luminosa e temperatura da água, (devido à presença, em geral, de uma zona ripária bem desenvolvida); diversidade de tipos de substratos (devido a processos geodinâmicos, p. ex. erosão e deposição de sedimentos); disponibilidade de recursos alimentares (provenientes de fontes autóctones e alóctones); altas concentrações de oxigênio dissolvido (devido a rugosidade de fundo, possibilitando a difusão do oxigênio na água) que determinam os padrões de riqueza e abundância observados (Meyer *et al.*, 2007). Nestes ecossistemas os macroinvertebrados bentônicos são extremamente diversos (Clarke *et al.*, 2008). Eles constituem um importante elo da cadeia trófica, pois participam do processamento de matéria orgânica de origem alóctone, que é a principal fonte energética em riachos de cabeceira (Vannote *et al.*, 1980). Sendo assim, participam da dinâmica de nutrientes, transformação de matéria orgânica e fluxo energético (Merritt & Cummins, 1996; Esteves *et al.*, 2011). Modificações na composição, estrutura e distribuição das comunidades de macroinvertebrados são observadas ao longo de gradientes longitudinais (Vannote *et al.*, 1980), espaciais (Li *et al.*, 2012), temporais (Silveira *et al.*, 2006) e ambientais (Moreno *et al.*, 2009). Alterações na qualidade ambiental dos ecossistemas aquáticos influenciam as comunidades bentônicas sendo observada diminuição na abundância e riqueza de organismos sensíveis à poluição, e predominância de organismos tolerantes em condições ecológicas degradadas (Ferreira *et al.*, 2011; Feio *et al.*, 2013). Assim, devido a esta sensibilidade, os macroinvertebrados bentônicos são utilizados como bioindicadores de qualidade de água (Bonada *et al.*, 2006) em diversos programas de biomonitoramento (Hughes *et al.*, 2008; Suriano *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2011).

Dentre as comunidades de macroinvertebrados bentônicos, as assembleias de Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera (EPT) são conhecidas por reunir organismos sensíveis à poluição (Buss & Salles, 2007; Paz *et al.*, 2009), e que juntamente com as ordens Diptera e Odonata constituírem as maiores biomassas em rios e riachos (Tundisi & Matsumura-Tundisi, 2008). Dentre estes, a ordem Ephemeroptera abrange os insetos

alados mais antigos ainda existentes, datando dos períodos Carbonífero e Permiano há aproximadamente 250 milhões de anos (Dominguez *et al.*, 2006). São de ampla distribuição, ausentes apenas nos pólos e algumas ilhas oceânicas (Brittain, 1982).

Os Ephemeroptera são insetos hemimetábolos e suas ninfas são exclusivamente aquáticas, habitando os mais diversos tipos de habitats, porém a maior diversidade e abundância são encontradas nos ecossistemas lóticos (Barber-James *et al.*, 2008). Além disso, possuem representantes em todos os grupos tróficos funcionais, sendo portanto, cruciais na ciclagem de nutrientes e manutenção de ecossistemas (Domínguez *et al.*, 2006). Os Ephemeroptera são os únicos insetos que possuem dois estágios adultos, o subimago e o imago (Gullan & Cranston, 2000). As ninfas podem viver por períodos relativamente longos (até 2 anos em algumas espécies), enquanto os adultos apresentam um tempo de vida mais curto, de algumas poucas horas até poucos dias (Salles, 2006). Após o acasalamento ocorre a oviposição na superfície de corpos d'água e, em seguida, a morte dos adultos. Os movimentos de dispersão ocorrem tanto no estágio imaturo, por deriva comportamental, quanto no estágio adulto, onde os imagos emergem e após o último estágio adulto, voam e ovipositem em trechos a montante (Brittain, 1982). No Brasil, a ordem Ephemeroptera possui 72 gêneros distribuídos em 10 famílias(<http://ephemeroptera.com.br/>), e ecologia de ninfas de Ephemeroptera vêm sendo estudadas em diversas abordagens ecológicas (Buss & Salles, 2007; Goulart & Callisto, 2005; Lock & Goethals, 2011; Shimano *et al.*, 2013a).

Esta dissertação está inserida em um projeto maior intitulado "Desenvolvimento de índices de integridade biótica para avaliação de qualidade ambiental e subsídio para a restauração de habitats em áreas de soltura de alevinos", financiado pela CEMIG/Programa Peixe Vivo. Uma rede de instituições colaboradoras agrupa professores e estudantes da Universidade Federal de Minas Gerais, Universidade Federal de Lavras, Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, US Environmental Protection Agency e Oregon State University.

Esta dissertação é apresentada na forma de um manuscrito a ser submetido à publicação científica em que as assembleias de Ephemeroptera foram utilizadas como indicadoras de exposição a perturbações ambientais em escalas local (observações de perturbações no leito e nas margens dos riachos) e de bacia de drenagem (% dos tipos de usos do solo) em duas bacias hidrográficas com diferenças no uso e ocupação do

solo, intensidade de impacto e geomorfologia fluvial. Os principais objetivos foram i) inventariar a riqueza de Ephemeroptera em riachos no Cerrado; ii) verificar se os padrões observados nas assembleias de Ephemeroptera (riqueza, abundância e composição) diferem-se entre as duas bacias; iii) testar a hipótese de que alterações humanas afetam negativamente as assembleias de Ephemeroptera, diminuindo a riqueza de acordo com o grau de exposição dos riachos às alterações. Neste sentido, as previsões foram que: i) a riqueza de gêneros diminuiria em resposta aos distúrbios atuando tanto em escala local quanto de bacia de drenagem; ii) gêneros sensíveis seriam indicadores de riachos em condições menos perturbadas, enquanto gêneros tolerantes prevaleceriam naqueles mais perturbados; iii) as assembleias presentes em riachos menos perturbados seriam diferentes daquelas em riachos mais perturbados.

## **Metodologia**

### **Áreas de estudos e procedimentos em campo**

Ao todo foram estudados 80 trechos de riachos [primeira a terceira ordens, *sensu* Strahler (1957)], sendo 40 na bacia do alto rio Araguari (ARA) e 40 na bacia do alto rio São Francisco (ARSF) (Figuras 1-2). Os riachos estudados localizam-se à montante do primeiro grande barramento em cada bacia hidrográfica [reservatório de Nova Ponte (ARA) e reservatório de Três Marias (ARSF)] com a finalidade de geração de energia hidrelétrica (Figuras 1-2). As amostragens foram realizadas ao final das estações secas de 2009 (ARA) e 2010 (ARSF). As duas bacias localizam-se no bioma Cerrado, que apresenta duas estações sazonais bem definidas: seca (maio a setembro) e chuvosa (outubro a abril). Os dois rios nascem no Parque Nacional da Serra da Canastra.

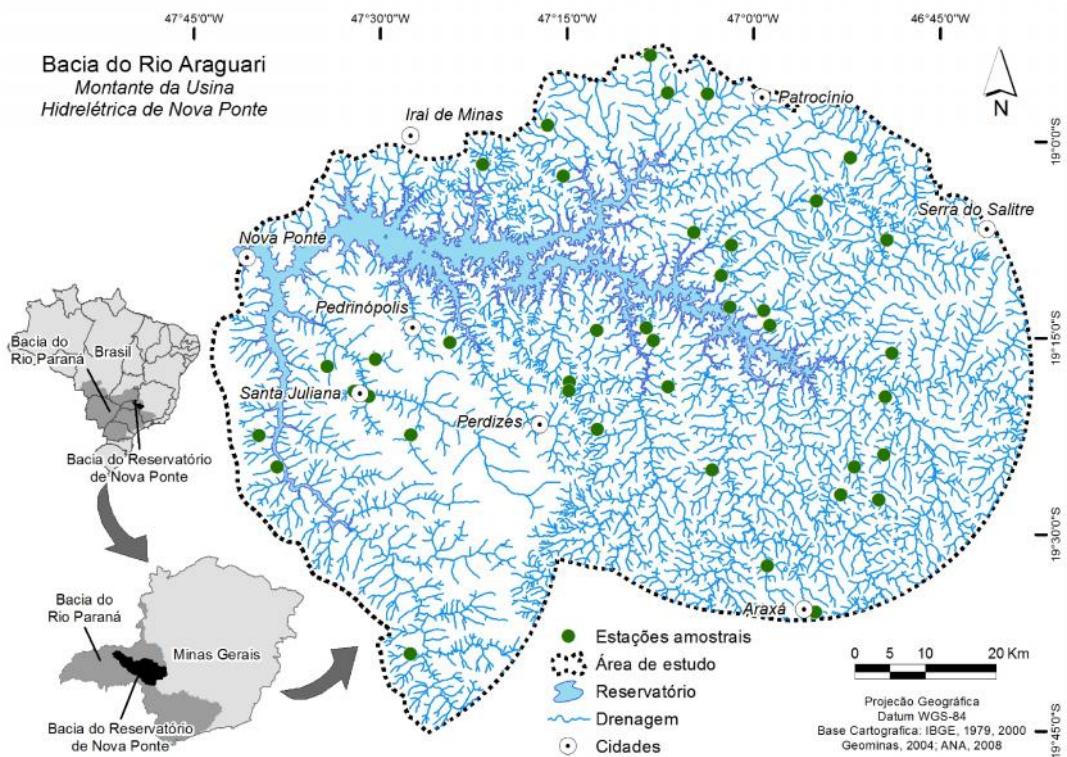


Figura 1. Mapa da bacia hidrográfica do alto rio Araguari (ARA) com sua rede de drenagem amostrada (pontos em verde).

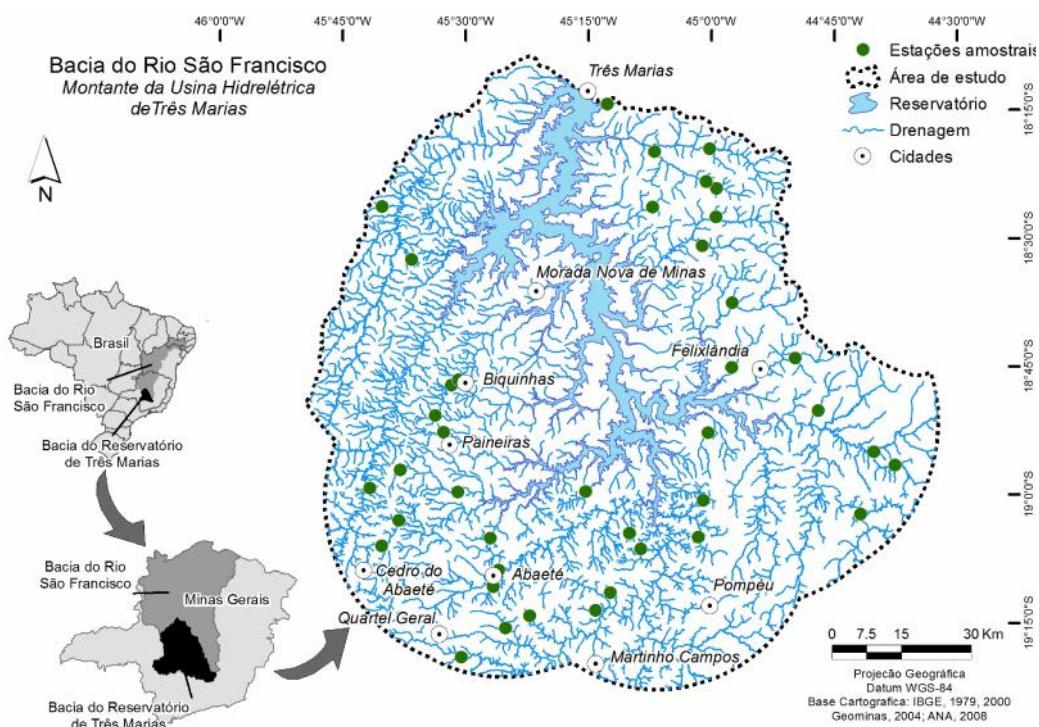


Figura 2. Mapa da bacia hidrográfica do alto rio São Francisco (ARSF) com sua rede de drenagem amostrada (pontos em verde).

A bacia do alto rio Araguari localiza-se na mesoregião do Triângulo Mineiro e abrange os municípios de Araguari, Araxá, Ibiá, Iraí de Minas, Nova Ponte, Patrocínio, Perdizes, Santa Juliana e Serra do Salitre. O alto rio Araguari possui uma extensão de 475 km e em sua foz encontra-se com o rio Paranaíba, um dos afluentes do rio Grande, que integra a bacia do rio Paraná (CBH Araguari, 2013). A paisagem é severamente antropizada na bacia do alto rio Araguari, especialmente devido à agricultura. Nesta região, há predomínio de culturas mecanizadas e irrigadas, destacando-se as de café, cana-de-açúcar, milho e soja.

A bacia do alto rio São Francisco possui uma extensão de 111.804 km<sup>2</sup>, estendendo-se até a região centro-norte de Minas Gerais, na cidade de Pirapora. Abrange os municípios de Três Marias, Abaeté, Pompéu, e Morada Nova de Minas (CBHSF, 2013). Como principais usos do solo nesta bacia, destacam-se a agricultura em pequena escala, agropecuária extensiva e plantações de *Eucalyptus* spp.

Primeiramente foi estabelecida uma área potencial de amostragem de 35 km no entorno à montante de cada reservatório. A seleção dos riachos foi aleatoriamente realizada seguindo um modelo espacial probabilístico balanceado, conforme proposto por Olsen & Peck (2008). Para a caracterização dos habitats físicos foi utilizado um protocolo desenvolvido pela US-EPA (Peck *et al.*, 2006), que foi traduzido pela equipe da rede de colaborações. Para a determinação da extensão a ser amostrada em cada riacho, a largura molhada média de cada riacho foi multiplicada por 40, sendo a extensão amostral mínima de 150 metros (Figura. 3). Posteriormente o trecho a ser amostrado foi dividido em 11 transectos equidistantes e dez sessões de mesma extensão (Figura. 3). Em cada transecto, e ao longo das sessões, foram mensuradas várias características relacionadas à morfologia do canal (largura molhada, largura e altura do leito sazonal, profundidade, inclinação das margens, tipos de fluxos e substratos etc), estrutura da vegetação ripária (tipo de cobertura vegetal, cobertura do dossel sobre o leito, extensão da vegetação ripária etc) e distúrbios humanos (presença de lixo, construções, canalizações, retificações do canal, agricultura nas margens, plantações, canos para captação e/ou despejo etc) que foram utilizados como distúrbios em escala local nas análises estatísticas posteriores.

Em campo foram mensuradas variáveis limnológicas (uma medida por riacho), incluindo temperatura (°C), condutividade elétrica ( $\mu\text{s}/\text{cm}^{-1}$ ), alcalinidade total (mEq/LCO<sub>2</sub>), pH, turbidez (UNT) e sólidos totais dissolvidos (mg/L) utilizando uma

sonda multiparâmetros (YSI - Yellow Springs, Ohio). Amostras de água foram coletadas para a posterior determinação das concentrações de oxigênio, fósforo total e nitrogênio total, segundo APHA (1998). Estes dados não foram efetivamente analisados no escopo desta dissertação como medidas de exposição a distúrbios antrópicos. No entanto, são apresentados nesta dissertação (valores médios e desvio padrão) para caracterização limnológica dos riachos estudados (Tabela 1).

Tabela 1. Variáveis limnológicas (média ± desvio padrão) mensuradas nos 80 riachos das bacias dos altos rios Araguari (ARA) e São Francisco (ARSF) ao final das estações secas de setembro de 2009 e 2010 respectivamente. (°C, temperatura; pH; Cond., condutividade elétrica; STD, sólidos totais dissolvidos; turb. turbidez; DO, oxigênio dissolvido; Alc. alcalinidade; N-Total, nitrogênio total; P-Total, fósforo total).

Variáveis	Bacia hidrográfica	
	ARA	ARSF
Temp. (°C)	20,34 ± 1,76	17,26 ± 1,80
pH	6,90 ± 0,46	7,67 ± 0,49
Cond. ( $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ )	23,27 ± 17,73	76,05 ± 92,28
STD (mg/L)	1,52 ± 1,18	41,14 ± 33,45
Turb. (UNT)	7,56 ± 10,52	8,22 ± 14,55
OD (mg/L)	7,47 ± 1,16	7,67 ± 2,86
Alc. (mEq/LCo <sub>2</sub> )	21,00 ± 22,78	839,49 ± 717,06
N-Total (µg/L)	54,25 ± 13,14	240,28 ± 948,21
P-Total (µg/L)	28,67 ± 33,48	44,33 ± 155,39

Amostras de sedimento foram coletadas seguindo a mesma metodologia de Peck *et al.* (2006). Utilizou-se um amostrador do tipo "kicking net" ou rede D (30 cm de abertura e 500 µm de malha, 0,09 m<sup>2</sup> de área amostrada). A coleta foi realizada em forma de "zigue e zague", objetivando-se amostrar de forma aleatória a maioria dos habitats existentes. Nos 11 transectos de cada riacho foram coletadas sub-amostras (uma sub-amostra por transceto), sendo posteriormente agrupadas para formar uma única amostra de cada riacho (aproximadamente 1 m<sup>2</sup> de área amostrada por riacho). As amostras foram fixadas em campo com uma solução de formol a 10%.

### Procedimentos em laboratório

As amostras de sedimento foram lavadas no Laboratório de Ecologia de Bentos da UFMG sobre peneira de 500 µm e armazenadas em potes plásticos etiquetados e

preservadas em álcool a 70%. Posteriormente foram triadas em bandejas transiluminadas e os organismos foram identificados em lupa (32x) utilizando chaves taxonômicas específicas (Pérez, 1988; Merritt & Cummins, 1996; Mugnai *et al.*, 2010). Em seguida os Ephemeroptera foram identificados ao nível de gênero em lupa (80x) com o auxílio de chaves taxonômicas específicas (Domínguez *et al.*, 2006; Salles, 2006) e consulta a especialistas quando necessário. Todos os organismos foram depositados na Coleção de Referência de Macroinvertebrados bentônicos do Laboratório de Ecologia de Bentos do ICB/ Universidade Federal de Minas Gerais.

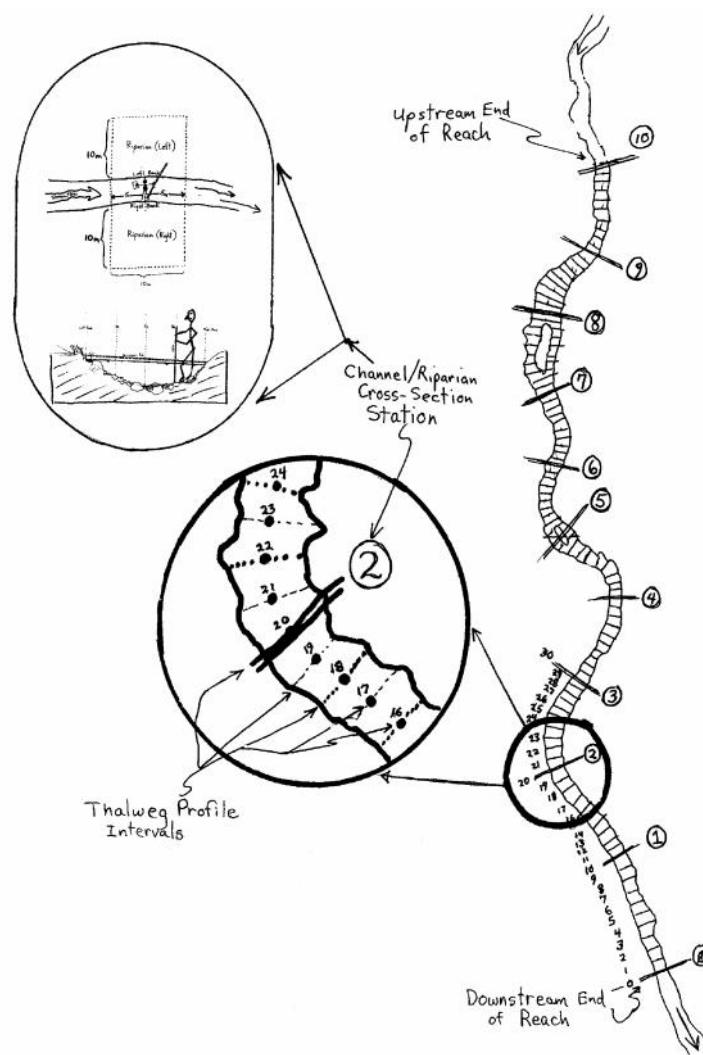


Figura 3. Desenho esquemático dos procedimentos realizados em campo durante as coletas (adaptado de Kaufmann *et al.*, 1999).

## Análises Estatísticas

### Características gerais das assembleias nas duas bacias

Para testar se as assembleias presentes nos riachos das duas bacias diferiam em riqueza e abundância, foi realizado um teste-t para amostras independentes (Zar, 1999) no software STATISTICA 7 (StatSoft, 2004). Os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias foram previamente testados (testes de Lilliefors e Levene, respectivamente). Em seguida, foram calculadas curvas de acumulação tanto para o número de indivíduos quanto para o número de riachos em cada bacia, utilizando o software R (R Development Core Team 2013), pacote vegan (Oksanen *et al.*, 2013).

### Exposição dos riachos aos distúrbios em escalas local e de bacia de drenagem

A intensidade de exposição aos distúrbios relativos aos usos do solo, observados então na escala de bacia de drenagem, foi mensurada através de interpolação de imagens de satélite (GIS) e espectrais de alta resolução (Câmara *et al.*, 1996). Na bacia do alto rio Araguari, agricultura, pasto, e urbano foram os tipos de distúrbios observados na escala de bacias de drenagens, enquanto que para a bacia do alto rio São Francisco, observou-se ainda plantações de *Eucalyptus* spp. Distúrbios em escala local foram ponderados de acordo com a distância do leito dos riachos, ou seja, quanto mais próximo ao leito do riacho maior seria o distúrbio. Na tabela 2 constam as porcentagens de exposição a distúrbios antrópicos na escala de bacia de drenagem e em escala local em cada bacia hidrográfica, ou seja, para os 40 trechos de riachos em cada bacia. Vale ressaltar que alguns tipos de distúrbios, como por exemplo a presença de pastagens e agricultura, foram observadas tanto em escala de bacia de drenagem quanto em escala local (Tabela 2). No entanto, considera-se, como distúrbios em escala local aqueles a até dez metros de distância das margens, enquanto em escala de bacia de drenagem, a porcentagem da área da bacia de drenagem de cada riacho em que se observa a exposição ao distúrbio. No software Statistica (StatSoft, 2004), foram geradas matrizes de correlação de Pearson entre os distúrbios nas duas escalas espaciais. Este procedimento foi realizado para verificar a existência de colinearidade entre as variáveis preditoras. Variáveis redundantes ( $r > 0,8$ ) foram excluídas das análises e a escolha das variáveis a serem mantidas baseou-se em suas importâncias ecológicas. Além disso,

variáveis observadas em menos de 10% dos riachos (menos de 5) foram também excluídas (Tabela 2). Posteriormente foram gerados modelos de regressão linear múltipla, buscando o melhor conjunto composto por no máximo quatro variáveis explicativas, evitando-se assim 'model-overfitting' baseados na informação do critério de Akaike corrigida (AICc). Burnham & Anderson (2002) recomendam este procedimento quando se trata de um pequeno conjunto de dados. Foi utilizada a diferença entre os valores de AICc entre os modelos ( AICc) para verificar se os modelos poderiam ser simplificados, sendo portanto, preferíveis. Os modelos de regressão foram realizados no software SYSTAT (SYSTAT software, 2013).

### **Determinação de riachos em condições ecológicas menos e mais perturbadas**

Em um estudo anterior, Ligeiro *et al.* (2013) classificou os riachos nas duas bacias a partir de um Índice de Distúrbio Integrado (IDI), incorporando alterações em duas escalas espaciais (anexo 1). Foram utilizados os seis riachos com menores IDI, como riachos menos perturbados, e os seis com maiores IDI, como mais perturbados. Dada a alta variabilidade nas características tanto bióticas quanto abióticas existentes em riachos em condições intermediárias, torna-se difícil encontrar uma relação clara entre as condições ambientais e padrões observados nas assembleias (Stoddard *et al.*, 2008). Assim, preferiu-se excluir riachos em condições intermediárias das análises de *taxa* indicadores e dissimilaridade entre as assembleias.

### **Determinação de *taxa* indicadores**

Foi utilizada a análise de *taxa* indicadores proposta por Dufrêne & Legendre (1997) para determinar quais gêneros de Ephemeroptera são indicadores de condições ambientais menos e mais perturbadas com base nos valores de indicação (IndVal). O IndVal é calculado através dos valores de abundância e frequência relativas dos gêneros em cada condição de distúrbio (Dufrêne & Legendre, 1997). A significância estatística foi testada pelo teste de permutação de Monte Carlo para 10.000 aleatorizações. Esta análise foi realizada no software R utilizando o pacote *labdsv* (Roberts, 2013).

Tabela 2. Variáveis de exposição a distúrbios antrópicos em escalas local e de bacia de drenagem nos 80 trechos de riachos das bacias dos altos rios Araguari (ARA) e São Francisco (ARSF). Constam na tabela os percentuais em que cada tipo de distúrbio foi observado nos 40 riachos. As métricas locais, plantação de grãos, pastagem, silvicultura/desmatamento se referem a observações feitas nas margens dos riachos.

Tipo de exposição	ARA	ARSF
<i>Local</i>		
muro/ dique/ canalização/ gabião/ barramento	12,5	5,0
construções	25,0	20,0
estrada calçada/ cascalhada	35,0	45,0
rodovia/ ferrovia	7,5	5,0
canos (captação/ descarga)	12,5	2,05
lixo/ entulho	65,0	57,5
área gramada/ camping	7,5	-
plantação de grãos	12,5	2,5
pastagem	82,5	82,5
silvicultura/ desmatamento	10,0	27,5
<i>Bacia de drenagem</i>		
% agricultura	92,5	72,5
% pasto	77,5	100,0
% urbano	5,0	7,5
% <i>Eucalyptus</i> spp.	-	65,0

### Dissimilaridade entre as assembleias de riachos em condições menos e mais perturbadas

Os riachos foram ordenados por uma análise de escalonamento multidimensional não métrico (NMDS), realizada no software PRIMER 6 (Clarke & Gorley, 2006). Foi utilizado o índice de Jaccard como medida de dissimilaridade, para os dados de incidência (presença e ausência de táxons), e a distância de Gower modificada, para os dados de composição com base na abundância de indivíduos. Os valores de abundância foram transformados em  $\log_2 x+1$ , onde a ausência de ninfas foi representada por '0' (Anderson *et al.*, 2006). Por fim, a dissimilaridade entre as assembleias dos grupos de riachos menos e mais perturbados foi testada por análise de variância permutacional (PERMANOVA, Anderson *et al.*, 2001), utilizando o pacote *vegan* no software R.

Uma síntese das análises estatísticas realizadas é apresentada na Figura 4. As análises realizadas na parte I se referem tanto à exposição aos distúrbios em escala local

e de bacia de drenagem para os 40 riachos de cada bacia. Enquanto que aquelas referente à caracterização das assembleias foram realizadas entre as bacias. Na parte II das análises, foram utilizados 12 riachos em condições menos em mais perturbadas (seis para cada condição) em cada bacia.

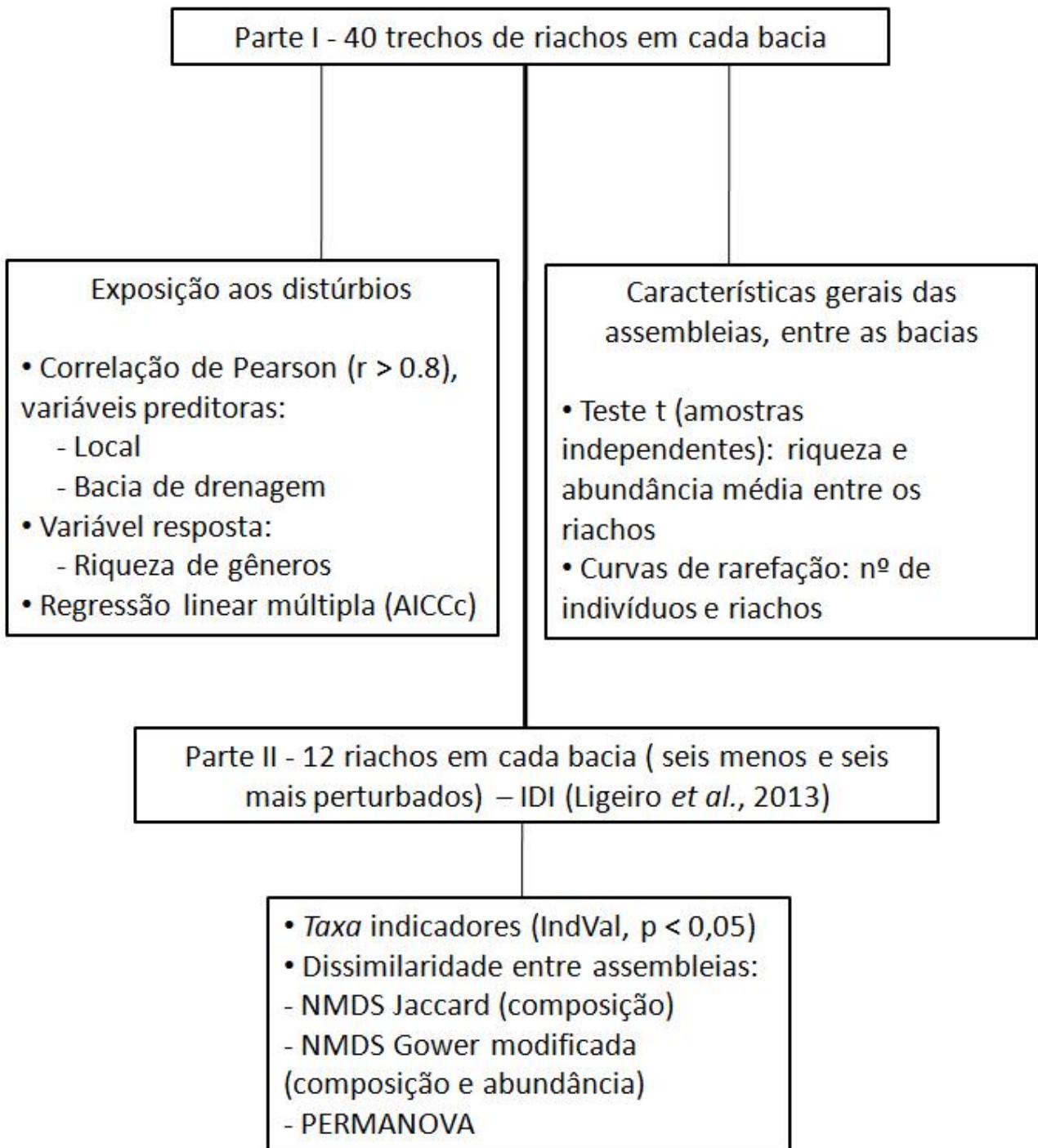


Figura 4. Fluxograma das análises estatísticas realizadas. Oitenta trechos de riachos nas bacias dos ARA e ARSF foram analisados para verificar a exposição aos distúrbios e as características gerais das assembleias. Doze trechos de riachos em cada bacia em condições menos e mais perturbadas foram utilizados nas análises de taxa indicadores e dissimilaridade entre as assembleias.

## Referências

- Allan J.D., 2004. Landscapes and riverscapes: the influence of land use on stream ecosystems. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 35, 257-284.
- Anderson M.J., 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecol.*, 26, 32-46.
- Anderson M.J., Ellingsen, K.E. & McArdle, B.H., 2006. Multivariate dispersion as a measure of beta diversity. *Ecol. Lett.*, 9, 683-693.
- APHA., 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th ed. United Book Press, USA.
- Barber-James H.M., Gattoliat J.L., Sartori M. & Hubbard M.D., 2008. Global diversity of mayflies (Ephemeroptera, Insecta) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595, 339-350.
- Benda L., Hassan M. A., Church M. & May C. L., 2005. Geomorphology of steepland headwaters: the transition from hillslopes to channels. *J. Am. Water Resour As.*, 41, 835-851.
- Bonada N., Prat N., Resh, V.H. & Statzner, B., 2006. Developments in aquatic insect biomonitoring: a comparative analysis of recent approaches. *Annu. Rev. Entomol.*, 51, 495-523.
- Boyero L. & Bailey, R.C., 2001. Organization of macroinvertebrate communities at a hierarchy of spatial scales in a tropical stream. *Hydrobiologia*, 499, 161-168.
- Brittain J. E., 1982: Biology of mayflies *Annu. Rev. Entomol.*, 27: 119-147.
- Burnham K. & Anderson D., 2002. Model Selection and Multi-Model Inference: a practical information-theoretic approach. Springer, New York, NY.
- Buss D.F. & Salles F.F., 2007. Using Baetidae species as biological indicators of environmental degradation in a Brazilian river basin. *Environ. Monit. Assess.*, 130, 365-372.
- Callisto M. & Moreno P., 2008. Programa de biomonitoramento de qualidade de água e biodiversidade bentônica na bacia do Rio das Velhas. In.: *Projeto Manuelzão: a história da mobilização que começou em torno de um rio*. 107-121 p.
- Callisto M., Castro D., Morais L., Hughes M.F., Kimura A., Alves R., Freitas V., Gagliardi L., Guimarães L.C., Gutierrez M.A., Ligeiro R., Miranda R.F., Resende F. & Sales S.C.M., 2012. Gestão Eficiente de Bacias Hidrográficas no

- Brasil: Dificuldades e Perspectivas de Soluções. *Natureza & Conservação*. 10, 92-95.
- Callisto M., Melo A.S., Baptista D., Gonçalves Júnior J.F., Graça M.A.S., & Augusto F.G., 2012. Future ecological studies of Brazilian headwater streams under global-changes. *Acta Limnol. Bras.* 24, 707-713.
- CBH Bacia do Rio Araguari, 2013. Disponível em: <http://cbharaguari.org.br>. Acesso em: 21 de outubro de 2013.
- CBH Bacia do rio São Francisco, 2013. Disponível em: <http://cbhsaofrancisco.org.br>. Acesso em: 21 de outubro de 2013.
- Câmara G., Souza R.C.M., Freitas U.M. & Garrido J., 1996. SPRING: Integrating remote sensing and GIS by object-oriented data modelling. *Comput. Graph.*, 20, 395-403.
- Clarke A., Mac Nally R., Bond N. & Lake P.S., 2008. Macroinvertebrate diversity in headwater streams: a review. *Freshwater Biol.*, 53, 1707-1721.
- Clarke K.R. & Gorley R.M., 2006. PRIMER: user manual, Version 6. Plymouth Marine Laboratory, Plymouth, 192 p.
- Domínguez E., Molineri C., Pescador M.L., Hubbard M.D. & Nieto C., 2006. Ephemeroptera of South America. Pensoft Publ., Moscow, 646 p.
- Dufrêne M. & Legendre P., 1997. Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach. *Ecol. Monogr.*, 67, 345-366.
- Esteves F. de A., Leal J.J.F. & Callisto M., 2011. Comunidade bentônica. In: Esteves F. de A. (ed.), Fundamentos de limnologia. Interciência, Rio de Janeiro, 581-603.
- Feio M.J., Ferreira W.R., Macedo D.R., Eller A.P., Alves C.B.M., França J.S. & Callisto M. Defining and testing for the recovery of tropical streams based on macroinvertebrate communities and abiotic conditions. 2013. *River Res. Applic.*, (print).
- Ferreira W.R., Paiva L.T. & Callisto M., 2011. Development of a benthic multimetric index for biomonitoring of a neotropical watershed. *Braz. J. Biol.* 71, 1-11.
- Gonçalves Jr. J.F., Graça M.A.S. & Callisto M., 2006. Leaf-litter breakdown in 3 streams in temperate, Mediterranean and tropical Cerrado climates. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 25, 344-355.
- Gonçalves Jr. J.F. & Callisto M., 2013. Organic-matter dynamics in the riparian zone of a tropical headwater stream in Southern Brasil. *Aquat. Bot.*, 109, 8-13.

- Goulart M. & Callisto M., 2005. Mayfly diversity in the Brazilian tropical headwaters of Serra do Cipó. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 48, 983-996.
- Gullan P.J., & Granston P.S., 2000. Aquatic insects. In: Gullan P.J., Granston P.S. (eds.), *The insects: an outline of Entomology*. Blackwell Science, London, 216-237.
- Hughes R.M. & Peck D.V., 2008. Acquiring data for large aquatic resource surveys: the art of compromise among science, logistics, and reality. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 27, 837-859.
- Hughes R.M., Kaufmann P.R. & Weber M.H., 2011. National and regional comparisons between Strahler order and stream size. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 30, 103-121.
- Kaufmann, P. R.; Levine, P.; Robison; E. G., Seeliger, C. & Peck, D. V. 1999. Quantifying physical habitat in wadeable streams. EPA/620/R-99/003. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
- Klink C.A. & Machado R.B., 2005. Conservation of the Brazilian Cerrado. *Conserv. Biol.*, 19, 707-713.
- Li F., Chung N., Bae M.J., Kwon Y.S. & Park Y.S., 2012. Relationships between stream macroinvertebrates and environmental variables at multiple spatial scales. *Freshwater Biol.* 57, 2107-2124.
- Ligeiro, R.; Melo, A.S. & Callisto, M., 2010. Spatial scale and the diversity of macroinvertebrates in a Neotropical catchment. *Freshwater Biol.* 55, 424-435.
- Lock, K. & Goethals, P.L.M., 2011. Distribution and ecology of the mayflies (Ephemeroptera) of Flanders (Belgium). *Ann. Limnol.*, 47, 159-165.
- Macedo R.M., Ligeiro R., Ferreira W.R., Junqueira N.T., Sanches B.O., Silva, D.R.O., Alves C.B.M., Hughes R.M., Kaufmann P.R., Pompeu P.S., Santos G.B., Callisto M., 2012. Parâmetros biológicos e de habitats físicos para avaliação de bacias no Sudeste do Brasil. *Ação Ambiental (UFV)*, 13, 15-18.
- Machado N.G., Venticinque E.M. & Penha J. 2011. Effect of environmental quality and mesohabitat structure on a Biotic Integrity Index based on fish assemblages of cerrado streams from Rio Cuiabá Basin, Brazil. *Braz. J. Biol.* 71, 577-586.
- Merritt, R. W. & Cummins, K.W., 1996. An Introduction to the Aquatic Insects of North America (3rd. ed.). Kendall/Hunt, Dubuque, 862.

- Meyer J. L. & Wallace J. B., 2001. Lost linkages in lotic ecology: rediscovering small streams. In Ecology: Achievement and Challenge. ed. M Press, N Huntly, S Levin, pp. 295–317. Boston: Blackwell Sci.
- Moreno P. & Callisto M., 2006. Benthic macroinvertebrates in the watershed of an urban reservoir in southeastern Brazil. *Hydrobiologia*, 560, 311-321.
- Mugnai R., Nessimian J.L. & Baptista D.F., 2010. Manual de identificação de macroinvertebrados aquáticos do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, Technical Books, 176p.
- Myers N., Mittermeier R.A., Mittermeier C.G., Da Fonseca G.A. & Kent J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, 853-858.
- Oksanen J., Blanchet F., Kindt R., Legendre P., Minchin P.R., O'Hara R.B., Simpson G.L., Solymos P., Stevens M.H.H. & Wagner H., 2013. Vegan: Community Ecology. R package version 2.0-9.
- Oliveira R.B., Baptista D.F., Mugnai R., Castro C.M. & Hughes R.M., 2011. Towards rapid bioassessment of wadeable streams in Brazil: Development of the Guapiaçu-Macacu Multimetric Index (GMMI) based on benthic macroinvertebrates. *Ecol. Indic.* 11, 1584-1593.
- Olsen A.R. & Peck D.V., 2008. Survey design and extent estimates for the Wadeable Streams Assessment. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 27, 822-836.
- Paz A., Moreno P., Rocha L & Callisto M., 2009. Efetividade de Áreas Progidas na conservação da qualidade das águas e biodiversidade aquática em sub-bacias de referência no Rio das Velhas (MG). *Neotrop. Biol & Conserv.*, 3, 149-158.
- Peck D.V., Herlihy A.T., Hughes R.M., Kaufmann P.R., Klemm D.J., Lazorchak J.M., McCormik F.H., Peterson S.A., Ringold P.L., Magee T. & Cappaert M.R., 2006. Environmental Monitoring and Assessment Program – Surface Waters Western Pilot Study: Field Operations Manual for Wadeable Streams. - EPA 600/R-06/003. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development. Washington, DC.
- Pérez G.R., 1988. Guía para el estudio de los macroinvertebrados acuáticos del Departamento de Antioquia, Colombia, Bogotá. Editorial Presencia Ltda. 217p.
- Primack, R. B. & E. Rodrigues. 2001. Biologia da Conservação. Londrina, Ed. Planta, 328 p.

- R Development Core Team., 2012. R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Roberts D.W., 2013. *Labdsv*: Ordination and multivariate analysis for Ecology. R package version 1.6-1.
- Sala O.E., Chapin F.S., Armesto J.J., Berlow E., Bloomfield J., Dirzo R., Huber-Sanwald E., Huenneke L.F., Jackson R.B. & Kinzig A., 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*, 287, 1770-1774.
- Salles F.F., 2006. A ordem Ephemeroptera n Brasil: taxonomia e diversidade (Tese).
- Shimano Y., Cabette H.S., Salles F.F. & 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 & Cabette H.S.R., 2013a. Environmental and spatial processes determining Ephemeroptera (Insecta) structures in tropical streams. *Ann. Limnol.*, 49, 31-41.
- Shimano Y., Salles F.F., Juen L. 2013b. Study of the mayfly order Ephemeroptera (Insecta) in Brazil: a scientometric review. *Rev. Braz. Entomol.*, 57, 6p.
- Silveira M.P., Buss D.F., Baptista D. F. & Nessimian J.L., 2006. Spatial and Temporal Distribution of Benthic Macroinvertebrates in a Southeastern Brazilian River. *Braz. J. Biol.* 66, 623-632.
- Souza H.M. d. L., Cabette H. S. & Juen L., 2011. Baetidae (Insecta, Ephemeroptera) of Cerrado streams in the state of Mato Grosso, Brazil, under different levels of environmental preservation. *Iheringia*, 101, 181-190.
- Strahler A.N., 1957. Quantitative analysis of watershed geomorphology. *Trans. Am. Geophys.*, 38, 913-920.
- Stoddard J.L., Herlihy AT., Peck D.V., Hughes R.M., Whittier T.R. & Tarquinio E., 2008. A process for creating multimetric indices for large-scale aquatic surveys. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 27, 878-891.
- StatSoft, Inc., 2004. STATISTICA (data analysis software system), version 7. Available at: <https://www.statsoft.com/>.
- Suriano M.T.; Fonseca-Gessner A.A.; Roque F.O. & Froehlich C.G., 2011. Choice of macroinvertebrate metrics to evaluate stream conditions in Atlantic Forest, Brazil. *Environ. Monit. Assess.* 175, 87-101.
- SYSTAT Software Inc., 2013. SYSTAT version 13.0 SYSTAT Software Inc., Chicago, IL.

- Tundisi J.G. & Matsumura-Tundisi T., 2008. A Ecologia dinâmica das populações e comunidades animais aquáticas *In:* Tundisi J.G. & Matsumura-Tundisi T. (eds.), Limnologia., Oficina de textos, São Paulo. 209-246.
- Vannote R.L.; Mishall G.W.; Cummins K.W.; Sedell J.R. & Cushing C.E., 1980. The river continuum concept. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 37, 130-137.
- Wantzen K.M., 2003. Cerrado streams - characteristics of a threatened freshwater ecosystem type on the tertiary shields of South America. *Amazoniana*, 17, 485-502.
- Wantzen K.M., Siqueira A., Nunes da Cunha C. & Sá M.F.P., 2006. Stream-valley of the Brazilian Cerrado: impact assessment and conservation scheme. *Aquat. Conserv.: Mar. Fresh. Ecosyst.* 16, 713-732.
- Woodward G., Gessner M.O., Giller P.S., Gulis V., Hladyz S., Lecerf A., Malmqvist B., Mckie B.G., Tiegs S.D., Cariss H., Dobson M., Eloegi A., Ferreira V., Graça M.A.S., Fleituch T., Lacoursière J.O., Nistorescu M., Pozo J., Risnoveanu G., Schindler M., Vadineanu A., Vought L.B.M. & Chauvert E., 2012. Continental-scale effects of nutrient pollution on stream ecosystem functioning. *Science*. 336, 1438-1440.
- Zar J. H., 1999. Biostatistical Analysis. Prentice-Hall, New Jersey, USA.

# Ephemeroptera as indicators of ecological conditions of tropical headwater streams

## Abstract

Human activities at different spatial scales can exert a negative influence on the taxonomic richness and individual abundances of Ephemeroptera assemblages in streams. The objective of this study was to assess the effects of site human disturbances on Ephemeroptera assemblages. We sampled 80 headwater streams in two river basins of the Brazilian Cerrado. We expected that: 1) Ephemeroptera genera richness would decrease due to disturbances operating at both catchment and local spatial scales; 2) genera sensitive to environmental degradation would be found in the least-disturbed sites, whereas tolerant genera would prevail in the most-disturbed sites; and 3) the composition of the assemblages in the least-disturbed sites would differ from that in the most-disturbed sites. We collected 15,824 Ephemeroptera nymphs of seven families and 39 genera. Land use metrics (% agriculture and % pasture) had the strongest negative influence on assemblage richness. The genera *Aturbina* and *Cloeodes* (Baetidae), and *Farrodes*, *Miroculis* and *Ulmeritoides* (Leptophlebiidae) were indicators of least-disturbed streams. Taxonomic composition and relative abundances were significantly different between least- and the most-disturbed sites. However, in the basin with a weak disturbance gradient (i.e., small difference in the disturbance status between least- and most-disturbed sites) no disturbance variable could explain richness variability and no significant difference could be detected between the ecological conditions of the assemblages. Our results suggest that Ephemeroptera assemblages can be efficient bioindicators of stream ecological conditions of Cerrado streams. However, this efficiency may be conditioned to the strength of the disturbance gradient of the compared sites.

**Keywords:** spatial scales, disturbance gradients, indicator taxa, Cerrado.

## **Introduction**

The disturbance caused by human activities compromises water quality for human use as well as for the maintenance of aquatic biodiversity (Vörösmarty *et al.*, 2010). Degradation gradients are observed at different spatial scales in the aquatic landscape and affect both organisms and ecological processes (Leuven and Poudevigne, 2002). Particularly, Tropical rivers and streams located in developing countries have suffered the effects of alterations of the land use in their catchments (Boyero *et al.*, 2009). The main impacts caused by changes in land use are the increase in the input of nutrients, sediments, and pollutants carried to aquatic ecosystems (Sala *et al.*, 2000; Buck *et al.*, 2004; Woodward *et al.*, 2012). This leads to a decrease in habitat availability and, consequently, to impacts on aquatic communities (Allan, 2004). In Brazil, activities related to agriculture, livestock ranching, urbanization, and deforestation alter strongly the streams located in the Cerrado (tropical savannah) biome, modifying their margins and riverbeds, as well as the physical and chemical characteristics of the water (Wantzen *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2011). The Cerrado is the second largest Brazilian biome and, due to intensive degradation and high species diversity and endemism, it is considered a global biodiversity hotspot (Myers *et al.*, 2000). Therefore, to conserve Cerrado biodiversity it is important to understand the effects of human disturbances on stream biota.

Benthic macroinvertebrates are frequently used in biomonitoring programs in streams (Feio *et al.*, 2007; Hughes and Peck, 2008; Suriano *et al.*, 2011). They are considered good indicators, because they reflect the processes that occur in ecosystems and have different sensitivities and tolerances to stressors (Galdean *et al.*, 2000; Bonada *et al.*, 2006). Insects of the orders Ephemeroptera, Plecoptera, and Trichoptera (EPT) are known for their sensitivity to pollution and habitat degradation (Rosenberg and Resh, 1993; Stoddard *et al.*, 2008), and so are used in several ecological assessment approaches (Encalada *et al.*, 2010; McCabe *et al.*, 2012; Juen *et al.*, 2013). Among the EPT, the Ephemeroptera stand out as the most abundant and diverse group, inhabiting both lentic and lotic ecosystems. This insect order present species with different tolerances to human disturbances, and in all trophic groups (Barber-James *et al.*, 2008). Because of these characteristics, this group has been used frequently as an ecological indicator (Buss and Salles, 2007; Shimano *et al.*, 2010; Lock and Goethals, 2011; Souza *et al.*, 2011). In biomonitoring programs, least-disturbed streams may represent the best

possible conditions of the ecosystems of a given region (Stoddard *et al.*, 2006). They may serve as reference conditions for comparison with the conditions of test sites, as proposed by the Reference Condition Approach – RCA (Hughes *et al.*, 1986; Bailey *et al.*, 2004). Groups of least- and most-disturbed sites are actually extremes of a gradient of disturbance conditions in the streams of a given region. Thus, to be useful ecological indicators, assemblage metrics should be capable of responding to human alterations at many spatial scales (Klemm *et al.*, 2003; Moreno *et al.*, 2009; Feio and Poquet, 2011).

The objective of this study was to test the effect of human disturbance on Ephemeroptera assemblages. We worked with the hypothesis that human alterations negatively affect Ephemeroptera assemblages. In this sense, we expected that: 1) Ephemeroptera genera richness would decrease in response to disturbances operating at both catchment and local spatial scales; 2) genera sensitive to environmental degradation would be found in the least- disturbed sites, whereas tolerant genera would prevail in the most-disturbed sites; and 3) the composition of the assemblages in the least-disturbed sites would differ from that in the most-disturbed sites. In this manner we aimed to assess the suitability of Ephemeroptera assemblages as potential bioindicators of ecological conditions in Cerrado streams.

## **Material and Methods**

### *Study area and selection of sampling sites*

We sampled 80 headwater stream sites (first to third orders, *sensu* Strahler, 1957) in the Cerrado: 40 sites in the Upper Araguari River Basin and 40 sites in the Upper São Francisco River Basin (Minas Gerais State, southeastern Brazil, Fig. 1). Sampling was carried out in September 2009 and September 2010 (end of the dry season in the Cerrado). The sites were located up to 35 km upstream of the first large hydropower dams of each basin (Nova Ponte in the Upper Araguari River Basin, and Três Marias, in the Upper São Francisco River Basin). Site selection employed a probabilistic spatial model (following Olsen and Peck, 2008) used by the U.S. Environmental Protection Agency (US-EPA) in its regional and national biomonitoring programs (Klemm *et al.*, 2003; Hughes and Peck, 2008). This method assures a spatially balanced distribution of the sites in the studied region.

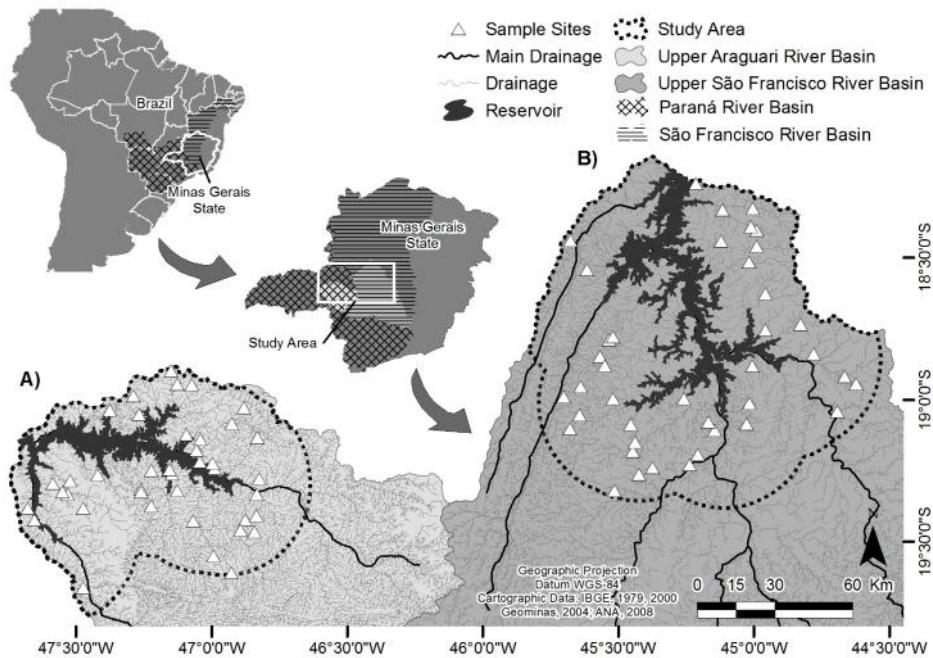


Figure 1. Location of the basins and stream sites sampled. Upper Araguari River Basin (A) and Upper São Francisco River Basin (B).

#### *Physical habitats and benthic invertebrate sampling*

We assessed the characteristics of the physical habitat following a protocol developed by the US-EPA (Peck *et al.*, 2006). To determine the size of the site to be sampled, we multiplied the average wetted width by 40, with a minimum site length of 150m. In each site, we placed 11 equidistant transects. In each transect we measured ten characteristics related to human disturbances carried out in the streambed or near the riparian zone (revetment, buildings, pavement, road, pipes, trash, lawn, row crops, pasture, logging operations). The limnological and habitat variables measured are summarized in the Table 1.

Table 1. Variables (Mean  $\pm$  SD) measured in 80 stream sites in the Upper Araguari and Upper São Francisco river basins during September 2009 and 2010, respectively.

Variables	Upper Araguari	Upper São Francisco
Altitude (m)	885.0 $\pm$ 42.0	654.0 $\pm$ 60.0
Depth (cm)	21.0 $\pm$ 10.0	28.0 $\pm$ 12.0
Wetted Width (m)	2.5 $\pm$ 1.1	3.8 $\pm$ 2.4
Dissolved oxygen (mg/L <sup>-1</sup> )	7.5 $\pm$ 1.2	7.7 $\pm$ 2.9
pH	6.9 $\pm$ 0.5	7.7 $\pm$ 0.5

We sampled macroinvertebrates with a D-net (30 cm wide mouth, 500  $\mu\text{m}$  mesh, and 0.09 m<sup>2</sup> of area), and took one sub-sample per transect (Peck *et al.*, 2006). We followed a systematic zigzag pattern along transects in order to sample the predominant habitats of each site. We grouped all 11 sub-samples into a single pooled sample for each site (approximately 1m<sup>2</sup> of total sampled area per site). We fixed the samples in the field with 10% formalin. In the laboratory, samples were washed in a 500  $\mu\text{m}$  sieve and then stored in 70% alcohol.

#### *Identification of Ephemeroptera nymphs*

We identified Ephemeroptera nymphs under a stereomicroscope (80x) to genus using specialized identification keys (Da-Silva *et al.*, 2002; Salles *et al.*, 2004; Domínguez *et al.*, 2006; Falcão *et al.*, 2011; Boldrini *et al.*; 2012). All specimens were deposited in the reference collection of benthic macroinvertebrates of the Laboratório Ecologia de Bentos, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.

#### *Data analysis*

##### *General characteristics of the assemblages*

To test for differences in genera richness and number of individuals of Ephemeroptera assemblages between median richness of the two basins, we used the t-test for independent samples. Assumptions of data normality and homogeneity of variances were tested *a priori* (Zar, 1999). We conducted these analyses through use of STATISTICA 7 (StatSoft, 2004). We also calculated accumulation

curves (based on number of stream sites and number of individuals collected) for both basins using R software (R Development Core Team 2013), package *vegan* (Oksanen *et al.*, 2013).

#### *Influence of environmental disturbances on the assemblages at two spatial scales*

We assessed two levels of disturbance, following Ligeiro *et al.* (2013). We used the ten observations of human influences included in the field protocol, weighted according to their distances to the stream bed (Kaufmann *et al.*, 1999), as measurements of the intensity of disturbances at the local scale. To assess the intensity of disturbances at the catchment scale, we used the proportions of land use categories observed in the drainage areas of the sites (% pasture, % agricultural, % urban, and % *Eucalyptus* monoculture). We obtained these values from a pooled interpretation of satellite images (GIS) and high-resolution spectral images (Câmara *et al.*, 1996). We emphasize that, to measure the relationship between anthropogenic alterations and Ephemeroptera assemblages, we worked only with variables that explicitly represent human activities (e.g., % catchment agriculture, presence of trash near the stream etc). We did not work with variables related to the effects of these activities on the fluvial habitats (e.g., nutrient concentration, substrate size etc) because habitat variation is also influenced by unknown natural gradients (King *et al.*, 2005; Gerth and Herlihy, 2006; Macedo *et al.*, In Press).

We used the disturbance variables at both scales as factors in a multiple linear regression, with the richness of Ephemeroptera genera as the dependent variable. We made separate analyses for each basin. First, we generated Pearson correlation matrices to check for collinearity among predictor variables. We excluded redundant variables ( $r > 0.8$ ), the choice of variables based on their ecological importance. Variables of low frequency in the dataset (containing fewer than 5 non-zero values) were also excluded. Next, we conducted multiple regression analyses, in which we sought the best subset composed of a maximum of 4 explanatory variables (to avoiding model-overfitting), based on the corrected Akaike Information Criteria (AICc) (Burnham and Anderson, 2002). This AICc is more appropriate for a small number of sites. We checked in each basin to determine if the number of factors in the multiple regressions could be reduced

(i.e., be fewer than four). If the difference between the AICc values of two models ( $\Delta$ AICc) was  $> 2$ , the reduced model was considered preferable (Burnham and Anderson, 2002). These analyses were conducted through use of SYSTAT 13 (SYSTAT software, 2013).

#### *Determination of the least- and the most-disturbed sites*

In a previous study, the sampled sites were ranked according to their intensities of human disturbances (Ligeiro *et al.*, 2013) and for each site an index was calculated incorporating evidences of human alterations at local and catchment scales. In each basin, we included in the category of least-disturbed sites the six sites with the lowest index values, and in the category of most-disturbed sites the six sites with the highest index values. Sites with intermediate levels of disturbance usually show high physical and biological variation (Stoddard *et al.*, 2008). Hence, we did not include those sites in the analyses given the difficulty of observing clear patterns in assemblage structure and composition. We aimed to specifically assess the differences between the two extremes of the disturbance gradient. In Ligeiro *et al.* (2013) the most-disturbed sites in the Upper Araguari River basin had higher values of the disturbance index than the most-disturbed sites of the Upper São Francisco River basin. Consequently, a greater difference in the disturbance conditions (i.e., a stronger disturbance gradient) between the least- and most-disturbed sites existed in the former basin.

#### *Determination of indicator taxa*

In each basin, we determined indicator taxa (Dufrêne and Legendre, 1997) of ecological conditions using the assemblage composition of the least- and the most-disturbed sites. The indicator values (IndVal) obtained in each analysis were tested for statistical significance through a Monte Carlo procedure (10,000 permutations). The analysis was carried out in R software (R Development Core Team, 2012), package *labdsv* (Roberts, 2013).

### *Ephemeroptera dissimilarity between different disturbance conditions*

In each basin, the least- and most-disturbed groups of sites were ordered through use of non-metric multidimensional scaling (NMDS), using the PRIMER 6 software (Clarke and Gorley, 2006). We used as dissimilarity measurements the Jaccard index, comprising only information about genera composition, and the modified Gower distance (Anderson *et al.*, 2006), comprising both genera composition and relative abundances. We transformed abundance values into  $\log_2 X + 1$ ; null values were maintained as 0 (Anderson *et al.*, 2006). Finally, we tested for the dissimilarity among assemblages between the groups using a permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA, Anderson, 2001) in R software, package *vegan*.

## **Results**

### *General characteristics of the assemblages sampled*

We identified 3,291 nymphs ( $82.28 \pm 130.64$ ) into five families and 30 genera, ( $6.73 \pm 8.84$ ) in the Upper Araguari River Basin, and 12,533 nymphs ( $313.33 \pm 356.71$ ) into seven families and 35 genera ( $11.38 \pm 5.42$ ) in the Upper São Francisco River Basin (Appendix 1). Accumulation curves relative to sites and individuals tended to stabilize in both basins (Fig. 2 A-B). We found the highest taxonomic richness ( $t = -4.049$ ,  $df = 78$ ,  $p < 0.001$ ) and abundance of organisms ( $t = -3.847$ ,  $df = 78$ ,  $p < 0.001$ ) in sites of the Upper São Francisco River Basin.

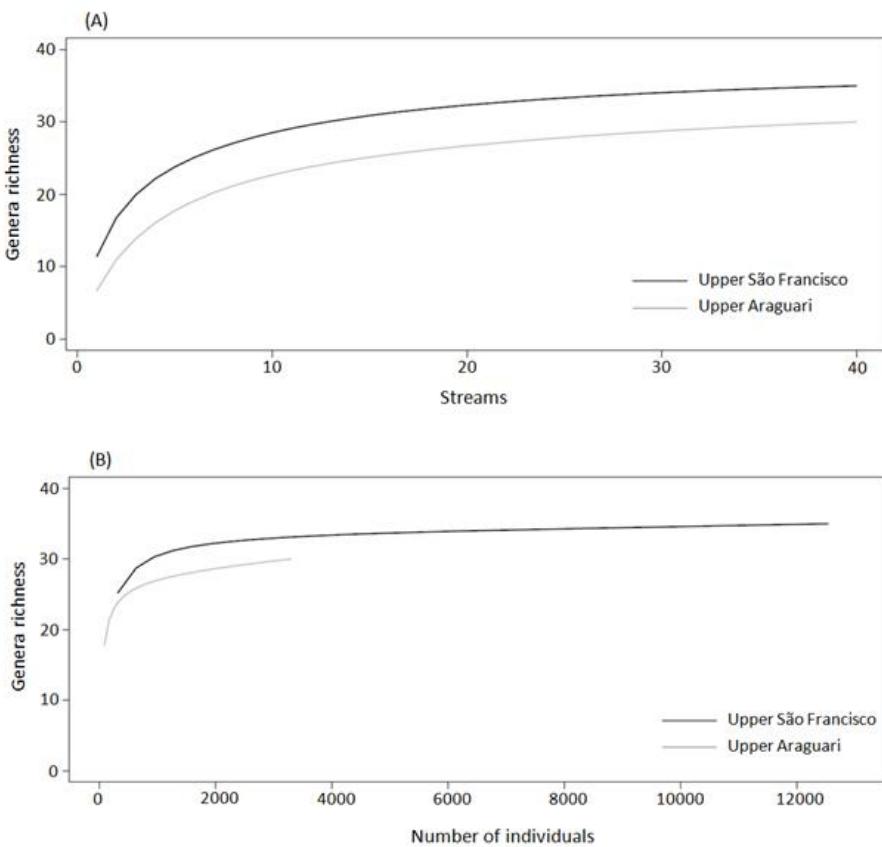


Figure 2. Accumulation curves based on streams sites (A) and number of individuals collected (B) for the Upper Araguari and Upper São Francisco River Basins.

The most abundant genera in the Upper Araguari River Basin sites were *Americabaetis*, *Cloeodes* (Baetidae), *Caenis* (Caenidae), *Traverhyphes*, *Tricorythopsis* (Leptohyphidae), and *Thraulodes* (Leptophlebiidae), which represented 71% of the individuals collected. The rare genera were *Callibaetis*, *Rivudiva* (Baetidae), *Campylocia* (Euthyploeciidae), *Hydrosmilodon*, *Hylister*, *Terpides*, and *Traverella* (Leptophlebiidae), which represented together less than 1% of the individuals identified.

The most abundant genera in the Upper São Francisco River Basin sites were *Americabaetis*, *Callibaetis*, *Cloeodes* (Baetidae), *Caenis* (Caenidae), *Traverhyphes* (Leptohyphidae), *Farrodes*, and *Thraulodes* (Leptophlebiidae), which represented 73% of the individuals collected. The rare genera were *Spiritiops* (Baetidae), *Latineosus* (Caenidae), *Hexagenia* (Ephemeridae), *Askola*, *Needhamella*, and *Terpides* (Leptophlebiidae), which represented less than 1% of the nymphs identified. We collected Ephemeridae (*Hexagenia*: N = 6) and Polymitarcyidae (*Asthenopus*: N = 56, and *Campsurus*: N = 88) only in the Upper São Francisco River Basin.

### *Influence of anthropogenic disturbance at two spatial scales*

Ephemeroptera genera richness was negatively influenced mostly by disturbances at the catchment scale, but only in the upper Araguari basin (Table 2). Based on the AICc values of the models, we considered the best model the one containing two explanatory variables. It included only percentages of catchment agriculture and pasture. For the upper São Francisco no model was significant (Table 2).

Table 2. Results of multiple regressions with Ephemeroptera richness as the response variable and local (L) and catchment (C) disturbance as predictor variables.

River Basin	F value	Degrees of freedom	R-square	Land use	Scale	Beta	Std. err. of beta	AICc	DAICc
Upper Araguari	11.67 ***	4,35	0,57	agricultural	C	-0,72	0,13	219,24	-
				pasture	C	-0,73	0,14		
				revetment	L	-0,40	0,16		
				pipes	L	0,27	0,16		
	13.99 ***	3,36	0,54	agricultural	C	-0,74	0,14	219,43	0,20
				pasture	C	-0,70	0,14		
				revetment	L	-0,22	0,12		
	17.97 ***	2,37	0,49	agricultural	C	-0,75	0,14	220,59	1,36
				pasture	C	-0,74	0,14		
	9.20 **	1,38	0,19	trash	L	-0,44	0,15	236,58	17,35
Upper São Francisco	1,41	4,35	0,14	agricultural	C	-0,18	0,16	256,26	-
				pasture	C	-0,20	0,16		
				buildings	L	0,17	0,16		
				trash	L	-0,29	0,16		

\*p < 0.05; \*\*p < 0.01; \*\*\*p < 0.001

### *Indicator taxa of ecological conditions*

In the Upper Araguari River Basin, we found indicator genera only for the least-disturbed sites: *Aturbina* (IndVal = 0.83; p = 0.015), *Cloeodes* (IndVal = 0.83; p = 0.015), *Miroculis* (IndVal = 0.83; p = 0.016), *Farrodes* (IndVal = 0.80; p = 0.05), and *Ulmeritoides* (IndVal = 0.80; p = 0.044). In the Upper São Francisco River Basin, we found no indicators of any ecological condition.

### *Dissimilarity of the assemblages between least- and most-disturbed sites*

We observed significant assemblage differences only in the Upper Araguari River Basin, both for the taxonomic composition (PERMANOVA, Jaccard:  $F_{(1,10)} = 3.682$ ,  $p < 0.001$ ) and genera relative abundance (PERMANOVA, Modified Gower:  $F_{(1,10)} = 2.584$ ,  $p = 0.018$ ) (Fig. 3 A-B). In the Upper São Francisco River Basin, the assemblages of least- and most-disturbed sites did not differ in taxonomic composition (PERMANOVA Jaccard:  $F_{(1,10)} = 1.423$ ,  $p = 0.161$ ) or relative abundance (PERMANOVA Modified Gower:  $F_{(1,10)} = 1.468$ ,  $p = 0.213$ ) (Fig. 3 C-D).

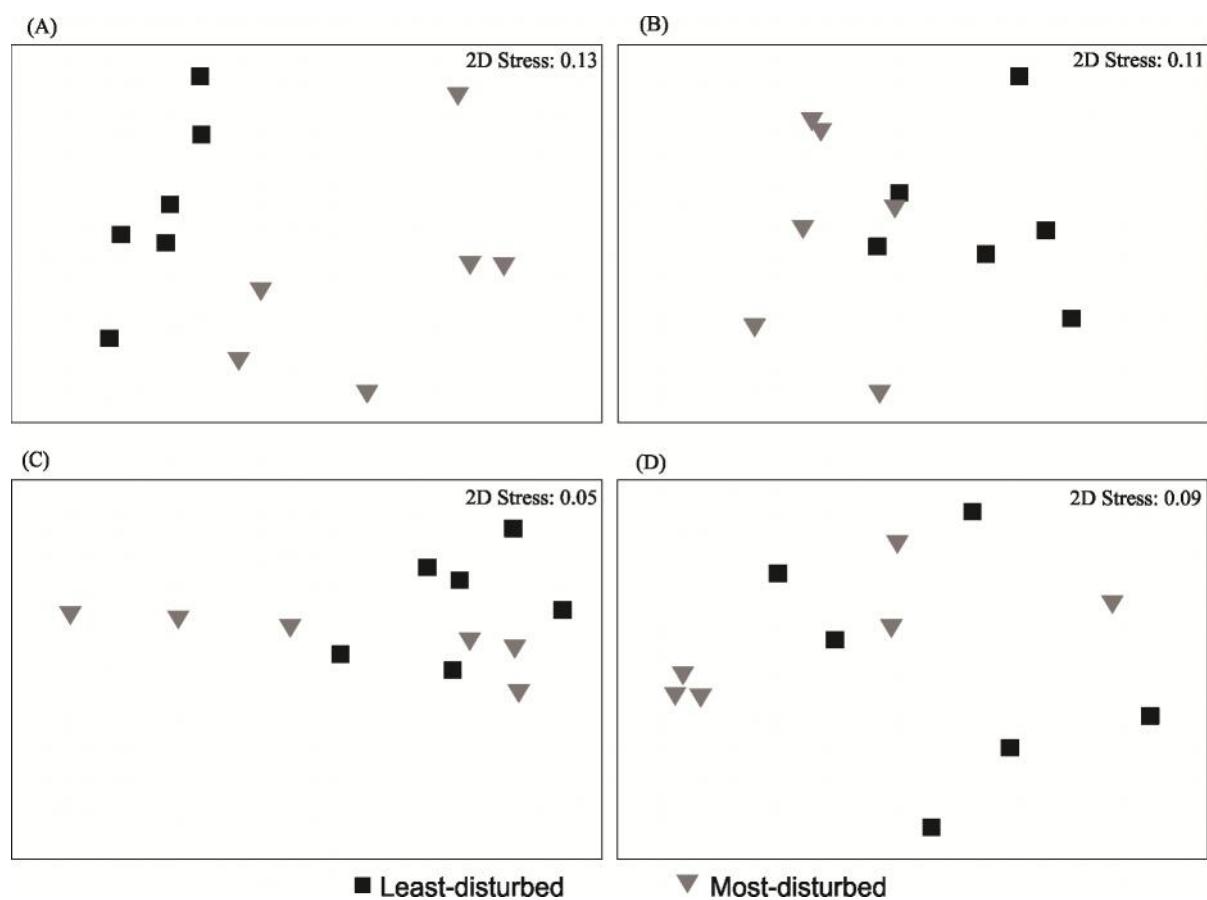


Figure 3. NMDS ordination for Ephemeroptera assemblages based on Jaccard dissimilarity (A) and modified Gower distance (B) in the Upper Araguari River Basin, and Jaccard dissimilarity (C) and modified Gower (D) in the Upper São Francisco River Basin.

## **Discussion**

### *Ephemeroptera assemblages*

The Ephemeroptera is one of the most diverse macroinvertebrate groups in lotic environments (Barber-James *et al.*, 2008). In Brazil, 73 genera distributed in 10 families have been observed (Salles, 2013). Hence, the 39 genera identified in the studied river basins represent approximately 53% of all genera recorded for Brazil. In the present study, we observed that the families with the greatest number of genera and abundance of organisms were Baetidae and Leptophlebiidae, a pattern also observed in other studies in tropical streams (Bispo *et al.*, 2006; Jacobsen *et al.*, 2008; Shimano *et al.*, 2010).

The genera accumulation curves based on number of sites sampled approached an asymptote in both basins, indicating that the sampling effort was sufficient for representing the Ephemeroptera genera richness of the basins (Siegloch *et al.*, 2012). The number of individuals collected was higher in the Upper São Francisco River Basin, and the genera accumulation curves according to the number of individuals stabilized in this basin. On the other hand, the number of individuals collected in the Upper Araguari River Basin was much smaller, despite the number of sites and sampled area per site be the same in both basins. These patterns illustrate the difficulty of representing taxonomic richness in different environments and regions (Gotelli and Cowell, 2001).

### *Influence of anthropogenic disturbance on assemblages at two spatial scales*

In this study, only disturbance variables at the catchment scale significantly reduced Ephemeroptera genera richness, and only in the Upper Araguari basin. The various types of land uses, including agriculture, pasture, and urbanization, are known to alter streams and consequently negatively affect biological assemblages (Allan, 2004; Wantzen *et al.*, 2006). Klink and Machado (2005) highlighted the negative effects of different land uses on the biodiversity of aquatic ecosystems in the Cerrado. In our study, the percentage of catchment areas used for agriculture and pasture were the strongest predictors of Ephemeroptera richness. Allan (2004) highlighted that streams located in river basins with intensive agriculture harbor fewer taxa that are sensitive to environmental degradation, both for invertebrates and fish. This change in the species

richness reflects stream degradation caused by diffuse pollution (Carpenter *et al.*, 1998), suppression of riparian vegetation (Encalada *et al.*, 2010; Suga and Tanaka, 2013), flow alteration, and loss of fluvial habitats (Bunn and Arthington, 2002). In addition, pasture activities can change water quality, discharge regime, riparian vegetation cover and soil compaction (Agouridis *et al.*, 2005), which also can result in loss of stream biodiversity. Similar to our study, Magierowski *et al.*, (2012) found lower macroinvertebrate richness, including Ephemeroptera richness, in Tasmanian streams impaired by pasture activities. Although in the present study most of the variation in Ephemeroptera genera richness was explained by regional variables of disturbance, there are studies that report strong influence of local evidences of human disturbance (e. g., Death and Joy, 2004).

#### *Indicator taxa of ecological conditions*

In the Upper Araguari, we observed five indicators genera for sites in least-disturbed condition. Other studies have found some similar indicator genera. In the present study, *Cloeodes* and *Aturbina* (Baetidae) were sensitive to anthropogenic disturbances. Buss and Salles (2007), in a study focused on the family Baetidae in tropical rainforest streams, classified *Cloeodes irvingi* as sensitive to human alterations. The family Leptophlebiidae has been considered highly sensitive to human alterations in Cerrado streams (Junqueira *et al.*, 2000). In our study, the genera *Ulmeritoides*, *Miroculis* and *Farrodes* were indicators of least-disturbed conditions. Other Leptophlebiidae genera, such as *Hydrosmilodon*, *Hylister*, *Traverella* and *Needhamella*, were found only in least-disturbed sites, but at low frequencies and abundances. Because they were rare in our streams, they could not be considered truly indicators of good ecological conditions (Dufrêne and Legendre, 1997; Romero *et al.*, 2013).

Our results revealed the presence of several generalist genera, i.e., genera that occurred at sites regardless of their disturbance condition. Most genera of the family Baetidae behaved as generalists (except for *Aturbina* and *Cloeodes*). Baetidae nymphs are found in several types of habitats and dissolved oxygen concentrations, and usually are classified as generalists, being present in a broad spectrum of environmental conditions (Domínguez *et al.*, 2006; Buss and Salles, 2007; Souza *et al.*, 2011). Although in our study *Aturbina* was considered an indicator of least-disturbed conditions, nymphs of this genera have been found elsewhere in several types of

conditions, from rivers in forests to areas under some kind of impact, and even in streams without riparian vegetation (Domínguez *et al.*, 2006).

#### *Dissimilarity between least- and most-disturbed sites*

Only in the Upper Araguari River Basin did the composition of assemblages of most- and least-disturbed sites differ. Buss *et al.* (2004) pointed out stream siltation as a main reason of changes in macroinvertebrate assemblage composition in streams. They found that the increase in the load of fine sediments in the stream bottom resulted in a replacement of EPT taxa by others, like Mollusca and Odonata. Wood and Armitage (1997) emphasized that the types of land use (e.g., agriculture and pasture) are responsible for siltation, along with natural landscape characteristics, such as topography and type of vegetation. We did not assess directly the amount of sediment inputs into streams but, because agriculture and pasture activities were deemed responsible for richness impoverishment in Upper Araguari streams, silt from those sources may be responsible for the decrease of sensitive taxa and changes in assemblage composition in the most-disturbed sites of this basin.

The percentage of urban land use was low in the catchments of the sites of both river basins. However, the higher proportion of agricultural land use observed in the Upper Araguari River Basin engendered a stronger disturbance gradient in this basin (Ligeiro *et al.*, 2013). Our results demonstrated that the greater differences in the disturbance index values observed between the most- and least-disturbed sites of the Upper Araguari River Basin facilitated distinguishing between the Ephemeroptera assemblages of these two ecological conditions. On the other hand, in the Upper São Francisco River Basin, the differences in the disturbance index values between most- and least-disturbed sites were smaller, which resulted in low dissimilarity between assemblages. This also was evident in the multiple regression and in the indicator taxa analyses. Thus, we can infer that when the disturbance gradient is weak (small difference in disturbance intensity between sites), the structure and composition of assemblages are weakly explained by disturbance variables. In those cases, the assemblages can be more strongly related to natural variations in fluvial habitats (Allan, 2004; Ligeiro *et al.*, 2013).

### *Conclusion*

In contrast with other studies linking Ephemeroptera assemblages with environmental gradients (e.g., Li *et al.*, 2012; Juen *et al.*, 2013; Shimano *et al.*, 2013), our study focused on the relationship between Ephemeroptera and human disturbance variables at two spatial scales. The predictions of our initial hypothesis were corroborated only in the Upper Araguari River Basin and only in the catchment scale, where the disturbance gradient was more evident. In the Upper São Francisco River basin we could not differentiate between the assemblages of most- and least-disturbed sites for any analytical approach used. In conclusion, Ephemeroptera assemblages are efficient bioindicators of ecological conditions in Cerrado headwater streams. However, their performance can be reduced if there is little difference in the disturbance status of the compared sites.

### **Acknowledgments**

We acknowledgement the financial support by CEMIG-Programa Peixe Vivo, CAPES, CNPq, and FAPEMIG. Frederico Falcão Salles (UFES) trained the first author and confirmed genera identification. Diego Rodrigues Macedo (ECMVS-UFMG) conducted the land-use analyses. Colleagues of the Laboratory of Benthic Ecology(UMG), CEFET-MG, Universidade Federal de Lavras (UFLA) and Pontifícia Universidade Católica (PUC-MG) helped in fieldwork and sample processing. Discussions made during the "Workshop on Ecological Assessment: the Foundation for Evaluating Biological Patterns" (3-7 October, 2011, US EPA Western Ecolgy Division, Corvallis, OR, USA) contributed to the present study. MC received there search grant and research fellowship from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq Nº 471385/2011-5, 473966/2013-3, 302960/2011-2), and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG Nº PPM-0077/13).

### **References**

- Agouridis C.T., Workman S.R., Warner, R.C. and Jennings G.D., 2005. Livestock grazing management impacts on stream water quality: a review. *J. Am. Water Resour. Assoc.*, 41, 591-606.
- Allan J.D., 2004. Landscapes and riverscapes: the influence of land use on stream ecosystems. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 35, 257-284.

- Anderson M.J., 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecol.*, 26, 32-46.
- Anderson M.J., Ellingsen K.E. and McArdle B.H., 2006. Multivariate dispersion as a measure of beta diversity. *Ecol. Lett.*, 9, 683-693.
- Bailey R.C., Norris R.H. and Reynoldson T.B., 2004. Bioassessment of freshwater ecosystems using the Reference Condition Approach. Kluwer Academic Publ., Norwell, 170 p.
- Barber-James H.M., Gattoliat J.L., Sartori M. and Hubbard M.D., 2008. Global diversity of mayflies (Ephemeroptera, Insecta) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595, 339-350.
- Bispo P., Oliveira L., Bini L. and Sousa K., 2006. Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera assemblages from riffles in mountain streams of Central Brazil: environmental factors influencing the distribution and abundance of immatures. *Braz. J. Biol.*, 66, 611-622.
- Boldrini R., Cruz P.V., Salles F.F., Belmont, E.L. and Hamada N., 2012. Baetidae (Insecta: Ephemeroptera) from northeastern Brazil. *Check List*, 8, 88-94.
- Bonada N., Prat N., Resh, V.H. and Statzner, B., 2006. Developments in aquatic insect biomonitoring: a comparative analysis of recent approaches. *Annu. Rev. Entomol.*, 51, 495-523.
- Boyero L., Ramírez A., Dudgeon D. and Pearson R. G., 2009. Are tropical streams really different? *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 28, 397-403.
- Buck O., Niyogi D.K. and Townsend, C.R., 2004. Scale-dependence of land use effects on water quality of streams in agricultural catchments. *Environ. Pollut.*, 130, 287-299.
- Bunn S.E. and Arthington A.H., 2002. Basic principles and ecological consequences of altered flow regimes for aquatic biodiversity. *Environ. Manage.*, 30, 492-507.
- Burnham K., and Anderson D., 2002. Model Selection and Multi-Model Inference: a practical information-theoretic approach. Springer, New York, 488 p.
- Buss D.F., Baptista D.F., Nessimian J.L. and Egler M., 2004. Substrate specificity, environmental degradation and disturbance structuring macroinvertebrate assemblages in neotropical streams. *Hydrobiologia*, 518, 179-188.

- 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.
- Câmara G., Souza R.C.M., Freitas U.M. and Garrido J., 1996. SPRING: Integrating remote sensing and GIS by object-oriented data modelling. *Comput. Graph.*, 20, 395-403.
- Carpenter S.R., Caraco N.F., Correll D.L., Howarth R.W., Sharpley A.N. and Smith V. H., 1998. Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecol. Appl.*, 8, 559-568.
- Clarke K.R. and Gorley R.M., 2006. PRIMER: user manual, Version 6. Plymouth Marine Laboratory, Plymouth, 192 p.
- Colwell, R. K. 2006. StimateS: Biodiversity Estimation Software. Version 8.2.
- Da-Silva E.R., Salles F.F. and Baptista M., 2002. As brânquias dos gêneros de Leptophlebiidae (Insecta: Ephemeroptera) ocorrentes no Estado do Rio de Janeiro. *Biota Neotrop.*, 2, 1-4.
- Death R.G. and Joy M.K., 2004. Invertebrate community structure in streams of the Manawatu Wanganui region, New Zealand: the roles of catchment versus reach scale influences. *Freshwater Biol.*, 49, 982-997.
- Domínguez E., Molineri C., Pescador M.L., Hubbard M.D. and Nieto C., 2006. Ephemeroptera of South America. Pensoft Publ., Moscow, 646 p.
- Dufrêne M. and Legendre P., 1997. Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach. *Ecol. Monogr.*, 67, 345-366.
- Encalada A.C., Calles J., Ferreira V., Canhoto C.M. and Graça M.A.S., 2010. Riparian land use and the relationship between the benthos and litter decomposition in tropical montane streams. *Freshwat. Biol.*, 55, 1719-1733.
- Falcão J.N., Salles F.F. and Hamada N., 2011. Baetidae (Insecta, Ephemeroptera) ocorrentes em Roraima, Brasil: novos registros e chaves para gêneros e espécies no estágio ninfal. *Rev. Bras. Entomol.*, 55, 516-548.
- Feio M.J. and Poquet J.M., 2011. Predictive models for freshwater biological assessment: Statistical approaches, biological elements and the Iberian Peninsula Experience: a review. *Int. Rev. Hydrobiol.*, 96, 321-346.

- Feio M.J., Reynoldson T.B., Ferreira, V. and Graça M.A.S., 2007. A predictive model for freshwater bioassessment (Mondego River, Portugal). *Hydrobiologia*, 589, 55-68.
- Galdean N., Callisto M. and Barbosa F., 2000. Lotic ecosystems of Serra do Cipó, southeast Brazil: water quality and a tentative classification based on the benthic macroinvertebrate community. *Aquat. Ecosyst. Health Manag.*, 3, 545-552.
- Gerth W.J. and Herlihy T., 2006. The effect of sampling different habitat types in regional macroinvertebrate bioassessment surveys. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 25, 501-512.
- Gotelli N.J., Colwell, R.K., 2001. Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. *Ecol. Lett.*, 4, 379-391.
- Hughes R.M., Larsen D.P. and Omernik J.M., 1986. Regional reference sites: a method for assessing stream potentials. *Environ. Manage.*, 10, 629-635.
- Hughes R.M. and Peck D.V., 2008. Acquiring data for large aquatic resource surveys: the art of compromise among science, logistics, and reality. *J. N. Am. BentholSoc.*, 27, 837-859.
- Jacobsen D., Cressa C., Mathooko J.M. and Dudgeon D., 2008. Macroinvertebrates: composition, life histories and production. In: Dudgeon, D. (ed), Tropical stream ecology. Elsevier, San Diego, 65-105.
- Juen L., Nogueira D.S., Shimano Y., Vieira L.C.G. and Cabette H.S.R., 2013. Concordance between Ephemeroptera and Trichoptera assemblage in streams from Cerrado-Amazonia transition. *Ann. Limnol.*, 49, 129-138.
- Junqueira M.V., Amarante M.C., Dias C.F.S. and França E.S., 2000. Biomonitoramento da qualidade das águas da Bacia do Alto Rio das Velhas (MG/Brazil) através de macroinvertebrados. *Acta Limnol. Bras.*, 12, 73-87.
- Kaufmann P.R., Levine P., Robison E.G., Seeliger C. and Peck D.V., 1999. Quantifying Physical Habitat in Wadeable Streams. EPA/620/R-99/003. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- King R.S., Baker M.E., Whigham D.F., Weller D.E., Jordan T.E., Kazyak P.F. and Hurd M.K., 2005. Spatial considerations for linking watershed land cover to ecological indicators in streams. *Ecol. Appl.*, 15, 137-152.
- Klemm D.J., Blocksom K.A., Fulk F.A., Herlihy A.T., Hughes R.M., Kaufmann P.R., Peck D.V., Stoddard J.L., Thoeny W.T. and Griffith M.B., 2003. Development

- and evaluation of a macroinvertebrate biotic integrity index (MBII) for regionally assessing Mid-Atlantic Highlands streams. *Environ. Manage.*, 31, 656-669.
- Klink C.A. and Machado R.B., 2005. Conservation of the Brazilian Cerrado. *Conserv. Biol.*, 19, 707-713.
- Leuven R.S. and Poudevigne I., 2002. Riverine landscape dynamics and ecological risk assessment. *Freshwat. Biol.*, 47, 845-865.
- Li J., Herlihy A., Gerth W., Kaufmann P., Gregory S., Urquhart S. and Larsen D., 2001. Variability in stream macroinvertebrates at multiple spatial scales. *Freshwat. Biol.*, 46, 87-97.
- Li F., Chung N., Bae M.J., Kwon Y.S. and Park Y.S., 2012. Relationships between stream macroinvertebrates and environmental variables at multiple spatial scales. *Freshwat. Biol.*, 57, 2107-2124.
- Ligeiro R., Hughes, R.M., Kaufmann P.R., Macedo D.R., Firmiano K.R., Ferreira W.R., Oliveira, D., Melo A.S. and Callisto, M., 2013. Defining quantitative stream disturbance gradients and the additive role of habitat variation to explain macroinvertebrate taxa richness. *Ecol. Indic.*, 25, 45-57.
- Lock K. and Goethals P.L.M., 2011. Distribution and ecology of the mayflies (Ephemeroptera) of Flanders (Belgium). *Ann. Limnol.*, 47, 159-165.
- Macedo D.R., Hughes R.M., Ligeiro R., Ferreira W.R., Castro M., Junqueira N.T., Silva D.R.O., Firmiano K.R., Kauffman P.R., Pompeu P.S., and Callisto M., In Press. The relative influence of multiple spatial scale environmental predictors on fish and macroinvertebrate assemblage richness in Cerrado ecoregion streams, Brazil. *Landsc Ecol.*
- Magierowski R.H., Davies P.E., Read S.M. and Horrigan N., 2012. Impacts of land use on the structure of river macroinvertebrate communities across Tasmania, Australia: spatial scales and thresholds. *Mar. Freshwater Res.*, 63, 762-776.
- McCabe D.J., Hayes-Pontius E.M., Canepa A., Berry K.S. and Levine B.C., 2012. Measuring standardized effect size improves interpretation of biomonitoring studies and facilitates meta-analysis. *Freshwat. Sci.*, 31, 800-812.
- Molozzi J., Salas, F., Callisto M., Marques J.C. 2013. Thermodynamic oriented ecological indicators: Application of Eco-Exergy and Specific Eco-Exergy in

- capturing environmental changes between disturbed and non disturbed tropical reservoirs. *Ecol. Ind.*, 24, 543–551.
- Moreno P., França J., Ferreira W., Paz A., Monteiro I. and Callisto M., 2009. Use of the BEAST model for biomonitoring water quality in a neotropical basin. *Hydrobiologia*, 630, 231-242.
- Myers N., Mittermeier R.A., Mittermeier C.G., Da Fonseca G.A. and Kent J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, 853-858.
- Oksanen J., Blanchet F., Kindt R., Legendre P., Minchin P.R., O'Hara R.B., Simpson G.L., Solymos P., Stevens M.H.H. and Wagner H., 2013. Vegan: Community Ecology. R package version 2.0-9.
- Olsen A.R. and Peck D.V., 2008. Survey design and extent estimates for the Wadeable Streams Assessment. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 27, 822-836.
- Peck D.V., Herlihy A.T., Hughes R.M., Kaufmann P.R., Klemm D.J., Lazorchak J.M., McCormik F.H., Peterson S.A., Ringold P.L., Magee T. and Cappaert M.R., 2006. Environmental Monitoring and Assessment Program – Surface Waters Western Pilot Study: Field Operations Manual for Wadeable Streams. - EPA 600/R-06/003. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development. Washington, DC.
- R Development Core Team, 2012. R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Roberts D.W., 2013. Labdsv: Ordination and multivariate analysis for Ecology. R package version 1.6-1.
- Romero R.M., Ceneviva-Bastos M., Baviera G.H. and Casatti L., 2013. Community structure of aquatic insects (Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera) in Cerrado streams of Paraguay, Paraná, and São Francisco river basins. *Biota Neotrop.*, 13, 97-107.
- Rosenberg D.M. and Resh V., 1993. Introduction to freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates. In: Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates. Chapman and Hall, New York, 1-9.
- Sala O.E., Chapin F.S., Armesto J.J., Berlow E., Bloomfield J., Dirzo R., Huber-Sanwald E., Huenneke L.F., Jackson R.B. and Kinzig A., 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*, 287, 1770-1774.

- Salas M. and Dudgeon D., 2003. Life histories, production dynamics and resource utilisation of mayflies (Ephemeroptera) in two tropical Asian forest streams. *Freshwat. Biol.*, 48, 485-499.
- Salles F.F., 2013. Lista de espécies de Ephemeroptera (Insecta) registradas para o Brasil. Available at:<<https://www.ephemeroptera.com.br/lista/>>.
- Salles F.F., Da-Silva E.R., Serrão J.E. and Francischetti C.N., 2004. Baetidae (Ephemeroptera) na Região Sudeste do Brasil: novos registros e chave para os gêneros no estágio ninfal. *Neotrop. Entomol.*, 33, 725-735.
- Shimano Y., Cabette H.S., 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.*, 49, 31-41.
- Siegloch A.E., Froehlich C.G. and Spies M.R., 2012. Diversity of Ephemeroptera (Insecta) of the Serra da Mantiqueira and Serra do Mar, southeastern Brazil. *Rev. Braz. Entomol.*, 56, 473-480.
- Silva J.S.O., Bustamante M. M. Da C., Markewitz D., Krusche A. V. and Ferreira L. G., 2011. Effects of land cover on chemical characteristics of streams in the Cerrado region of Brazil. *Biogeochemistry*, 105, 75-88.
- Souza H.M. d. L., Cabette H.S. and Juen L., 2011. Baetidae (Insecta, Ephemeroptera) of Cerrado streams in the state of Mato Grosso, Brazil, under different levels of environmental preservation. *Iheringia*, 101, 181-190.
- StatSoft, Inc., 2004. STATISTICA (data analysis software system), version 7. Available at: <https://www.statsoft.com/>.
- SYSTAT Software Inc., 2013. SYSTAT version 13.0 SYSTAT Software Inc., Chicago, IL.
- Stoddard J.L., Herlihy A.T., Peck D.V., Hughes R.M., Whittier T.R. and Tarquinio E., 2008. A process for creating multimetric indices for large-scale aquatic surveys. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 27, 878-891.
- Stoddard J.L., Larsen D.P., Hawkins C.P., Johnson R.K. and Norris R.H., 2006. Setting expectations for the ecological condition of streams: the concept of reference condition. *Ecol. Appl.*, 16, 1267-1276.

- Strahler A.N., 1957. Quantitative analysis of watershed geomorphology. *Trans. Am. Geophys.*, 38,913-920.
- Suga C.M. and Tanaka M.O., 2013. Influence of a forest remnant on macroinvertebrate communities in a degraded tropical stream. *Hydrobiologia*, 703,203-213.
- Suriano M.T., Fonseca-Gessner A.A., Roque F.O. and Froehlich C.G., 2011. Choice of macroinvertebrate metrics to evaluate stream conditions in Atlantic Forest, Brazil. *Environ. Monit. Assess.*, 175, 87-101.
- Vörösmarty C.J., McIntyre P., Gessner M.O., Dudgeon D., Prusevich A., Green P., Glidden S., Bunn S. E., Sullivan C.A. and Liermann C.R., 2010. Global threats to human water security and river biodiversity. *Nature*, 467,555-561.
- Wantzen K.M., Siqueira A., Cunha C.N. d., de Sá P. and de Fátima M., 2006. Stream-valley systems of the Brazilian Cerrado: impact assessment and conservation scheme. *Aquat. Conserv.: Mar. Freshw. Ecosyst.*, 16, 713-732.
- Wood P.J. and Armitage P.D., 1997. Biological effects of fine sediment in the lotic environment. *Environ. Manage.*, 21,203-217.
- Woodward G., Gessner M.O., Giller P.S., Gulis V., Hladyz S., Lecerf A., Malmqvist B., McKie B.G., Tiegs S.D. and Cariss H., 2012. Continental-scale effects of nutrient pollution on stream ecosystem functioning. *Science*, 336,1438-1440.
- Zar J. H., 1999. Biostatistical Analysis. Prentice-Hall, New Jersey, USA.

Appendix 1. List of Ephemeroptera genera found in the two river basins studied basins of the Brazilian Cerrado.

Genera	Upper Araguari	Upper São Francisco
<b>Baetidae</b>		
<i>Americabaetis</i>	x	x
<i>Apobaetis</i>	x	x
<i>Aturbina</i>	x	x
<i>Baetodes</i>	x	x
<i>Callibaetis</i>	x	x
<i>Camelobaetidius</i>	x	x
<i>Cloeodes</i>	x	x
<i>Cryptonympha</i>	x	x
<i>Paracloeodes</i>	x	x
<i>Rivudiva</i>	x	
<i>Spiritiops</i>		x
<i>Varipes</i>	x	
<i>Waltzophyphius</i>	x	x
<i>Zelusia</i>	x	x
<b>Caenidae</b>		
<i>Caenis</i>	x	x
<i>Latineosus</i>		x
<b>Ephemeridae</b>		
<i>Hexagenia</i>		x
<b>Euthyplociidae</b>		
<i>Campylacia</i>	x	x
<b>Leptohyphidae</b>		
<i>Leptohyphes</i>	x	x
<i>Traverhyphes</i>	x	x
<i>Tricorythodes</i>	x	x
<i>Tricorythopsis</i>	x	x
<b>Leptophlebiidae</b>		
<i>Askola</i>	x	x
<i>Farrodes</i>	x	x
<i>Hagenulopsis</i>	x	x
<i>Hermanella</i>		x
<i>Hydrosmilodon</i>	x	x
<i>Hylister</i>	x	
<i>Massartella</i>	x	x
<i>Miroculis</i>	x	x
<i>Needhamella</i>		x
<i>Paramaka</i>		x
<i>Simothraulopsis</i>		x
<i>Terpides</i>	x	x
<i>Thraulodes</i>	x	x
<i>Traverella</i>	x	
<i>Ulmeritoides</i>	x	x
<b>Polymitarcyidae</b>		
<i>Asthenopus</i>		x
<i>Campsurus</i>		x

## Conclusões

1. Nos riachos da bacia do alto rio São Francisco foi observada maior riqueza e abundância de gêneros de Ephemeroptera.
2. Distúrbios antrópicos observados em escala de bacia de drenagem foram os que mais influenciaram negativamente as assembleias nos riachos da bacia do alto rio Araguari.
3. Os gêneros *Aturbina* e *Cloeodes* (Baetidae); *Farrodes*, *Miroculis* e *Ulmeritoides* (Leptophlebiidae) foram indicadores de condições menos perturbadas em riachos na bacia do alto rio Araguari.
4. As assembleias foram dissimilares tanto em composição quanto em abundância entre as condições menos e mais perturbadas somente nos riachos da bacia do alto rio Araguari.
5. Os Ephemeroptera são eficientes bioindicadores de condições ecológicas em riachos de cabeceira no Cerrado, no entanto seu potencial de indicação depende do grau de distúrbio entre os locais comparados.

## **Perspectivas Futuras**

Considerando as diferenças observadas tanto em composição quanto em abundância entre as assembleias de Ephemeroptera nos riachos nas duas bacias, recomenda-se que estudos futuros objetivem responder:

1. Estudar quais outros fatores ambientais, que não a exposição a distúrbios antrópicos podem estar influenciando as assembleias.
2. Utilizar a abordagem de filtros ambientais para explicar os padrões de riqueza e abundância observados.
3. Buscar novas áreas de referência, para aumentar a amplitude de distúrbio.
4. Ampliação da abordagem de Ephemeroptera como biondicadores em outras bacias hidrográficas no Cerrado no âmbito do projeto IBI.
5. Utilização de abordagens de *taxa* indicadores que considerem todos os riachos do gradiente de pressões humanas.

## Anexos

Anexo1. Índice de Distúrbio Integrado (IDI) proposto por Ligeiro *et al.* (2013) para os 80 riachos das bacias dos altos rios Araguari (ARA) e São Francisco (ARSF) amostrados ao final das estações secas de 2009 e 2010 respectivamente.

ARA		ARSF	
Riacho	IDI	Riacho	IDI
16	0,047	3	0,376
7308	0,064	7	0,309
75	0,103	9	0,288
54	0,171	27	0,285
100	0,207	28	0,336
203	0,270	33	0,383
97	0,303	40	0,362
12	0,303	43	0,448
144	0,326	58	0,518
47	0,332	72	0,174
251	0,343	82	0,298
128	0,345	88	0,154
443	0,375	90	0,205
187	0,402	91	0,238
28	0,428	106	0,166
92	0,430	119	0,331
132	0,446	126	0,181
2991	0,452	133	0,312
110	0,471	134	0,013
8	0,478	137	0,375
52	0,481	159	0,389
9611	0,482	171	0,133
375	0,486	178	0,268
240	0,491	183	0,274
96	0,514	187	0,239
511	0,532	193	0,411
192	0,541	209	0,302
108	0,542	214	0,487
287	0,575	220	0,139
228	0,577	279	0,395
139	0,603	283	0,143
95	0,606	290	0,561
112	0,617	296	0,298
5612	0,628	381	0,195
368	0,685	391	0,225
1524	0,711	437	0,379
55	0,717	1865	0,559
12892	0,725	3195	0,498
15048	0,927	3962	0,388
9757	1,089	6757	1,114

Anexo 2. Gêneros de Ephemeroptera coletados nos 40 riachos da bacia do alto rio Araguari ao final da estação seca de 2009 (x: raro, xx: comum, xxx: abundante). Os símbolos posteriores aos códigos dos riachos indicam os riachos classificados como menos perturbados (-) e mais perturbados (+) de acordo com o IDI proposto por Ligeiro *et al.* (2013).

Taxa	Riachos amostrados na bacia do Alto Rio Araguari												
	8	12	16 -	28	47	52	54 -	55 +	75 -	92	95	96	97
<b>Baetidae</b>													
<i>Americabaetis</i>	x			x		x		x	x			x	
<i>Apobaetis</i>									x				
<i>Aturbina</i>			x						x				
<i>Baetodes</i>							x		x			xx	
<i>Callibaetis</i>									x				
<i>Camelobaetidius</i>		x				x		x	x				
<i>Cloeodes</i>		x					x		xx				
<i>Criptonympha</i>	x						x		x				
<i>Paracloeodes</i>	x					x	x		x		x		
<i>Varipes</i>							x						
<i>Waltzophyphus</i>	x				x				x		x		
<i>Zelusia</i>		x						x			x		
<b>Caenidae</b>													
<i>Caenis</i>	x	x	x					x	x	x	x	x	
<b>Euthyplocciidae</b>													
<i>Campylolia</i>		x	x										
<b>Leptophyphidae</b>													
<i>Leptophyphes</i>												xx	
<i>Traverhyphes</i>	x	x	xx	x		x		x	xx		x	x	
<i>Tricorythopsis</i>	x	x	xx	x			x	x	xx			x	
<i>Tricorythodes</i>			x	x			x		x		x		
<b>Leptophlebiidae</b>													
<i>Askola</i>			x									xx	
<i>Farrodes</i>			x						xx			x	
<i>Hagenulopsis</i>			x				x		x		x		
<i>Hylister</i>							x						
<i>Hydrosmilodon</i>			x										
<i>Miroculis</i>			x					x		x			
<i>Thraulodes</i>	x	xx					xx		xxx		x	xx	
<i>Traverella</i>									x				
<i>Ulmeritoides</i>	x	x				x		x		x			
<b>Total de gêneros</b>	5	9	16	3	1	3	12	4	21	1	7	6	8

Anexo 2 (continuação). Gêneros de Ephemeroptera coletados nos 40 riachos da bacia do alto rio Araguari ao final da estação seca de 2009(x: raro, xx: comum). Os símbolos posteriores aos códigos dos riachos indicam os riachos classificados como menos perturbados (-) e mais perturbados (+) de acordo com o IDI proposto por Ligeiro *et al.* (2013).

Taxa	Riachos amostrados na bacia do Alto Rio Araguari												
	100 -	108	110	112	128	132	139	144	187	192	203 -	228	240
<b>Baetidae</b>													
<i>Americabaetis</i>	xx	x	x					xx	x	x		x	
<i>Apobaetis</i>	xx								x	x		x	
<i>Aturbina</i>	xx								x	x		x	
<i>Baetodes</i>	xx	x	xx						x			x	
<i>Callibaetis</i>				x									
<i>Camelobaetidius</i>	xx								x		xx		
<i>Cloeodes</i>	xx		x						x		x		
<i>Criptonympha</i>	xx										x		
<i>Paracloeodes</i>	xx		x					x	x	x		x	
<i>Waltzophyphius</i>											x		
<i>Zelusia</i>		x	x				x	x		x		xx	
<b>Caenidae</b>													
<i>Caenis</i>	xx		x	x	x	x	x		x	x			
<b>Euthyplociidae</b>													
<i>Campylocia</i>	x										x		
<b>Leptophyphidae</b>													
<i>Traverhyphes</i>	xx	x	x				xx	x	xx	x		x	
<i>Tricorythopsis</i>	xx	x	x			x		x	x		xx		
<i>Tricorythodes</i>	x		x					x	x				
<b>Leptophlebiidae</b>													
<i>Askola</i>											x		
<i>Farrodes</i>	x							xx	x	x		x	
<i>Hagenulopsis</i>	x												
<i>Hydrosmilodon</i>				x									
<i>Massartella</i>											xx		
<i>Miroculis</i>	x										x		
<i>Terpides</i>						x	x						
<i>Thraulodes</i>	xx						xx						
<i>Ulmeritooides</i>						x	x			x		x	
<b>Total de gêneros</b>	17	5	9	2	2	4	8	12	9	0	11	3	3

Anexo 2 (continuação). Gêneros de Ephemeroptera coletados nos 40 riachos da bacia do alto rio Araguari ao final da estação seca de 2009 (x: raro, xx: comum). Os símbolos posteriores aos códigos dos riachos indicam os riachos classificados como menos perturbados (-) e mais perturbados (+) de acordo com o IDI proposto por Ligeiro *et al.* (2013).

Taxa	Riachos amostrados na bacia do Alto Rio Araguari													
	251	287	368 +	375	443	511	1524 +	2991	5612 +	7308 -	9611	9757	12892 +	15048 +
<b>Baetidae</b>														
<i>Americabaetis</i>	x	x		x	x	x	xx	xx			x		x	x
<i>Apobaetis</i>	x				x	x								
<i>Aturbina</i>								x			x			
<i>Baetodes</i>	x		x			x		x			x		x	
<i>Callibaetis</i>										x				
<i>Camelobaetidius</i>							x							
<i>Criptonympha</i>			x		x	x	xx			x				x
<i>Paracloeodes</i>	x							x					x	
<i>Rivudiva</i>											x			
<i>Varipes</i>					x									
<i>Waltzophius</i>			x				x				x			
<i>Zelusia</i>	x		x				x				x	x		
<b>Caenidae</b>														
<i>Caenis</i>	x		x								x			
<b>Euthyplociidae</b>														
<i>Campylocia</i>	x									x				
<b>Leptophyphidae</b>														
<i>Leptohyphes</i>						x								
<i>Traverhyphes</i>	xx	x	x		x	xx		xx		x	x		x	
<i>Tricorythopsis</i>	xx		x	x	x	x		x	x	x	x		x	xx
<i>Tricorythodes</i>	x		x		x	x					x			
<b>Leptophlebiidae</b>														
<i>Farrodes</i>	x	x	x		x	x		x		x			x	
<i>Miroculis</i>	x									x				
<i>Thraulodes</i>			x					xx						
<i>Ulmeritoides</i>								xx		x			x	
<b>Total de gêneros</b>	12	3	9	3	7	11	4	9	2	11	7	0	7	3

Anexo 3. Gêneros de Ephemeroptera coletados nos 40 riachos da bacia do alto rio São Francisco ao final da estação seca de 2010 (x: raro, xx: comum, xxx: abundante, xxxx muito abundante). Os símbolos posteriores aos códigos dos riachos indicam os riachos classificados como menos perturbados (-) e mais perturbados (+) de acordo com o IDI proposto por Ligeiro *et al.* (2013).

Taxa	Riachos da bacia do Alto Rio São Francisco												
	3	7	9	27	28	33	40	43 +	58 +	72	82	88 -	90
<b>Baetidae</b>													
<i>Americabaetis</i>	xx	x	x	x	xx	x	x	x	xxxx	x			xx
<i>Apobaetis</i>	xx					x	x	x	x				x
<i>Aturbina</i>	x	xx				xx	x	x	x		x		xx
<i>Baetodes</i>								x	x				
<i>Callibaetis</i>		x	xx	x	x	x	xx	x	xx	x	x	xxx	xx
<i>Cloeodes</i>			xx		x	xx	xxxx	xx	x	x		xx	xx
<i>Cryponympha</i>		x					x						
<i>Paracloeodes</i>	x	x	x	x	xx	x	xx	x	x				x
<i>Waltzoyphius</i>	x	x		x		x		x	x				
<i>Zelusia</i>	x	x				x	x	x			x		x
<b>Caenidae</b>													
<i>Caenis</i>	x	x	x	x	xx	x	xx	x	xx	xx		xx	x
<b>Ephemeridae</b>													
<i>Hexagenia</i>			x										
<b>Euthyplociidae</b>													
<i>Campylocia</i>							x	x					x
<b>Leptohyphidae</b>													
<i>Leptohyphes</i>			x	x	xxxx		xx	x	xx	xx	x	xx	
<i>Traveryphes</i>	x							x			x	x	
<i>Tricorythodes</i>	xx							x			x	x	
<i>Tricorythopsis</i>							x					x	
<b>Leptophlebiidae</b>													
<i>Askola</i>						x	x	x	xx	xx	x	xx	x
<i>Farrodes</i>	xx	x	x		x	x	xx	x	xx		x	x	xx
<i>Hagenulopsis</i>			x		x	x	x				x		
<i>Hermanella</i>						x	x	x			x		x
<i>Hydrosmilodon</i>	xxx	x						x					
<i>Massartella</i>							x						x
<i>Miroculis</i>		x				xx	x	x	xx	x	x	x	xx
<i>Needhamella</i>						xx	x		xx	x		x	
<i>Simothraulopsis</i>		x											
<i>Terpides</i>			x										
<i>Thraulodes</i>			x										
<i>Ulmeritoides</i>		x	x										
<b>Polymitarcyidae</b>													
<i>Asthenopus</i>									x				
<i>Campsurus</i>										x			
<b>Total de gêneros</b>	11	14	11	6	11	15	17	18	14	9	10	9	14

Anexo 3 (continuação). Gêneros de Ephemeroptera coletados no riachos da bacia do alto rio São Francisco ao final da estação seca de 2010 (x: raro, xx: comum, xxx: abundante, xxxx muito abundante). Os símbolos posteriores aos códigos dos riachos indicam os riachos classificados como menos perturbados (-) e mais perturbados (+) de acordo com o IDI proposto por Ligeiro *et al.* (2013).

Taxa	Riachos da bacia do Alto Rio São Francisco												
	91	106 -	119	126	133	134 -	137	159	171 -	178	183	187	193
<b>Baetidae</b>													
<i>Americabaetis</i>	x	x	x		x	x			xx	xx	x	xx	x
<i>Apobaetis</i>		x		x	x		x		x	x	x	x	x
<i>Aturbina</i>	x		x	xx	x	x	x	xx	x	x	x	x	x
<i>Baedodes</i>	x								xx	xx			
<i>Callibaetis</i>	xxx	xx		x	x	x	xx	xx	xx	xx	x	xx	
<i>Camelobatidius</i>	x								xx				x
<i>Cloeodes</i>	x	x	x			x	x		xx	xx		xx	
<i>Cryponympha</i>										x		x	
<i>Paracloeodes</i>	x			x				x				x	
<i>Waltzoyphius</i>		x	x	x			x	x			x	x	x
<i>Zelusia</i>		x	x		x	x							
<b>Caenidae</b>													
<i>Caenis</i>	x	x	x	x	x	x	xx	x	x	xxx	x	x	x
<i>Latineosus</i>								x		x			
<b>Euthyplociidae</b>													
<i>Campylocia</i>					x			x	x			x	
<b>Leptohyphidae</b>													
<i>Leptohyphes</i>	xx			x		x	xx	xxx	xxx	xxxx	xx	x	xx
<i>Traveryphes</i>	x				x	x			x	x			
<i>Tricorythodes</i>	x			x	x			x	x				
<i>Tricorythopsis</i>	x							x	x			x	
<b>Leptophlebiidae</b>													
<i>Askola</i>	x	x			x	x	xx		x	x		x	
<i>Farrodes</i>	x			x	x	xx		x			x	xx	x
<i>Hagenulopsis</i>					x		x		x			x	
<i>Hermanella</i>				x		x			x		x	x	
<i>Massartella</i>					x								
<i>Miroculis</i>	x		x	xx	x	x	x	x	x	xx	x	xx	
<i>Needhamella</i>	xxx			x				x	xx	xx		x	
<i>Paramaka</i>	x							x		x			x
<i>Simothraulopsis</i>						x						x	
<i>Terpides</i>	x							x		x			
<i>Thraulodes</i>							x		x				
<i>Ulmeritoides</i>								x					
<b>Polymitarcyidae</b>													
<i>Asthenopus</i>			x				xx		x			x	
<i>Campsurus</i>			x										
<b>Total de gêneros</b>	18	6	8	14	10	13	13	14	20	13	11	21	7

Anexo 3 (continuação). Gêneros de Ephemeroptera coletados nos 40 riachos da bacia do alto rio São Francisco ao final da estação seca de 2010 (x: raro, xx: comum, xxx: abundante, xxxx muito abundante). Os símbolos posteriores aos códigos dos riachos indicam os riachos classificados como menos perturbados (-) e mais perturbados (+) de acordo com o IDI proposto por Ligeiro *et al.* (2013).

Taxa	Riachos da bacia do Alto Rio São Francisco													
	209	214 +	220 -	279	283 -	290 +	296	381	391	1865 +	3195	3962	437	6757
<b>Baetidae</b>														
<i>Americabaetis</i>			xx	xx	xxx		xx		xx	xx	x	xx	xx	
<i>Apobaetus</i>	x			x			x		x	x	x	x	x	
<i>Aturbina</i>	x			x			x			x				
<i>Baetodes</i>			x	xx	x		x							
<i>Callibaetis</i>	x	x	x	xx	x	xx	xx		x	xx		x	xx	
<i>Camelobatidius</i>				x	xx		x							
<i>Cloeodes</i>			xx	x	x		x							
<i>Cryponympha</i>				x	x				x	x	x		xxxx	
<i>Paracloeodes</i>				x			x							
<i>Spiritiops</i>					x					xx		x	xxx	
<i>Waltzoyphius</i>	x									x		x	xx	
<i>Zelusia</i>							x			x		x	x	
<b>Caenidae</b>														
<i>Caenis</i>	x		xx		x	x	xx		x	xx	x	x	x	
<b>Ephemeridae</b>														
<i>Hexagenia</i>				x										
<b>Euthyplociidae</b>														
<i>Campyloclia</i>							x							
<b>Leptocephidae</b>														
<i>Leptocephyes</i>	xxxx	xx	x		xxx		x	xx			x	x		
<i>Traveryphyes</i>			x		x									
<i>Tricorythodes</i>					x		x	x	x					x
<i>Tricorythopsis</i>		xx	x											
<b>Leptophlebiidae</b>														
<i>Askola</i>	x	x			x		x	x			x	x		
<i>Farrodes</i>	x	x	x			xx		x						
<i>Hagenulopsis</i>	x													
<i>Hermanella</i>						x		x			x		x	
<i>Miroculis</i>	xx	x	x		x		x			x		x	xx	
<i>Needhamella</i>	xx	x	x			xx				x				
<i>Paramaka</i>		x												
<i>Simothraulopsis</i>	xx		x					x			x			
<i>Terpides</i>			x											
<b>Polymitarcyidae</b>														
<i>Asthenopus</i>									x		x	x		
<i>Campsurus</i>	xx					x						xx		
<b>Total de gêneros</b>	6	1	12	17	16	2	20	0	9	16	4	11	14	0

