

Universidade Federal de São Carlos
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais

Karime de Araujo Paina

**Ecologia funcional de zooplâncton e divergência genética de Anostraca
(Crustacea) em lagoas temporárias tropicais do noroeste de Minas Gerais**

São Carlos - SP

2018

Universidade Federal de São Carlos

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais

**Ecologia funcional de zooplâncton e divergência genética de Anostraca
(Crustacea) em lagoas temporárias tropicais do noroeste de Minas Gerais**

Karime de Araujo Paina

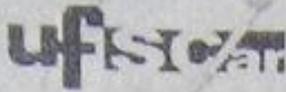
Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências: área de concentração em Ecologia e Recursos Naturais.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria da Graça Gama Melão

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Tereza Cristina Orlando

São Carlos – SP

2018



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Karime de Araújo Pina, realizada em 05/02/2018:

Maria da Graça G. Melão

Profa. Dra. Maria da Graça Gama Melão
UFSCar

Odete Rocha

Profa. Dra. Odete Rocha
UFSCar

DOUGLAS F. PEIRÓ

Prof. Dr. Douglas Fernando Peiró
UNIARA

Agradecimentos

A Deus e à vida, por todas as oportunidades que me foram colocadas durante essa minha trajetória e por tudo que me foi permitido viver e aprender.

À Prof^ª. Dr^ª. Maria da Graça Gama Melão pela orientação, pelos ensinamentos e conselhos, por sua paciência, dedicação e pela confiança depositada em mim desde o início deste trabalho.

À Prof^ª. Dr^ª. Tereza Cristina Orlando pela coorientação e por ter me auxiliado com muita paciência. Obrigada por todos os ensinamentos e por sua dedicação a este trabalho.

À Prof^ª. Dr^ª. Maria José dos Santos Wisniewski, responsável pela minha iniciação na pesquisa científica.

Ao Prof. Dr. Rhainer Guillermo Nascimento Ferreira, ao Dr. Jorge Luis Ramirez Malaver e à Dr^ª. Carolina de Barros Machado da Silva, membros da banca examinadora do meu exame de qualificação, pelas grandes contribuições para com este trabalho.

À Prof^ª. Dr^ª. Odete Rocha e ao Prof. Dr. Douglas Fernando Peiró, membros da banca examinadora da defesa pública, por todas as correções e considerações. Obrigada por contribuírem significativamente para melhorar este trabalho.

Ao Prof. Dr. Hugo Miguel Preto de Moraes Sarmiento por sanar minhas dúvidas e muito me auxiliar em diversos momentos.

Ao Prof. Dr. Sérgio Henrique Vannucchi Leme de Mattos e ao Prof. Dr. Luiz Eduardo Moschini, pelo auxílio na confecção dos mapas. Obrigada pela atenção e disponibilidade.

Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, por contribuírem para a minha formação acadêmica durante o mestrado, e também aos docentes da Universidade Federal de Alfenas, que me ensinaram muito durante minha graduação e que ainda hoje estão presentes me acrescentando conhecimento.

Aos companheiros de laboratório que muito contribuíram para a realização deste trabalho: Rodrigo, Renan, Helena, Lays, Giseli, Larissa, Roberta, Michaela e Francieli. Obrigada por toda ajuda em diversos momentos e pelos momentos de descontração que deixaram o trabalho mais leve.

Ao Rodrigo e ao técnico Alcídio Culósio Filho pelo auxílio durante o trabalho de campo.

Aos queridos do Laboratório de Biologia Molecular Aplicada à Biodiversidade da Universidade Federal de Alfenas, Bruna, Mateus, Mari e todos os alunos, por me auxiliarem durante a realização dos meus experimentos e por tornarem minha estadia no laboratório muito agradável.

À minha família, meus pais Paulo e Selma e minha irmã Thamires, por todo amor e incentivo, por estarem sempre presentes e por fazerem por mim o que ninguém mais faria. Ao Rafa, por todo apoio e paciência.

Aos amigos que me acompanharam de perto durante essa caminhada e aos que, mesmo de longe, me ajudaram e torceram por mim. Obrigada a todos os que cruzaram meu caminho e me deixaram algum ensinamento.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da minha bolsa de estudos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do trabalho (proc. nº 2014/14139-3).

Por fim, agradeço a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

*À criatura humana assiste
o mesmo direito ao livro
que ao pão*

Bertha Lutz

Índice de figuras

Figura 1.1. Mapa de localização das áreas de estudo, com sete ambientes aquáticos temporários amostrados no município de Urucuia-MG e um no município de Lagoa Grande-MG.....	17
Figura 1.2. Visão geral dos oito ambientes aquáticos temporários localizados nos municípios de Urucuia-MG (U1 a U4) ,durante o período de coleta (31/01 a 02/02/2017).....	19
Figura 1.3. Visão geral dos oito ambientes aquáticos temporários localizados nos municípios de Urucuia-MG (U5 a U7) e Lagoa Grande-MG (LG), durante o período de coleta (31/01 a 02/02/2017).....	20
Figura 1.4. Análise de Correspondência Canônica (CCA) aplicada aos parâmetros ambientais e à diversidade da comunidade zooplanctônica de oito ambientes aquáticos temporários do noroeste de Minas Gerais.....	31
Figura 1.5. Dendrograma de agrupamento dos traços funcionais definidos para as espécies zooplanctônicas coletadas nos oito ambientes aquáticos temporários do noroeste de Minas Gerais.....	36
Figura 1.6. Análise de Correspondência Canônica (CCA) aplicada aos parâmetros ambientais e às abundâncias relativas dos grupos funcionais da comunidade zooplanctônica de oito ambientes temporários do noroeste de Minas Gerais.....	38
Figura 2.1. Distribuição geográfica das espécies de <i>Dendrocephalus</i> de ocorrência no Brasil.....	65
Figura 2.2. Mapa com a localização geográfica dos locais de origem dos espécimes estudados.....	66
Figura 2.3. Visão geral das lagoas temporárias amostradas durante o período de coleta (31/01 a 02/02/2017).....	67
Figura 2.4. Aspecto geral de espécies de <i>Dendrocephalus</i>	72
Figura 2.5. Comparativo entre espécies de <i>Dendrocephalus</i>	73
Figura 2.6. Comparativo entre espécies de <i>Dendrocephalus</i>	74
Figura 2.7. Comparativo entre espécies de <i>Dendrocephalus</i>	75
Figura 2.8. Imagem de MEV com comparativo entre espécies de <i>Dendrocephalus</i>	75
Figura 2.9. Imagem de MEV com comparativo entre espécies de <i>Dendrocephalus</i>	76
Figura 2.10. Árvore de distâncias usando o método de NJ.....	77

Índice de tabelas

Tabela 1.1. Códigos de denominação, localização e coordenadas geográficas dos ambientes amostrados.....	18
Tabela 1.2. Valores registrados para as variáveis ambientais de oito ecossistemas aquáticos temporários do noroeste de Minas Gerais.....	27
Tabela 1.3. Densidades numéricas (ind m ⁻³) das espécies registradas para os principais grupos da comunidade zooplanctônica amostrada em oito ambientes aquáticos temporários do noroeste de Minas Gerais.....	29
Tabela 1.4. Lista de espécies da comunidade zooplanctônica, suas frequências de ocorrência (%) e a respectiva classificação de frequência para oito ambientes aquáticos temporários do noroeste de Minas Gerais.....	30
Tabela 1.5. Biomassa das espécies (µg PS m ⁻³) registradas para os grupos da comunidade zooplanctônica de oitos ambientes aquáticos temporários do noroeste de Minas Gerais.....	32
Tabela 1.6. Traços funcionais listados para as espécies registradas nos oito ambientes aquáticos temporários do Noroeste de Minas Gerais.....	34
Tabela 1.7. Grupos funcionais definidos por análise de agrupamento dos traços funcionais da comunidade zooplanctônica de oitos ambientes aquáticos temporários do noroeste de Minas Gerais.....	37
Tabela 1.8. Abundância relativa (%) dos grupos funcionais definidos para a comunidade de organismos zooplanctônicos de oitos ambientes aquáticos temporários do noroeste de Minas Gerais.....	38
Tabela 1.9. Índices de Riqueza, Diversidade de Shannon (H') e Diversidade Funcional (FDis) calculados para a comunidade zooplanctônica dos oito ambientes temporários no noroeste de Minas Gerais.....	39
Tabela 2.1. Principais características morfológicas para identificação de <i>Dendrocephalus</i> , baseadas em literatura.....	68
Tabela 2.2. Resumo das principais características morfológicas diferenciais entre as duas espécies de <i>Dendrocephalus</i> identificadas, baseadas nas descrições em literatura.....	71
Tabela 2.3. Distâncias genéticas médias de K2P entre sequências COI de espécimes de <i>Dendrocephalus</i> e de outros gêneros de Anostraca.....	78

Sumário

Apresentação do trabalho	i
Capítulo 1. Ecologia funcional do zooplâncton de oito lagoas temporárias do noroeste de Minas Gerais	9
Resumo	9
Abstract	10
1.Introdução	11
1.1 Lagoas temporárias	11
1.2. Diversidade funcional da comunidade zooplanctônica	13
2. Objetivo	16
2.1 Objetivos específicos:.....	16
3. Metodologia.....	17
3.1. Área de estudo	17
3.2 Variáveis ambientais	18
3.3. Comunidade zooplanctônica.....	22
3.4 Diversidade funcional.....	22
3.5 Cálculo da biomassa das espécies zooplanctônicas.....	25
4. Resultados	27
4.1. Variáveis ambientais	27
4.2 Comunidade zooplanctônica.....	28
4.3 Diversidade Funcional	33
5. Discussão	40
6. Conclusões	49
Referências bibliográficas.....	51
Capítulo 2. Divergência genética de Dendrocephalus do noroeste de Minas Gerais: DNA Barcoding como ferramenta para taxonomia de Anostracas brasileiros.	59

Resumo	59
Abstract	60
1.Introdução	61
2. Objetivos.....	65
3. Metodologia.....	65
3.1 Distribuição das espécies de Dendrocephalus.....	65
3.2 Áreas de estudo	66
3.3. Análise morfológica dos espécimes estudados para identificação em nível específico	68
3.4 Análises moleculares – DNA Barcoding.....	69
4. Resultados	70
4.1. Análise morfológica dos espécimes estudados para identificação em nível específico	70
4.2 Análises moleculares – DNA Barcoding.....	76
5. Discussão	79
7. Conclusão	82
Referências Bibliográficas	83

Apresentação do trabalho

Para uma melhor organização do trabalho, esta dissertação foi estruturada em dois capítulos, sendo eles:

- Capítulo 1. Ecologia funcional do zooplâncton de oito lagoas temporárias do noroeste de Minas Gerais
- Capítulo 2. Divergência genética de *Dendrocephalus* do noroeste de Minas Gerais: DNA *Barcoding* como ferramenta para taxonomia de Anostracas brasileiros.

Capítulo 1. Ecologia funcional do zooplâncton de oito lagoas temporárias do noroeste de Minas Gerais

Resumo

As questões ambientais têm sido cada vez mais discutidas atualmente e, com isso, tem se buscado muitas maneiras de mensurar a biodiversidade dos ecossistemas. Além da diversidade taxonômica, uma das possíveis abordagens utilizadas para se analisar a diversidade das comunidades é a diversidade funcional, que considera os traços funcionais de cada espécie. Neste trabalho, foi estudada a diversidade funcional do zooplâncton de oito lagoas temporárias localizados no noroeste de Minas Gerais, assim como a composição, a riqueza e a diversidade taxonômica da comunidade zooplanctônica desses ambientes. Foram realizadas coletas em ambientes localizados em dois municípios mineiros, Urucuia e Lagoa Grande, no período de 31/01 a 02/02/2017. A comunidade zooplanctônica foi dividida, de acordo com os atributos das espécies, em sete grupos funcionais. Por se tratar de ambientes pequenos e efêmeros, com características muito peculiares, a riqueza e a densidade numérica da comunidade zooplanctônica foram relativamente baixas, assim como a diversidade funcional. A presença de espécies do gênero *Dendrocephalus*, parece ter influenciado na composição da comunidade zooplanctônica, especialmente nos Cladocera.

Abstract

Environmental issues have been increasingly discussed today, and many ways have been sought to measure ecosystems' biodiversity. In addition to the taxonomic diversity, one of the possible alternatives used to obtain information about the diversity of the communities is the functional diversity, which considers the functional attributes (traits) of each species. In this work, the zooplankton functional diversity of eight temporary aquatic ecosystems located in the northwest of Minas Gerais was studied, as well as the composition and richness of the zooplankton community of these environments. Collections were made in environments located in two municipalities of Minas Gerais, Urucuia and Lagoa Grande, from January 31 to February 2, 2017. The zooplankton community was divided, according to species attributes, into seven functional groups. Because they are small and ephemeral environments with very peculiar characteristics, the richness and density of the zooplankton community were relatively low, as well as the functional diversity. The presence of specimens of the order Anostraca, genus *Dendrocephalus*, seems to have influenced the composition of the zooplankton community, especially in Cladocera.

1.Introdução

1.1 Lagoas temporárias

As lagoas temporárias estão presentes em diversos tipos de ambientes, porém são mais numerosos em regiões áridas e semiáridas (Brendonck et al., 2008; Atashbar et al., 2014). De modo geral, são ambientes relativamente pequenos e rasos (Pérez-Bilbao et al., 2015). São caracterizados por ciclos periódicos de seca seguidos de inundação, em geral bem delimitados e previsíveis (Williams, 1996). Esses ciclos possuem duração suficiente para, durante a cheia, possibilitarem o desenvolvimento de solos hidromórficos e de comunidades da fauna e flora aquáticas características e, durante o período de estiagem, inviabilizar o desenvolvimento de comunidades mais comuns em ambientes aquáticos permanentes (Pérez-Bilbao et al., 2015). Ainda segundo Pérez-Bilbao et al. (2015), um dos principais atributos dos ambientes temporários, o isolamento, é fundamental para impedir ou permitir esses desenvolvimentos.

Devido ao isolamento dos demais ambientes aquáticos, pequeno tamanho e pouca profundidade desses ecossistemas, a biodiversidade nesses locais é relativamente baixa (Zacharias et al., 2007). Sua fauna e flora são dotadas de adaptações fisiológicas, morfológicas e comportamentais em resposta às oscilações de inundação, tornando estes ambientes fortes pontos de especiação (Williams, 1996). Os organismos têm que se adaptar às condições temporárias e desenvolvem basicamente duas estratégias: suportar a fase de seca através de estágios de vida latentes ou migrar assim que iniciar a estiagem (Wiggins et al., 1980). No caso da comunidade de invertebrados, grupo predominante em ambientes temporários, algumas espécies garantem a sobrevivência da prole por meio de ovos de diapausa. São espécies r estrategistas, com alta capacidade de reprodução, crescimento rápido e ciclo de vida curto (Williams, 1997). Porém, a certeza de sucesso reprodutivo depende do período de cheia, pois caso a estiagem comece antes do que normalmente ocorre, a prole não se estabelece (Zacharias et al., 2007).

Outros grupos de animais também habitam ambientes aquáticos temporários, como anfíbios, que se utilizam desses ecossistemas tanto para alimentação como para reprodução. Estes animais, em seus estágios iniciais de vida, se alimentam de fito e zooplâncton, e a vegetação aquática favorece a deposição de ovos. Como boa parte desses ambientes não é habitada por peixes, as larvas não sofrem tanto o impacto da predação. Ambientes

temporários também são importantes para aves aquáticas e migratórias, sendo uma farta fonte de alimento (Babbitt, 2005). Devido ao isolamento desses ambientes, a diversidade e riqueza alélicas tendem a permanecer baixas, sugerindo um pequeno fluxo gênico. Esse isolamento favorece a ocorrência de um efeito fundador nesses ecossistemas (Badosa et al., 2017).

Lagoas temporárias podem persistir por muito tempo, por milhares de anos. Isso se deve à fase seca, período no qual a maior parte da matéria orgânica no sedimento é oxidada. Com o passar dos anos, isso pode resultar em ganho na profundidade do sedimento nesses ambientes. Ao contrário, em ecossistemas aquáticos permanentes, há acúmulo de sedimento no fundo, pela ausência desse processo de oxidação. Ao longo do tempo, esses sucessivos acúmulos reduzem a profundidade dos ambientes (Williams et al., 2001). Embora atualmente os ecossistemas aquáticos de água doce possuam um número menor de espécies, em comparação com ambientes salinos e terrestres, num passado geológico os ecossistemas dulcícolas eram muito complexos, abrigando grupos muito peculiares, alguns cujos ancestrais podem datar do período do Paleozóico médio. Esses ambientes foram importantes para a adaptação de organismos imigrantes mais recentes da terra ou do mar (Gray, 1988).

A ausência de informações sobre a importância dos ecossistemas aquáticos temporários, bem como seu manejo inadequado contribuem para a deterioração e até para o desaparecimento dos mesmos. Por serem pequenos, superficiais e temporais são muitas vezes considerados áreas improdutivas onde habitam insetos transmissores de doenças. Isso, aliado à necessidade de expansão agrícola, tende a causar a redução desses habitats (Perez-Bilbao e Garrido, 2009; Pérez-Bilbao et al., 2015). O estabelecimento de espécies invasoras, a poluição causada pelo uso de fertilizantes e pesticidas, alterações no funcionamento hidrológico e mudanças climáticas são mais alguns fatores de ameaça à integridade desse tipo de ecossistema. Esses fatores comprometem a caracterização da água desses ambientes, podendo causar alterações nas concentrações de nutrientes como nitrogênio e fósforo, no pH, nas concentrações de oxigênio dissolvido e de sais, na temperatura e na luminosidade. Variações nessas características podem causar impactos na riqueza, abundância, dominância e biomassa das comunidades ali firmadas (Crossetti e Bicudo, 2005; Pérez-Bilbao et al., 2015).

Assim como os demais corpos d'água dulcícolas, lagoas temporárias são muito vulneráveis à perda de biodiversidade. Ecossistemas de água doce são extremamente

sensíveis a fatores como poluição, invasão de espécies exóticas, alterações e até desaparecimento de habitats (Rocha et al., 2005).

São escassas as informações sobre lagoas temporárias no Brasil. A região semiárida, principalmente o nordeste brasileiro, concentra o maior número desse tipo de ecossistema. A pouca quantidade de chuvas e a alta taxa de evapotranspiração contribuem para a abundância desses ecossistemas nessa região. Porém, alterações ambientais e antrópicas, que resultam em desequilíbrio no regime hidrológico, contribuem para processos de desertificação, o que pode promover a extinção desses ambientes aquáticos (Maltchik e Medeiros, 2006).

Estudos mais aprofundados sobre lagoas temporárias são extremamente importantes e necessários, por permitirem conhecer as comunidades ali existentes, as dinâmicas populacionais e a história de vida das espécies. Por serem pequenos e de fácil “manuseio”, são ideais para a prática de estudos ecológicos. (Blaustein e Schwartz, 2001). Investigar a fundo a ecologia desses ecossistemas contribui de maneira significativa para o conhecimento da biodiversidade global.

1.2.Diversidade funcional da comunidade zooplanctônica

Na tentativa de conservar e compreender o funcionamento dos ecossistemas, é fundamental o conhecimento dos processos que influenciam a distribuição das espécies, em escalas menores e também a níveis globais (Ricklefs, 1987). A diversidade biológica dos ecossistemas tem sido investigada, nas últimas décadas, com o auxílio de muitas teorias ecológicas de comunidades, que abordam padrões espaciais e temporais, tais como a teoria da biogeografia de ilhas (MacArthur e Wilson, 1967) e a teoria da sucessão ecológica (Gleason, 1927).

Ecossistemas possuem características muito peculiares, o que torna difícil a utilização de padrões generalizados na investigação da biodiversidade (Simberloff, 2004). Com base na complexidade dos ambientes, têm surgido nos últimos anos muitas maneiras de conhecer essa biodiversidade, porém dificilmente uma única forma conseguirá sozinho descrevê-la de maneira satisfatória, já que as várias medidas de biodiversidade são, na maioria das vezes, complementares (Magurran, 2004; Buckland et al., 2005; Ricotta, 2005). Métricas clássicas são muito utilizadas para mensurar a diversidade biológica, como Índices

de Shannon-Wiener, Simpson e Equitabilidade. Porém, essas medidas são falhas na predição da estrutura e do funcionamento do ecossistema, já que consideram somente o número de espécies e o quanto esse número representa na quantificação, e não captam as respostas das espécies à influência ambiental (Cianciaruso et al., 2009). Diferentemente dessas métricas, outra forma de medida, a diversidade funcional, considera aspectos funcionais abordando características comportamentais, fisiológicas, morfológicas e do ciclo de vida dos indivíduos. Essas características podem ser denominadas “traços funcionais das espécies” (Violle et al., 2007; Webb et al., 2010; Litchman et al., 2013).

A partir dos traços funcionais dos indivíduos, as espécies podem ser classificadas em grupos funcionais, sendo elas relacionadas diretamente entre si pelas funções que desempenham no ecossistema. Cada espécie identificada pode possuir um número extenso de traços funcionais, porém, por vários motivos, muitas vezes a utilização de todos eles se torna inviável. No caso da comunidade zooplânctônica, por exemplo, muitos dos traços são de difícil acesso ou não estão disponíveis para exploração (Barnett et al., 2007; Litchman et al., 2013). Então, de acordo com as características das espécies, do ambiente e do objetivo do estudo alguns traços são definidos para se conhecer os grupos funcionais.

Grupos funcionais são agrupamentos das espécies que apresentam mesmos traços funcionais e que respondem de maneira equivalente às características ambientais, independente dessas espécies possuírem ou não relações filogenéticas (Lavorel et al., 1997; McGill et al., 2006; Litchman et al., 2013). A diversidade funcional aborda características importantes das espécies e por isso consegue diagnosticar a estrutura das comunidades que compõem o ecossistema (McGill et al., 2006; Smith et al., 2013). Altos valores de diversidade funcional podem estar relacionados à otimização dos recursos disponíveis e de equilíbrio ecossistêmico (Sobral e Cianciaruso, 2012).

Embora representem uma parcela muito importante nos ecossistemas aquáticos, poucos estudos relacionados a traços funcionais de espécies zooplânctônicas já foram realizados, diferentemente de outros grupos biológicos. Como organismos zooplânctônicos são bons indicadores ambientais, as condições do ecossistema local podem atuar como filtros, propiciando a coexistência de grupos com características funcionais equivalentes (Webb et al., 2002; Sobral e Cianciaruso, 2012). Poucos autores abordaram traços funcionais em zooplâncton (Barnett et al., 2007; Litchman et al., 2013; Vogt et al., 2013) e alguns poucos trabalhos utilizaram diversidade funcional com o objetivo de compreender

como as intervenções nos ecossistemas impactam organismos zooplanctônicos (Barnett e Beisner, 2007; Sodré, 2014; Silva, 2015).

Nos ecossistemas aquáticos, os organismos zooplanctônicos representam o principal consumidor primário. Eles são dotados de uma alta diversidade de traços funcionais, de estratégias ecológicas e são influentes em outros níveis tróficos. Descrever as características funcionais destes organismos contribui para a compreensão de seleção de diversos padrões que atuam em diferentes ecossistemas e o quanto e como estão relacionados com padrões ambientais. (Litchman et al., 2013). Conhecer as mudanças nos aspectos funcionais das comunidades e sua composição é fundamental na compreensão dos padrões ecológicos que moldam o ecossistema (Petchey e Gaston, 2006).

No intuito de investigar as funcionalidades das populações, foram estudados oito ambientes aquáticos temporários do noroeste de Minas Gerais, Brasil, nos municípios de Lagoa Grande e Urucuia, a fim de conhecer a diversidade funcional da comunidade zooplanctônica com o intento de contribuir para um maior conhecimento sobre esse tipo de ecossistema.

2. Objetivo

Esse trabalho teve por objetivo avaliar a diversidade taxonômica e funcional da comunidade zooplanctônica de oito lagoas temporárias localizadas nos municípios de Lagoa Grande e Urucuia, no noroeste de Minas Gerais, Brasil.

2.1 Objetivos específicos:

- Avaliar a composição de espécies de oito lagoas temporárias do noroeste de Minas Gerais.
- Conhecer os traços, grupos e diversidade funcionais correspondentes às espécies zooplanctônicas presentes nas lagoas temporárias amostradas.

3. Metodologia

3.1. Área de estudo

Os dados amostrais foram coletados em oito ambientes aquáticos temporários, localizados nos municípios de Urucuaia - MG e Lagoa Grande - MG, Brasil (Figura 1.1.), entre os dias 31 de janeiro e 02 de fevereiro de 2017, tendo sido amostrados sete ambientes no município de Urucuaia e um ambiente no município de Lagoa Grande.

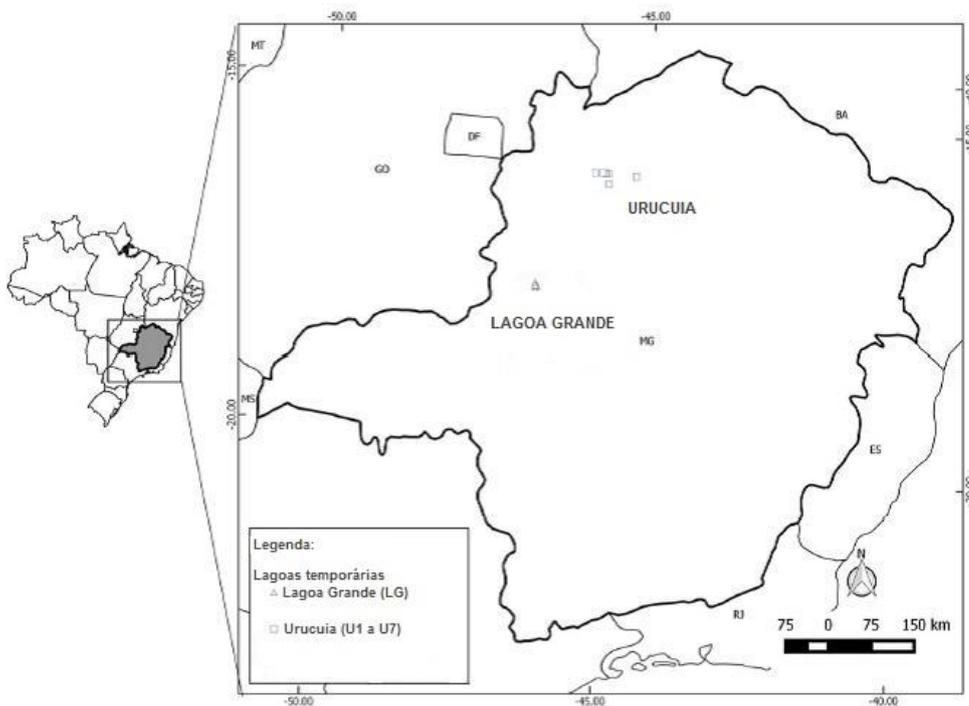


Figura 1.1. Mapa de localização das áreas de estudo, com sete lagoas temporárias amostradas no município de Urucuaia-MG, denominadas de U1 a U7, e uma lagoa temporária no município de Lagoa Grande-MG, denominada de LG.

Os códigos de denominação e as coordenadas geográficas dos ambientes de coleta estão apresentados na Tabela 1.1. Uma visão geral dos pontos está apresentada nas Figuras 1.2 e 1.3).

Tabela 1.1. Códigos de denominação, localização e coordenadas geográficas das oito lagoas temporárias amostradas.

Ponto de Coleta	Município	Coordenadas Geográficas
U1	Urucuia-MG	16°06'54.4"S 45°37'06.5"W
U2	Urucuia-MG	16°07'02.3"S 45°34'14.5"W
U3	Urucuia-MG	16°07'02.3"S 45°34'14.5"W
U4	Urucuia-MG	16°07'01.8"S 45°32'16.8"W
U5	Urucuia-MG	16°07'10.4"S 45°34'11.5"W
U6	Urucuia-MG	16°07'32.4"S 45°34'29.6"W
U7	Urucuia-MG	16°07'11.5"S 45°34'28.6"W
LG	Lagoa Grande-MG	17°48'01.1"S 46°33'41.8"W

3.2 Variáveis ambientais

A fim de caracterizar os ambientes amostrados, foram aferidas algumas características ambientais, tais como:

- *Profundidade e transparência da água*

A profundidade dos ambientes amostrados foi determinada através de corda graduada, amarrada a um peso. A transparência da água foi determinada pela medida da profundidade de desaparecimento visual de um Disco de Secchi (0,30m de diâmetro e cor branca) abaixado verticalmente na coluna d'água.

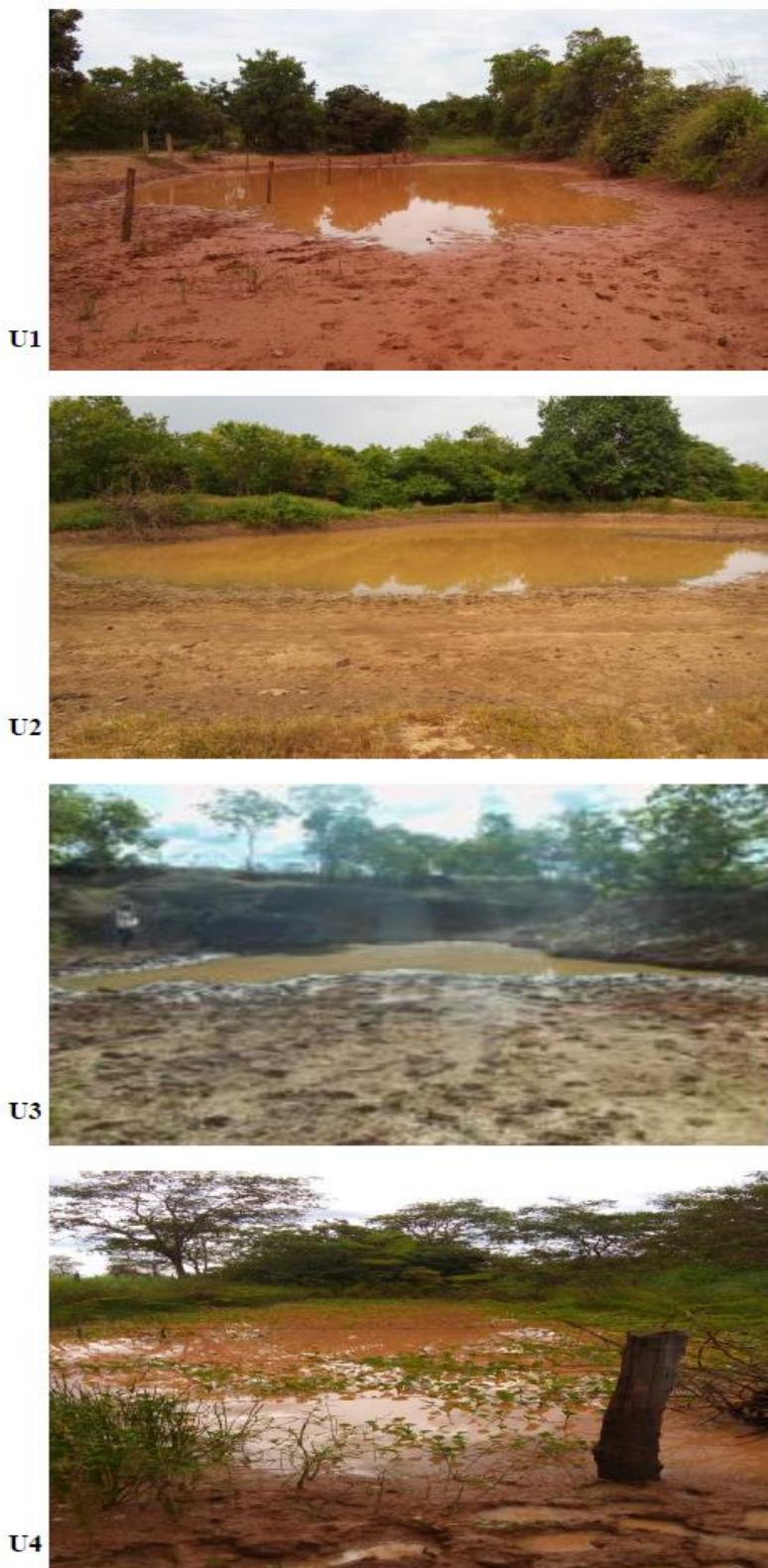


Figura 1.2. Visão geral das lagoas temporárias durante o período de coleta (31/01 a 02/02/2017). As lagoas denominadas de U1 a U4 são localizadas no município de Urucuia-MG.

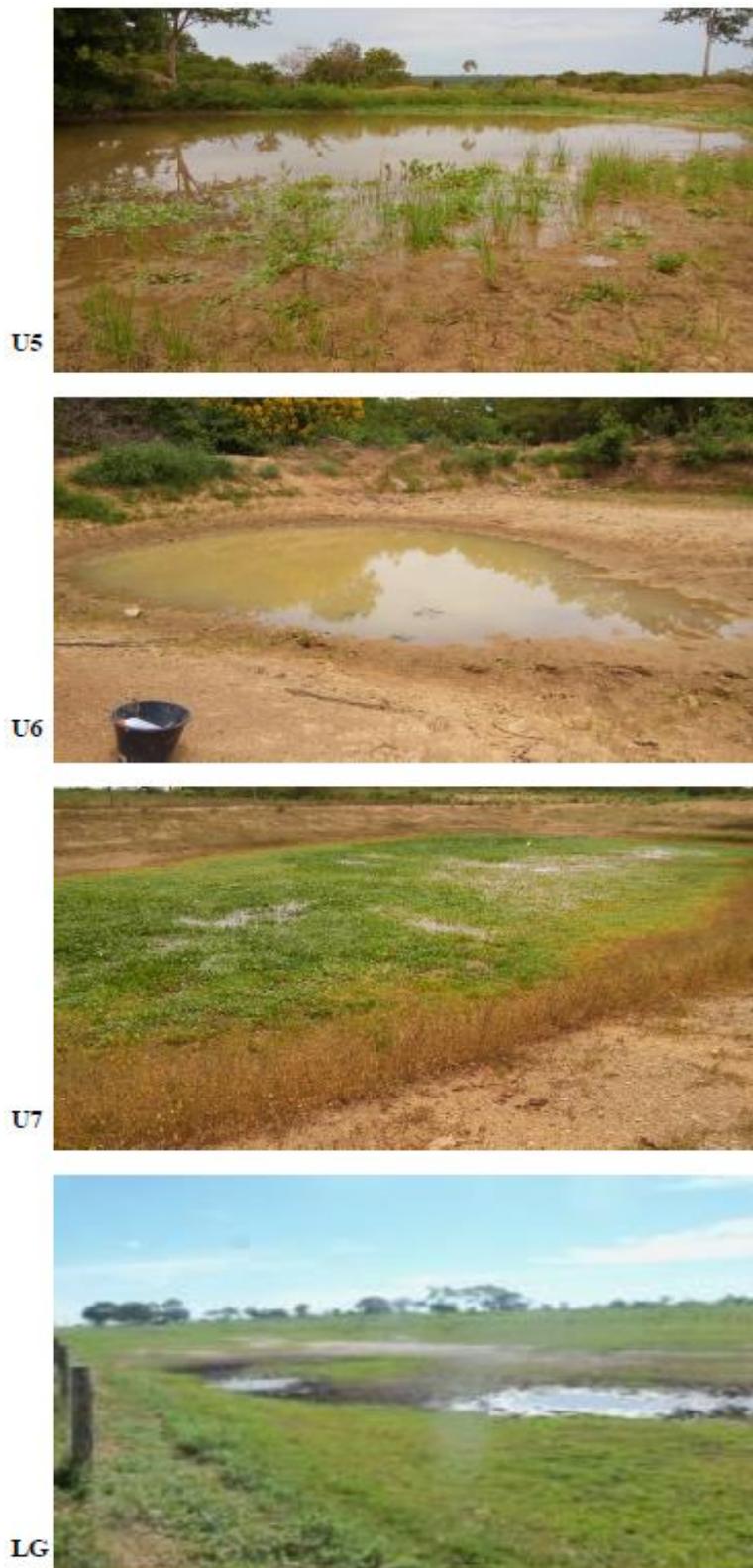


Figura 1.3. Visão geral das lagoas temporárias durante o período de coleta (31/01 a 02/02/2017). As lagoas denominadas de U5 a U7 são localizadas no município de Urucuia-MG, e LG, localizada no município de Lagoa Grande-MG.

- *pH e condutividade elétrica*

As medições de pH e condutividade elétrica da água coletada nos ambientes estudados foram medidas por meio de medidor de pH de bancada Analion PM608 e de condutivímetro de bancada Analion C708. Devido a um problema com a sonda multiparâmetro YSI em campo, não foi possível realizar medições das demais variáveis ambientais *in situ*.

- *Determinação da concentração de nutrientes totais*

Para a análise da concentração de nutrientes totais (nitrogênio total e fósforo total) as amostras de água foram coletadas manualmente na região subsuperficial com garrafas de polietileno (1 litro). Os recipientes contendo a água para análise foram mantidos resfriados desde o campo até ao laboratório, onde foram refrigerados a 0°C para posterior análise dos nutrientes totais. A quantificação de nitrogênio total Kjeldahl foi realizada por método titulométrico (Mackereth et al., 1978). A concentração de fósforo total foi obtida por método espectrofotométrico (Valderrama, 1981).

- *Determinação da concentração de sólidos suspensos*

Para as determinações da concentração dos sólidos suspensos (total, orgânico e inorgânico), foi utilizado o método gravimétrico (Cole, 1975). Após a coleta foram filtrados volumes conhecidos de amostras, utilizando-se microfiltros de fibra de vidro GF-C de 45mm (1,2 µm de porosidade), previamente calcinados em forno mufla a 450°C. Os microfiltros foram pesados em balança microanalítica Sartorius modelo MC21S (1µg de precisão).

- *Determinação da concentração de clorofila a*

A concentração de clorofila *a* foi obtida a partir de amostras coletadas na superfície, através do método de extração com acetona 90% (Golterman et al., 1978). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro HACH DR5000, nos comprimentos de onda de 663 nm e

750 nm, das amostras com e sem acidificação, utilizando-se como branco a solução de acetona 90%. Para a acidificação das amostras, foram utilizadas 2 gotas de HCL (0,1 N).

3.3. Comunidade zooplanctônica

Os organismos zooplanctônicos foram coletados utilizando-se rede de plâncton de abertura de malha de 68 μm , por meio de arrastos horizontais e, em seguida, foram fixados em formol 4%. A identificação dos espécimes em nível de espécie foi feita por meio de bibliografia especializada (Smirnov, 1974; Reid, 1985; Koste, 1986; Segers, 1995; Elmoor-Loureiro, 1997; Sinev, 2001; Nogrady, 2002; Rabet, 2006; Gomes E Souza, 2008; Van Damme et al., 2010; Rogers, 2013; Barros-Alves et al., 2016). Para as análises qualitativa e quantitativa, foi utilizado um microscópio estereoscópico de marca Leica® modelo MZ6 com aumento de até 50 vezes, e um microscópio óptico da marca Zeiss®, com câmara clara e com aumento de até 1000 vezes, ambos com ocular milimetrada. Para uma estimativa da densidade populacional (indivíduos. m^{-3}), os indivíduos de sub-amostras foram contados em câmara de Sedgewick-Rafter (Rotifera e protozoários), sob microscópio óptico, e em placas de acrílico quadriculadas (Anostraca, Cladocera e Copepoda), sob microscópio estereoscópico.

3.4 Diversidade funcional

A investigação da diversidade funcional iniciou-se com a classificação das espécies de acordo com seus traços funcionais. Para o sucesso da análise, é imprescindível que os traços escolhidos estejam disponíveis para todas as espécies, para que os resultados tenham significância. Assim sendo, para este estudo, foram selecionados dez traços funcionais para todas as espécies das lagoas amostradas: (1) grupo trófico (herbívoros, carnívoros e onívoros); (2) hábitos alimentares (raspadores, suspensívoros, raptorais, sugadores e os que se alimentam por meio de pseudópodes); (3) tipo de reprodução (sexuada, assexuada ou ambos); (4) tamanho das partículas de alimentos (pequena (P), de pequena a média (P-M) e de média a grande (M-G); (5) habitat (pelágico ou litorâneo); (6) número de gerações por ano / período de inundação (univoltina ou multivoltina); (7) fecundidade (baixa, média ou

alta); (8) duração do desenvolvimento embrionário (baixo, médio ou alto); (9) idade da primeira reprodução (baixa, média ou alta); e (10) longevidade (baixa, média ou alta) (Barnett, et al., 2007; Litchman et al. 2013).

Com relação ao grupo trófico, considerou-se a alimentação predominante de cada espécie, embora alguma delas apresente certa flexibilidade no tipo de alimento ingerido, por exemplo, alguns herbívoros também podem se alimentar de bactérias; foram consideradas espécies omnívoras que não têm dieta restrita, com dois ou mais tipos de preferência alimentar. Quanto aos hábitos alimentares, os raspadores foram considerados aqueles que capturam partículas associadas a qualquer tipo de substrato; suspensívoros geram fluxo de água na busca de alimentos, capturando as partículas em suspensão (busca ativa e captura passiva); raptorais são os predadores (tanto a busca como a captura dos alimentos estão ativos); sugadores são aqueles que capturam e sugam algas ou pequenos animais por sucção e aqueles que usam pseudópodes na captura de alimentos (protozoários amebóides). Os tamanhos das partículas alimentares foram baseados nos tamanhos de grupos planctônicos apresentados por Kalff (2002). Para este estudo, foram estabelecidas três faixas de tamanhos: P (partículas pequenas); P-M (partículas pequenas a médias) e M-G (partículas médias a grandes), e considerado o intervalo de alimentação predominante para cada espécie, uma vez que não necessariamente a alimentação dos animais é estritamente restrita às classes de tamanho estabelecidas. Considerou-se partículas de P menores do que 2 μm , isto é, vírus e bactérias menores que 0,2 μm e o nanoplâncton (fitoplâncton menor, de tamanho entre 0,5 a 2 μm), fonte de alimento para Protozoários e Rotífera, embora também possam ser parte da alimentação de crustáceos filtradores. Considerou-se de tamanho P-M partículas de 2 a 70 μm , ou seja, o nanoplâncton (de 2 a 30 μm , fitoplâncton frequentemente flagelado, a principal fonte de alimento para micro e macrozooplâncton) e microplâncton (30 a 70 μm , alimento para macrozooplâncton). Considerou-se de tamanho M-G as partículas alimentares acima de 70 μm , que incluem microplâncton > 70 μm (alimento para macrozooplâncton e omnívoros pelágicos ou bentônicos), mesoplâncton (200-20.000 μm , células grandes e coloniais), além de protozoários e animais do micro e macrozooplâncton.

Em relação ao habitat, embora as lagoas estudadas sejam muito pequenas e superficiais, o que torna difícil separar a espécie, a classificação levou em consideração as espécies que normalmente vivem em águas abertas (pelágicas) ou aquelas que geralmente

associam algum tipo de substrato, tais como macrófitas, algas filamentosas ou sedimentos (litorâneas), de acordo com a literatura.

Para o tipo de reprodução, além de considerar sexuada e assexuada, foi considerada uma terceira classificação para espécies que apresentam ambos os tipos de reprodução, como cladóceros, por exemplo. Essa combinação dos dois tipos de reprodução é especialmente importante em ecossistemas temporários, porque a reprodução ocorre de forma assexuada (por partenogênese) no período de inundação, mas o estresse causado quando o meio ambiente está secando induz a formação de ovos resistentes através da reprodução sexual. Neste traço funcional, foi considerada a reprodução predominante para cada espécie, embora possa haver mudanças dependendo das condições ambientais.

Para classificar os organismos quanto ao número de gestações a cada cheia dos ambientes, os organismos foram denominados univoltinos (que se reproduzem apenas uma vez, resultando em apenas uma geração a cada cheia) e multivoltinos (que se reproduzem mais de uma vez por cheia). Para a fecundidade (número de ovos produzidos por fêmea), estabeleceu-se três intervalos: baixa, média e alta. Como baixa fecundidade foi considerada a produção de 1 a 2 ovos por fêmea; média, de 3 a 20 ovos; e alta fecundidade, mais de 20 ovos. Para nauplios e copepoditos, a fecundidade foi considerada nula, uma vez que ainda não estão no estágio reprodutivo. Para protozoários, que não produzem ovos, foi estabelecida a de número 1, uma vez que se reproduzem por bipartição e cada indivíduo que se divide acrescenta um novo indivíduo à população (Kalff, 2002).

Durante o desenvolvimento embrionário, também foram considerados três intervalos: baixo, quando o desenvolvimento embrionário ocorre em menos de 1 dia; médio, quando o desenvolvimento se dá entre 1 e 1,5 dias; e alto para tempo de desenvolvimento embrionário superior a 1,5 dias. Embora os protozoários não tenham desenvolvimento embrionário, estes foram incluídos na categoria baixa, já que o tempo necessário para gerar um novo indivíduo por bipartição é muito curto. E por fim, para a média de idade da primeira reprodução, em dias, estabeleceu-se baixa idade, menos de 2 dias; média, entre 2 e 5 dias; e alta, acima de 5 dias. Para a longevidade (em dias), a baixa, longevidade é inferior a 10 dias; a média, entre 10 e 20 dias, e alta, acima de 20 dias. Para as novas fases de Copepoda Cyclopoida, foi atribuída como longevidade a duração do

desenvolvimento de cada uma delas, isto é, de náuplios a copepoditos e de copepoditos a adultos.

Após a classificação por traços, a definição dos grupos funcionais foi realizada por análise multivariada de agrupamento, a partir dos dados de traços de cada espécie (Pla et al., 2012). O método de agrupamento utilizado foi o de Ward, que produz agrupamentos mais bem definidos que outros métodos. O software utilizado foi o gratuito R 3.4.2 (R Development Core Team, 2017), utilizando o pacote FD (Laliberté e Legendre, 2010; Laliberté et al., 2014). Para verificar a existência de correlação entre os parâmetros ambientais e os grupos funcionais, foi realizada análise de correspondência canônica (CCA) por meio do software gratuito R 3.4.2 (R Development Core Team, 2017). Foi analisado também o nível de significância entre parâmetros ambientais e bióticos, por meio do teste de Monte Carlo, estabelecendo-se valor de $p \leq 0,5$.

Foi calculado o índice de dispersão funcional (FDis), que reflete como as espécies estão distribuídas no ambiente, relacionando também o número de traços funcionais, o número de espécies e suas respectivas abundâncias. Com isso, é possível prever se a distribuição das espécies se dá de maneira convergente (baixa diversidade funcional) ou divergente (alta diversidade funcional) (Laliberté e Legendre, 2010). Esse índice foi calculado a partir de duas matrizes: espécies x traços funcionais e espécies x abundâncias relativas, por meio do pacote FD do software gratuito R 3.4.2.

Para análise da diversidade taxonômica, foram calculados índices de Riqueza e de Diversidade Shannon (H'), através do pacote Vegan do software gratuito R 3.4.2.

3.5 Cálculo da biomassa das espécies zooplanctônicas

Para as principais espécies de rotíferos, a estimativa da biomassa foi realizada por técnica na qual é calculado o biovolume por meio de fórmulas matemáticas específicas correspondentes às formas geométricas que mais se assemelham aos indivíduos (Ruttner-Kolisko, 1977). Foram medidos 30 indivíduos de cada espécie sob microscópio óptico munido de ocular micrometrada. Após o volume ser estimado, este é convertido em peso

úmido considerando a densidade específica de 1,0 ($1 \mu\text{m}^3 = 10^{-6} \mu\text{g}$ peso úmido), utilizando fator de correção 0,1 para a conversão de peso úmido em peso seco (Bottrell et al., 1976).

Para Cladocera e Copepoda, a biomassa foi determinada por regressão linear conforme Bottrell et al. (1976), relacionando comprimento corporal (mm) e peso seco (μg). Foram medidos 30 indivíduos de cada espécie. Essa regressão linear baseia-se na fórmula abaixo:

$\text{Ln } W = \text{Ln } a + b \text{ Ln } L$		
	Ln a	B
Cladocera	1,7512	2,6530
Copepoda	1,9526	2,3990

onde:

a e **B** são constantes obtidas no modelo de regressão linear entre peso e comprimento; **L** é o comprimento médio (mm); **n** é o número de observações; e **W** é o peso médio.

4. Resultados

4.1. Variáveis ambientais

As medidas registradas para as variáveis ambientais nos oito ecossistemas aquáticos temporários do noroeste de Minas Gerais expressaram que, em geral, a transparência da água esteve baixa, não ultrapassando 10 cm. O menor valor de transparência foi de 2 cm. Os valores de pH foram de levemente ácidos a neutros, variando de 5,91 a 7,27. A condutividade elétrica das amostras de água das lagoas esteve entre 18,9 a 58,4 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Para nitrogênio total (Nt), os valores foram relativamente altos em todos os ambientes, variando de 2.216 a 4.733 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, sendo que, apenas para o ponto de coleta LG, não foi possível quantificar a concentração do Nt pela técnica utilizada. As concentrações de fósforo total (Pt) dos pontos amostrados variaram de 92,5 a 1714 ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). As concentrações de sólidos suspensos totais tiveram grande variação, ficando entre 19,89 e 833,86 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, sendo que a parcela de material suspenso inorgânico variou de 15,37 a 707,48 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, enquanto que o material suspenso orgânico teve variação entre 4,52 e 126,38 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ entre os ambientes amostrados. As concentrações de clorofila *a* foram muito baixas, com valores variando de 0,010 a 0,123 $\mu\text{g}/\text{L}^{-1}$. Na tabela 1.2 são apresentados os valores das variáveis ambientais de cada ponto amostrado.

Tabela 1.2. Valores registrados para as variáveis ambientais de oito ecossistemas aquáticos temporários do noroeste de Minas Gerais. Prof. = profundidade; Transp. = transparência; Cond. = condutividade; Nt = nitrogênio total; Pt = fósforo total; St = sólidos suspensos totais; MI = fração inorgânica dos sólidos suspensos; MO = fração orgânica dos sólidos suspensos; Clor. a = Clorofila *a*; Temp. amb. = temperatura ambiente

	Prof. (cm)	Transp. (cm)	pH	Cond. ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	Nt ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Pt ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	St ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	MI ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	MO ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Clor. a ($\mu\text{g}/\text{L}^{-1}$)	Temp. amb ($^{\circ}\text{C}$)
U1	25	5	5.91	18.9	2.233	133,33	225,34	198,74	26,60	0,025	35
U2	30	5	7.27	58.4	2.300	92,50	136,50	122,27	14,23	0,067	22
U3	35	5	6.61	42.7	4.450	110,00	47,50	39,51	7,99	0,018	22
U4	15	5	7.23	53.3	4.733	147,50	59,89	52,34	7,56	0,123	35
U5	20	7	6.56	39.1	2.216	88,33	19,89	15,37	4,52	0,010	35
U6	30	5	6.58	32.5	2.083	90,83	37,69	31,21	6,48	0,037	30
U7	10	10	6.65	33.8	3.000	110,83	39,42	25,02	14,40	0,052	33
LG	8	2	6.55	30.8	-	1714,16	833,86	707,48	126,38	0,019	33

4.2 Comunidade zooplanctônica

Composição de espécies

As comunidades zooplanctônicas dos oito ambientes amostrados são compostas de espécies da ordem Anostraca, dos grupos de microcrustáceos Cladocera e Copepoda, do Filo Rotifera e também de protozoários. Em geral, os grupos zooplanctônicos apresentaram distribuição parecida entre os ambientes, com relação à riqueza de espécies. Foram identificadas um total de 28 espécies, sendo que, dentre os grupos observados, Rotifera foi o que apresentou o maior número de táxons (11). Cladocera foi o segundo grupo com maior número de táxons, contendo sete espécies, seguido do grupo Copepoda com cinco táxons. Duas espécies do Anostraca *Dendrocephalus* foram registradas, em sete dos oito pontos amostrados. A tabela 1.3 apresenta a relação das espécies registradas para cada ponto amostrado.

As espécies, de um modo geral, ocorreram de maneira bem distribuída entre os pontos amostrados. Os Anostraca ocorreram de maneira frequente nos oito pontos amostrados, sendo uma das espécies, *Dendrocephalus brasiliensis*, localizada em seis dos oito pontos, e a outra espécie, *Dendrocephalus thieryi*, localizada em apenas um dos pontos. Dentre os cladóceros, a espécie de maior ocorrência nos ecossistemas estudados foi a *Moina minuta*, que foi registrada em 87,5% dos pontos amostrados, seguida de *Simocephalus latirostris*, que ocorreu em 50% dos pontos. As demais espécies de cladóceros ocorreram de maneira esporádica e pouco frequente. No grupo Copepoda, a maior frequência de ocorrência dos táxons registrada se deu para copepoditos e náuplios de Cyclopoida (sem diferenciação entre espécies), que estiveram presentes em 65% e 50% dos pontos amostrados, respectivamente. Os demais táxons do grupo não estiveram presentes em muitos dos pontos. Rotifera, embora seja o grupo com o maior número de táxons nos ambientes de coleta, foi o grupo cujas espécies ocorreram de maneira mais distribuída entre os pontos, sendo todas pouco frequentes e esporádicas em cada um dos ambientes estudados. O grupo dos protozoários, de modo geral, ocorreu de maneira esporádica nos pontos amostrados. A Tabela 1.4 representa a frequência de ocorrência de todas as espécies amostradas nos oito ambientes amostrados.

Tabela 1.3. Densidades numéricas (ind m⁻³) das espécies e fases de desenvolvimento registradas para os principais grupos da comunidade zooplanctônica amostrada em oito lagoas temporárias do noroeste de Minas Gerais. De U1 a U7 são lagoas amostradas no município de Urucuaia-MG e LG, a lagoa amostrada no município de Lagoa Grande-MG.

	U1	U2	U3	U4	U5	U6	U7	LG
Anostraca								
<i>Dendrocephalus brasiliensis</i>		145	86	108	45	117		
<i>Dendrocephalus thieryi</i>	58							230
Cladocera								
<i>Alona glabra</i>							250	
<i>Ceriodaphnia cornuta cornuta</i>							700	
<i>Ceriodaphnia cornuta righaudi</i>				2				
<i>Ilyocryptus spnifer</i>					42		500	
<i>Macrothrix squamosa</i>							300	
<i>Moina minuta</i>	840	157	900	48	1000		4719	3200
<i>Simocephalus latirostris</i>		57	20		42		990	
Copepoda								
Cyclopoida								
<i>Mesocyclops longisetus</i>				0,3				
<i>Thermocyclops decipiens</i>		8	330				820	
<i>Thermocyclops minutus</i>	230	168						
Copepoditos de Cyclopoida		1447		22	9000	39750		160
Náuplios de Cyclopoida		1415		27	160000	9000		
Rotifera								
<i>Asplanchna sieboldi</i>				5			100	
<i>Brachionus angularis</i>						2250		
<i>Brachionus calyciflorus</i>		157						
<i>Lecane bulla</i>					1250			
<i>Lecane curvicornis</i>	340						500	
<i>Lecane furcata</i>							230	
<i>Lecane lunaris</i>	800		1200				1900	
<i>Lecane papuana</i>		1600						
<i>Plathionus patulus</i>		900	1000				500	
<i>Polyarthra aff vulgaris</i>	507						702	
Bdelloidea				2		58500		4000
Protozoa								
<i>Arcella mitrata</i>						750		
<i>Diffflugia corona</i>					3750			
<i>Diffflugia oblonga</i>						750		
Densidade total	2775	6054	3536	213	175128	111117	12211	7590

Tabela 1.4. Lista de espécies e fases de desenvolvimento da comunidade zooplanctônica, suas frequências de ocorrência (%) e a respectiva classificação de frequência para oito lagoas temporárias do noroeste de Minas Gerais. De U1 a U7 são lagoas amostradas no município de Urucuaia-MG e LG, amostrada no município de Lagoa Grande-MG.

	U1	U2	U3	U4	U5	U6	U7	LG	FO%	Classificação
Anostraca										
<i>Dendrocephalus brasiliensis</i>		*	*	*	*	*			75,0	Frequente
<i>Dendrocephalus thieri</i>	*							*	12,5	Esporádica
Cladocera										
<i>Alona glabra</i>							*		12,5	Esporádica
<i>Ceriodaphnia cornuta cornuta</i>							*		12,5	Esporádica
<i>Ceriodaphnia cornuta righaudi</i>				*					12,5	Esporádica
<i>Ilyocryptus spnifer</i>					*		*		25,0	Pouco frequente
<i>Macrothrix squamosa</i>							*		12,5	Esporádica
<i>Moina minuta</i>	*	*	*	*	*		*	*	87,5	Muito frequente
<i>Simocephalus latirostris</i>		*	*		*		*		50,0	Frequente
Copepoda										
Cyclopoida										
<i>Mesocyclops longisetus</i>				*					12,5	Esporádica
<i>Thermocyclops decipiens</i>		*	*				*		37,5	Pouco frequente
<i>Thermocyclops minutus</i>	*	*							25,0	Pouco frequente
Copepoditos de Cyclopoida		*		*	*	*		*	65,5	Frequente
Náuplios de Cyclopoida		*		*	*	*			50,0	Frequente
Rotífera										
<i>Asplanchna sieboldi</i>				*			*		25,0	Pouco frequente
<i>Brachionus angularis</i>						*			12,5	Esporádica
<i>Brachionus calyciflorus</i>		*							12,5	Esporádica
<i>Lecane bulla</i>					*				12,5	Esporádica
<i>Lecane curvicornis</i>	*						*		25,0	Pouco frequente
<i>Lecane furcata</i>							*		12,5	Pouco frequente
<i>Lecane lunaris</i>	*		*				*		37,5	Pouco frequente
<i>Lecane papuana</i>		*							12,5	Esporádica
<i>Plathionus patulus</i>		*	*				*		37,5	Pouco frequente
<i>Polyarthra aff vulgaris</i>	*						*		25,0	Pouco frequente
Bdelloidea				*		*		*	37,5	Pouco frequente
Protozoa										
<i>Arcella mitrata</i>						*			12,5	Esporádica
<i>Diffflugia corona</i>					*				12,5	Esporádica
<i>Diffflugia oblonga</i>						*			12,5	Esporádica
Riqueza total	6	10	6	8	8	7	13	4		

Para investigar correlações entre variáveis ambientais e a densidade da comunidade zooplanctônica dos oito ambientes aquáticos temporários estudados, foi realizada a análise de correspondência canônica (CCA), que está apresentada na figura 1.4. Os dois primeiros eixos da CCA explicaram 86,1% dos dados. A análise indica que os grupos Copepoda e Protozoa estão relacionados às variáveis condutividade e transparência. Rotífera está correlacionado com o pH, enquanto os grupos Anostraca e Cladocera estão relacionados com as variáveis indicativas de maior trofia, como fósforo, nitrogênio e sólidos totais,

assim como os ambientes U1, U4, U7 e LG. Os pontos U2, U3 e U6 se correlacionam com o pH, e o ponto U5 foi associado às variáveis condutividade e transparência.

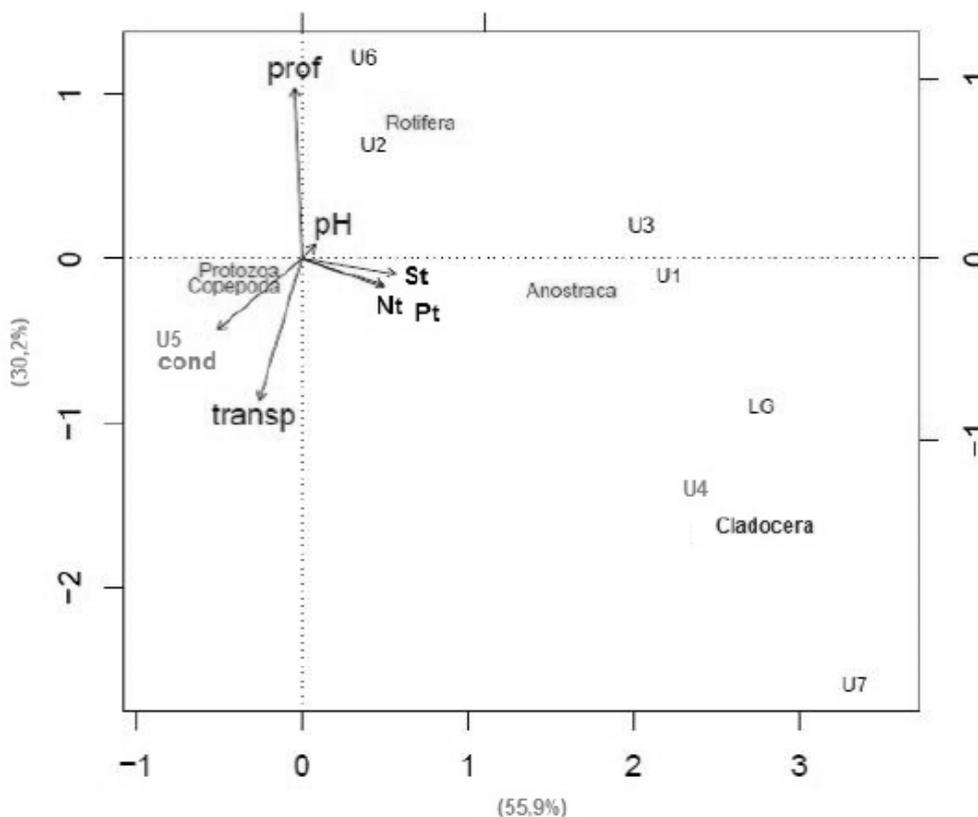


Figura 1.4. Análise de Correspondência Canônica (CCA) aplicada aos parâmetros ambientais e à densidade da comunidade zooplancônica de oito ambientes aquáticos temporários do noroeste de Minas Gerais.

Biomassa

A fim de complementar as informações sobre o funcionamento dos processos ecológicos nos ecossistemas aquáticos estudados, foi realizada a quantificação da biomassa da comunidade zooplancônica, expressa em $\mu\text{g PS m}^{-3}$. Anostraca foi o grupo mais representativo no que se refere à biomassa. O grupo Copepoda foi o segundo grupo que representou maior biomassa, seguido de Protozoa. Os menores valores de biomassa foram dados por Cladocera e Rotifera. A lagoa temporária amostrada com maior biomassa total foi U6, seguida de LG e U4. A lagoa que apresentou menor quantidade de biomassa total foi U7 (Tabela 1.5).

Tabela 1.5. Biomassa das espécies e fases de desenvolvimento ($\mu\text{g PS m}^{-3}$) registradas para os grupos da comunidade zooplanctônica de oito lagoas temporárias do noroeste de Minas Gerais. De U1 a U7 são lagoas amostradas no município de Urucuia-MG e LG, a lagoa amostrada no município de Lagoa Grande-MG.

	U1	U2	U3	U4	U5	U6	U7	LG
Anostraca								
<i>Dendrocephalus brasiliensis</i>		27405	43000	183600	13500	257000		
<i>Dendrocephalus thieryi</i>	106140							391000
Cladocera								
<i>Alona glabra</i>							328	
<i>Ceriodaphnia cornuta cornuta</i>							906	
<i>Ceriodaphnia cornuta righaudi</i>				6				
<i>Ilyocryptus spnifer</i>					72		818	
<i>Macrothrix squamosa</i>							460	
<i>Moina minuta</i>	941	179	1117	58	1118		5261	3569
<i>Simocephalus latirostris</i>		213	75		157		3678	
Copepoda								
Cyclopoida								
<i>Mesocyclops longisetus</i>				2,0				
<i>Thermocyclops decipiens</i>		21	769				1862	
<i>Thermocyclops minutus</i>	390	292						
Copepoditos de Cyclopoida		3168		29	1036	45712		187
Náuplios de Cyclopoida		655		23	72939	4112		
Rotifera								
<i>Asplanchna sieboldi</i>				8,9			194	
<i>Brachionus angularis</i>						450		
<i>Brachionus calyciflorus</i>		31,4						
<i>Lecane bulla</i>					329,5			
<i>Lecane curvicornis</i>	70,4						103,5	
<i>Lecane furcata</i>							36,7	
<i>Lecane lunaris</i>	166		249				393	
<i>Lecane papuana</i>		192						
<i>Plathionus patulus</i>		435	483				242	
<i>Polyarthra aff vulgaris</i>	312						432	
Bdelloidea				1,8		11285		880
Protozoa								
<i>Arcella mitrata</i>						61425		
<i>Diffflugia corona</i>					9375			
<i>Diffflugia oblonga</i>						20873		
Biomassa total	108019	32591	45693	183729	98527	400857	14714	395636

4.3 Diversidade Funcional

A tabela 1.6 contém os traços funcionais selecionados para a comunidade zooplanctônica das lagoas temporárias explorados neste estudo. Após a classificação da comunidade zooplanctônica de acordo com seus traços funcionais, foi realizada uma análise multivariada de agrupamento que identificou sete grupos funcionais distintos:

Grupo funcional 1: Copepoda Cyclopoida, carnívoros de hábito raptorial. Os organismos desse grupo raptam partículas alimentares de médio e grande tamanho, são de habitat litorâneo e reprodução sexuada. Se reproduzem mais de um vez por cheia e possuem altas taxas de fecundidade, de tempo de desenvolvimento, alta idade reprodutiva e também alta longevidade.

Grupo funcional 2: Anostraca e o Cladocera *Simocephalus latirostris*. Esse grupo se caracteriza por organismos herbívoros suspensívoros, que ingerem partículas alimentares de tamanho pequeno e médio, são de habitat pelágico e de reprodução sexuada (em ambientes temporários a reprodução dos cladóceros é predominantemente sexuada). Organismos desse grupo se assemelham pela alta fecundidade e alta idade da primeira reprodução, assim como alta longevidade.

Grupo funcional 3: Esse grupo é composto por todas as espécies de cladóceros amostrados, com exceção de *Simocephalus latirostris*. O grupo se caracteriza por espécies herbívoras, suspensívoras e raspadoras, que ingerem pequenas e médias partículas alimentares. Os organismos desse grupo possuem médio tempo de desenvolvimento, assim como tempo da primeira idade reprodutiva e de longevidade considerado médio.

Grupo funcional 4: Grupo composto por Copepoditos e náuplios de Copepoda Cyclopoida. Organismos desse grupo são onívoros, raptorais e suspensívoros, habitam regiões litorâneas e pelágicas e são semelhantes entre si por não estarem em estágio reprodutivo, tendo nulos os tempos de fecundidade, de desenvolvimento e idade reprodutiva.

Tabela 1.6. Traços funcionais listados para as espécies e fases de desenvolvimento registrados em oito lagoas temporárias do noroeste de Minas Gerais.

	Grupo trófico	Hábito alimentar	Tamanho partículas alimentares	Habitat	Reprodução	Número gerações por cheia	Fecund.	Tempo desenvolv. embrionário	Idade primeira reprodução	Longevidade
Anostraca										
<i>Dendrocephalus brasiliensis</i>	herbívoro	suspensívoros	P-M	pelágico	sexuada	univoltina	alta	alto	alta	alta
<i>Dendrocephalus thieryi</i>	herbívoro	suspensívoros	P-M	pelágico	sexuada	univoltina	alta	alto	alta	alta
Cladocera										
<i>Alona glabra</i>	herbívoro	raspador	P-M	litorâneo	ambas	multivoltina	baixa	médio	média	média
<i>Ceriodaphnia cornuta cornuta</i>	herbívoro	suspensívoro	P-M	pelágico	ambas	multivoltina	baixa	médio	média	média
<i>Ceriodaphnia cornuta righaudi</i>	herbívoro	suspensívoro	P-M	pelágico	ambas	multivoltina	baixa	médio	média	média
<i>Ilyocryptus spnifer</i>	herbívoro	raspador	P-M	litorâneo	ambas	multivoltina	média	médio	média	média
<i>Macrothrix squamosa</i>	herbívoro	raspador	P-M	litorâneo	ambas	multivoltina	média	médio	média	média
<i>Moina minuta</i>	herbívoro	suspensívoro	P-M	pelágico	ambas	multivoltina	média	médio	média	média
<i>Simocephalus latirostris</i>	herbívoro	suspensívoro	P-M	pelágico	ambas	multivoltina	alta	médio	alta	alta
Copepoda										
Cyclopoida										
<i>Mesocyclops longisetus</i>	carnívoro	raptorial	M-G	litorâneo	sexuada	multivoltina	alta	alto	alta	alta
<i>Thermocyclops decipiens</i>	carnívoro	raptorial	M-G	litorâneo	sexuada	multivoltina	alta	alto	alta	alta
<i>Thermocyclops minutus</i>	carnívoro	raptorial	M-G	litorâneo	sexuada	multivoltina	alta	alto	alta	alta
Copepoditos de Cyclopoida	onívoro	raptorial	M-G	litorâneo	nula	nula	nula	nulo	nula	média
Náuplios de Cyclopoida	onívoro	suspensívoro	P-M	pelágico	nula	nula	nula	nulo	nula	baixa
Rotifera										
<i>Asplanchna sieboldi</i>	onívoro	raptorial	M-G	pelágico	assexuada	multivoltina	baixa	baixo	baixa	baixa
<i>Brachionus angularis</i>	herbívoro	suspensívoro	P	pelágico	assexuada	multivoltina	baixa	baixo	baixa	baixa
<i>Brachionus calyciflorus</i>	herbívoro	suspensívoro	P	pelágico	assexuada	multivoltina	baixa	baixo	baixa	baixa
<i>Lecane bulla</i>	herbívoro	suspensívoro	P	litorâneo	assexuada	multivoltina	baixa	baixo	baixa	baixa
<i>Lecane curvicornis</i>	herbívoro	suspensívoro	P	litorâneo	assexuada	multivoltina	baixa	baixo	baixa	baixa
<i>Lecane furcata</i>	herbívoro	suspensívoro	P	litorâneo	assexuada	multivoltina	baixa	baixo	baixa	baixa
<i>Lecane lunaris</i>	herbívoro	suspensívoro	P	litorâneo	assexuada	multivoltina	baixa	baixo	baixa	baixa
<i>Lecane papuana</i>	herbívoro	suspensívoro	P	litorâneo	assexuada	multivoltina	baixa	baixo	baixa	baixa
<i>Plathionus patulus</i>	herbívoro	suspensívoro	P	pelágico	assexuada	multivoltina	baixa	baixo	baixa	baixa
<i>Polyarthra aff vulgaris</i>	herbívoro	sugador	P	pelágico	assexuada	multivoltina	baixa	baixo	baixa	baixa
Bdelloidea	herbívoro	suspensívoro	P	litorâneo	assexuada	multivoltina	baixa	baixo	baixa	baixa
Protozoa										
<i>Arcella mitrata</i>	onívoro	pseudopodes	P	litorâneo	assexuada	multivoltina	baixa	baixo	baixa	baixa
<i>Diffflugia corona</i>	onívoro	pseudopodes	P	litorâneo	assexuada	multivoltina	baixa	baixo	baixa	baixa
<i>Diffflugia oblonga</i>	onívoro	pseudopodes	P	litorâneo	assexuada	multivoltina	baixa	baixo	baixa	baixa

Grupo funcional 5: Esse grupo todo é composto por Rotifera, todos herbívoros suspensívoros, que ingerem partículas alimentares de pequeno tamanho e possuem habitat pelágicos e litorâneos. A reprodução é assexuada e todos possuem baixa fecundidade, baixo tempo de desenvolvimento, e a idade da primeira reprodução e longevidade também são baixos.

Grupo funcional 6: Os organismos pertencentes a esse grupo são todos Protozoa. São onívoros e se alimentam por pseudópodes, ingerem partículas alimentares de pequeno tamanho. São de habitat litorâneo, apenas uma espécie é de hábito pelágico (*Plathionus patulus*), reprodução assexuada e possuem fecundidade, tempo de desenvolvimento, idade da primeira reprodução e longevidade todos baixos.

Grupo funcional 7: Grupo composto por duas espécies de Rotifera, de habitat pelágico, uma espécie é onívora raptorial (*Asplanchna sieboldi*) e outra é herbívora sugadora (*Polyarthra aff vulgaris*). Se reproduzem assexuadamente e possuem fecundidade, tempo de desenvolvimento, idade da primeira reprodução e longevidade considerados baixos.

O dendrograma gerado pela análise de agrupamento a partir dos traços funcionais de cada espécie está apresentado na Figura 1.5. A composição de cada grupo funcional também foi apresentada na Tabela 1.7. Na Tabela 1.8 são apresentados os valores de abundância relativa de cada grupo funcional, em cada ambiente temporário amostrado. A partir dos dados de abundância relativa, foi gerada uma Análise de Correspondência Canônica, a fim de relacionar a abundância de cada grupo funcional nos pontos com parâmetros ambientais (Figura 1.5).

A análise de correspondência canônica (CCA) referente às abundâncias dos grupos funcionais e às variáveis ambientais registradas nos oito ambientes aquáticos temporários explicou, pelos dois primeiros eixos, 73% dos dados. É possível observar, a partir desta análise que os grupos funcionais 1 e 5 foram correlacionados aos sólidos totais em suspensão. O grupo 2 relacionou-se com a profundidade, pH, fósforo e nitrogênio totais. O grupo 3 e 7 estão relacionados com transparência, e os grupo 4 e 6 não apresentaram correlação com as variáveis dos ambientes amostrados.

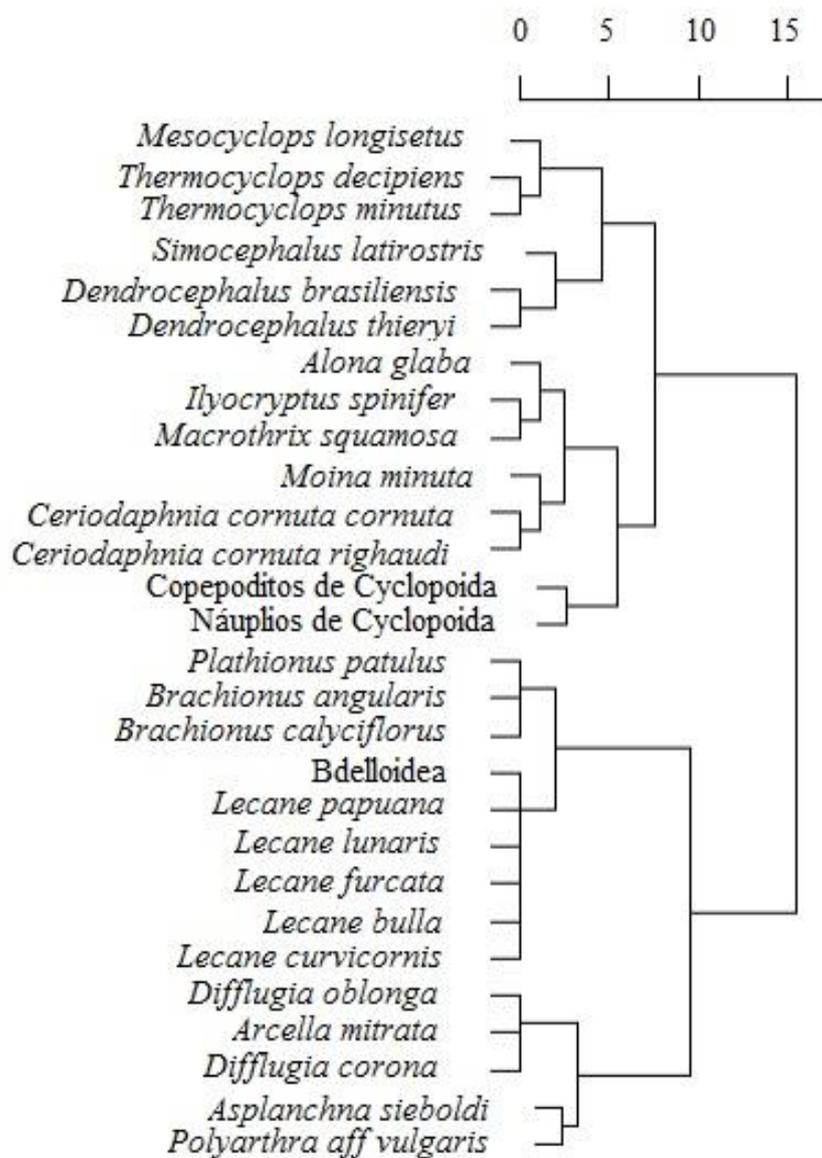


Figura 1.5. Dendrograma de agrupamento dos traços funcionais definidos para as espécies zooplantônicas coletadas nas oito lagoas temporárias do noroeste de Minas Gerais.

Tabela 1.7. Grupos funcionais definidos por análise de agrupamento dos traços funcionais da comunidade zooplancônica de oitos ambientes aquáticos temporários do noroeste de Minas Gerais.

G1	<i>Mesocyclops longisetus</i> <i>Thermocyclops decipiens</i> <i>Thermocyclops minutus</i>
G2	<i>Simocephalus latirostris</i> <i>Dendrocephalus brasiliensis</i> <i>Dendrocephalus thieryi</i>
G3	<i>Alona glabra</i> <i>Ilyocryptus spnifer</i> <i>Macrothrix squamosa</i> <i>Moina minuta</i> <i>Ceriodaphnia cornuta cornuta</i> <i>Ceriodaphnia cornuta righaudi</i>
G4	Copepoditos de Cyclopoida Náuplios de Cyclopoida
G5	<i>Plathionus patulus</i> <i>Brachionus angularis</i> <i>Brachionus calyciflorus</i> Bdelloidea <i>Lecane papuana</i> <i>Lecane lunaris</i> <i>Lecane furcata</i> <i>Lecane bulla</i> <i>Lecane curvicornis</i>
G6	<i>Diffflugia oblonga</i> <i>Arcella mitrata</i> <i>Diffflugia corona</i>
G7	<i>Asplanchna sieboldi</i> <i>Polyarthra aff vulgaris</i>

Tabela 1.8. Abundância relativa (%) dos grupos funcionais definidos para a comunidade de organismos zooplancônicos de oito ambientes aquáticos temporários do noroeste de Minas Gerais.

	U1	U2	U3	U4	U5	U6	U7	LG
G1	16,7	20	16,7	12,5	0	0	7,7	0
G2	16,7	20	33,3	12,5	25	14,2	7,7	25
G3	16,7	10	16,7	25	25	0	38,5	25
G4	0	20	0	25	25	28,6	0	25
G5	33,2	30	33,3	12,5	12,5	28,6	30,8	25
G6	0	0	0	0	12,5	28,6	0	0
G7	16,7	0	0	12,5	0	0	15,3	0

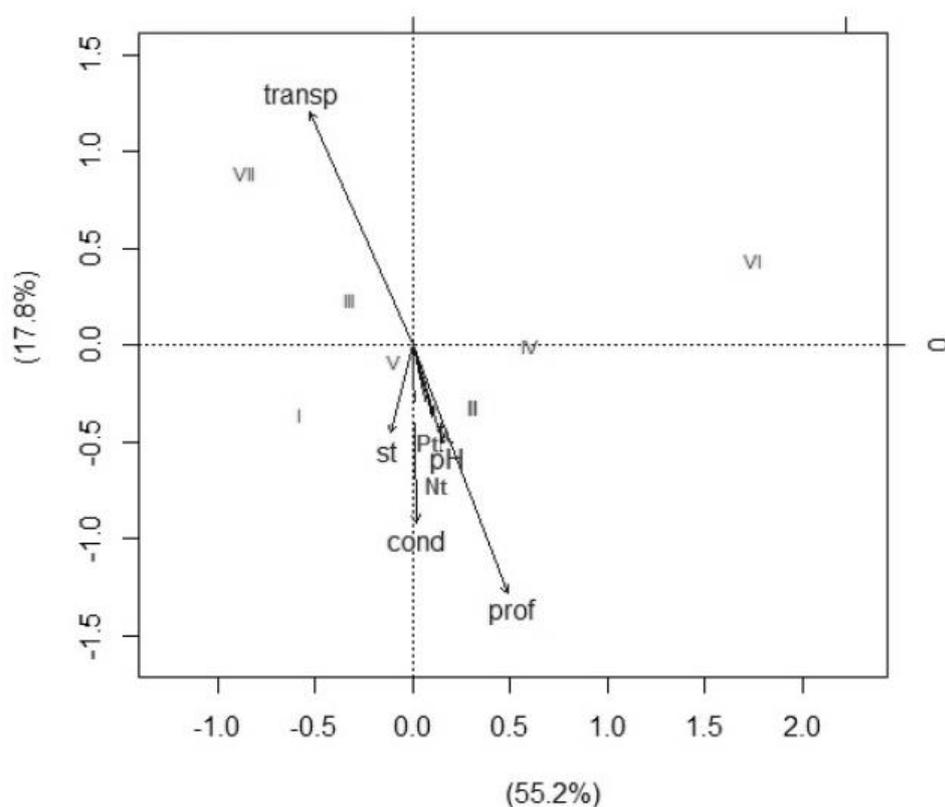


Figura 1.6. Análise de Correspondência Canônica (CCA) aplicada aos parâmetros ambientais e às abundâncias relativas dos sete grupos funcionais da comunidade zooplancônica das oito lagoas temporárias do noroeste de Minas Gerais.

Em geral todos os ambientes apresentaram baixa diversidade funcional (FDis), tendo esse índice variado de 0,12 a 0,45. O menor valor foi registrado no ambiente LG e o maior valor em U2. O índice de diversidade Shannon (H') variou de 0,78, em U5, a 1,74, no ambiente U2. Com relação à riqueza de espécies, em geral os ambientes apresentaram valores baixos, variando entre 4 e 13 espécies. O ambiente com maior índice foi o U7, com 13 espécies, e a menor riqueza de espécies foi encontrada no ambiente de LG.

Na tabela 1.9, são apresentados os pontos amostrados, com os valores de cada índice de diversidade.

Tabela 1.9. Índices de Riqueza, Diversidade de Shannon (H') e Diversidade Funcional (FDis) calculados para a comunidade zooplânctônica dos oito ambientes temporários no noroeste de Minas Gerais.

	Riqueza	Diversidade de Shannon (H')	Diversidade Funcional (FDis)
U1	6	1,57	0,21
U2	10	1,74	0,45
U3	6	1,41	0,25
U4	8	1,35	0,39
U5	8	0,78	0,26
U6	7	1,22	0,31
U7	13	0,94	0,28
LG	4	0,88	0,12

5. Discussão

Lagoas temporárias e comunidade zooplanctônica

Ecossistemas aquáticos temporários possuem uma grande importância evolutiva e ecológica, abrigando comunidades adaptadas fisiologicamente e que desenvolvem mecanismos eficazes e diversificados para sua colonização, permanência e reprodução. Fatores importantes, como precipitação pluviométrica e taxas de evaporação causam impacto significativo na dinâmica desses ecossistemas (Tundisi e Matsumura Tundisi, 2008). Ambientes temporários são ecossistemas de espécies raras. Um trabalho realizado na Grã-Bretanha expôs que, além de abrigar plantas e anfíbios raros, 25% das espécies de invertebrados de água doce ameaçadas de extinção habitam águas temporárias, sendo esses ambientes locais de muito endemismo que abrigam espécies incomuns (Collinson et al., 1995).

Os períodos marcados pelas estações secas e chuvosas influenciam na flutuação do nível de água desses ecossistemas e, como consequência tem suas características físicas e químicas alteradas (Maltchik et al., 1999). Nesse tipo de ambiente, as variações de salinidade e turbidez, por exemplo, são em parte justificadas por essas flutuações nos níveis de água (Tundisi e Matsumura Tundisi, 2008).

As lagoas amostradas no presente estudo possuem profundidade baixa (8 a 30 cm), a qual está diretamente relacionada à alta turbidez e baixa transparência (2 a 10 cm) desses ecossistemas. Em geral, as variáveis ambientais dos ecossistemas amostrados estiveram dentro do considerado propício para o desenvolvimento de diversos grupos de organismos. O pH dos ambientes variou de levemente ácido a neutro (5,91 a 7,27), estando bem próximo do aceitável para a maioria dos corpos d'água continentais, cujos valores de pH variam de 6,5 a 8,5 (Margalef, 1983; Esteves, 1998). O pH pode também estar muitas vezes relacionado com a condutividade elétrica (Hutchinson, 1957; Wetzel e Likens, 1991; Wetzel, 1993). Nos ambientes amostrados, onde o pH esteve mais elevado, a condutividade acompanhou proporcionalmente essa elevação, se comparada com ambientes onde o pH se manteve mais baixo, embora em geral todos os pontos apresentaram valores baixos de condutividade. O pH também pode ser influenciado por outros fatores, tais como a geologia

do ambiente, processos biológicos como a decomposição da matéria orgânica e a respiração, precipitação, dentre outros (Wetzel e Likens, 1991; Esteves, 1998).

Os sólidos suspensos totais tiveram uma maior parcela composta por material inorgânico em todos os ambientes amostrados, com porcentagens variando de 63,5% (U7) a 89,6% (U2). O fato das lagoas estudadas serem, em sua maioria, desprovidas de vegetação em seu entorno, pode estar relacionado com altos valores de sólidos em suspensão e matéria inorgânica, fato esse também observado por Sahuquillo et al. (2012). Os maiores valores de sólidos totais foram registrados na LG, seguida de U1, que apresentaram também os maiores valores numéricos de matéria orgânica, embora os ambientes U5 e U7 tenham tido uma maior proporção de matéria orgânica em relação aos sólidos totais (22,7 e 36,5%, respectivamente). A quantidade de matéria orgânica foi, portanto, mais baixa do que a inorgânica em todas as lagoas estudadas. A matéria orgânica pode estar fortemente relacionada com o tipo de sedimento e com o hidroperíodo, já que entre uma cheia e outra, o sedimento seca podendo vir a formar uma camada de matéria orgânica (Sahuquillo et al., 2012). Além disso, o tipo de ocupação do solo do entorno dos ambientes também tem papel determinante na composição dos sólidos suspensos na água. Observa-se, por exemplo, que U7, com maior porcentagem de matéria orgânica quando comparado aos demais ambientes, tem o fundo praticamente coberto por gramíneas e macrófitas aquáticas (Figura 1.2), que são fonte de matéria orgânica para esse ambiente. O segundo ambiente com maior porcentagem de matéria orgânica (U5) tem uma maior quantidade de vegetação nas margens o que aumenta também a visita de animais como aves. O ambiente L.G., que possui uma quantidade de material suspenso bem superior aos demais, sendo composto por 15,2% de matéria orgânica, possui também o fundo praticamente coberto por gramíneas e serve como área de dessedentação de gado e, portanto, plantas e dejetos dos animais contribuem para maior quantidade de material em suspensão, incluindo a matéria orgânica. Observa-se nesse ambiente, inclusive, um solo mais escuro do que o dos demais (Figura 1.2).

Dentre os nutrientes inorgânicos, compostos de fósforo e nitrogênio são essenciais para a produção primária nos ecossistemas aquáticos. Em todos os ambientes amostrados no presente estudo, o nitrogênio e o fósforo foram detectados em quantidades muito elevadas. As concentrações de nitrogênio total estiveram acima de $2.000 \mu\text{g.L}^{-1}$ em todas as lagoas temporárias estudadas, exceto no ambiente LG, onde não foi possível detectar as

concentrações de nitrogênio por meio da técnica utilizada. A concentração de fósforo total teve valores aproximadamente semelhantes em todos os ambientes de Urucuaia (88,33 a 147,50 $\mu\text{g.L}^{-1}$), mas um valor que extrapolou todos os outros no ambiente LG (1714,16 $\mu\text{g.L}^{-1}$). A ausência de vegetação no entorno da maioria desses ambientes temporários e os períodos de cheia, que facilitam o escoamento de solos adjacentes para o ambiente aquático, favorecem em muito o aumento das concentrações de nutrientes (Carpenter, 1988), com o aumento, por exemplo, de partículas de sedimento ricas em fósforo. Além disso, a pequena profundidade desses ambientes aliada às altas temperaturas características das regiões semi-áridas onde os mesmos se localizam, promove o aquecimento excessivo da água, que chega a atingir temperaturas próximas de 35°C (Passos, 2012), o que possivelmente favorece os processos de liberação de nutrientes do sedimento. Ademais, tanto as comunidades de invertebrados que habitam esses locais, como aves aquáticas que os visitam, além do gado e de outros animais que os usam para dessedentação, também liberam compostos nas fezes e urina que contribuem para o incremento de nutrientes nesses ecossistemas.

As altas concentrações de nitrogênio e fósforo nos ambientes temporários estudados não se refletiram, no entanto, na produção primária fitoplanctônica desses ecossistemas, como é possível inferir a partir das baixas concentrações de clorofila *a* encontradas (0,010 $\mu\text{g/L}^{-1}$ a 0,123 $\mu\text{g/L}^{-1}$), embora possam vir a influenciar na produção primária total, juntamente com a produção de macrófitas. O valor mais elevado de clorofila *a* foi obtido no ambiente U4, que foi também o que apresentou o valor mais elevado de fósforo total (147,5 $\mu\text{g/L}^{-1}$) das lagoas de Urucuaia. O ambiente L.G., embora tenha apresentado altíssimo valor de fósforo total, teve uma das mais baixas concentrações de clorofila *a* (baixa densidade fitoplanctônica) provavelmente relacionada à menor penetração de luz na coluna d'água dentre todos os ambientes estudados, tanto pela alta turbidez (menor transparência) em virtude da alta concentração de sólidos suspensos, quanto pelo fato de ser quase que totalmente coberto por gramíneas.

De modo geral, ambientes temporários são caracterizados pela elevada turvação da água assim como por altas concentrações de fósforo total, resultantes da alta suspensão de partículas de sedimento, em geral ricas em fósforo. Por essa dinâmica nesse tipo de ambiente, as concentrações de clorofila *a* na coluna d'água tendem a ser mais baixas dada a limitação ao desenvolvimento da comunidade fitoplanctônica (Sahuquillo et al., 2012).

Com relação à composição da comunidade zooplanctônica, foi registrada nos oito ambientes amostrados riqueza relativamente baixa. Foram identificados 28 táxons dentre os grupos de Anostraca, Cladocera, Copepoda, Rotifera e Protozoa. O grupo Anostraca foi composto por apenas duas espécies da família Thamnocephalidae: *Dendrocephalus brasiliensis* e *Dendrocephalus thieryi*. *D. brasiliensis* teve registros de ocorrência apenas no município de Urucuaia-MG, e *D. thieryi* teve sua ocorrência registrada pela primeira vez no município de Lagoa Grande. Até então, *D. thieryi* possuía registro de ocorrência apenas para o município de Buritizeiro, MG (Rabet, 2006). A maioria das populações de *Dendrocephalus* coletadas era composta por indivíduos adultos, tanto fêmeas quanto machos, o que indica que se trata de uma população estabelecida nesses ambientes há um tempo avançado. É de se esperar que os indivíduos das populações de Anostraca desses ambientes temporários tenham idades relativamente homogêneas, uma vez que os ovos de diapausa eclodem todos ao mesmo tempo quando se dá o enchimento do ambiente no período de chuvas. Eventualmente, ovos que ficam nas margens e não são atingidos pela água no início do enchimento podem eclodir posteriormente.

Rotifera foi o grupo que apresentou o maior número de espécies, com 11 táxons. Há uma dominância numérica de Rotifera na comunidade zooplanctônica da maioria dos ecossistemas aquáticos, especialmente nos ambientes de regiões tropicais (Rocha et al., 1995). Essa dominância numérica por ser justificada pelas altas taxas de crescimento populacional de espécies r-estrategistas, e também pela adaptação às alterações ambientais periódicas desses ecossistemas (Allan, 1976). O segundo grupo com maior número de táxons identificados foi o dos Cladocera, seguido de Copepoda, Protozoa e Anostraca. O grupo com maior número de espécimes, depois de Rotifera, foi Copepoda, seguido de Cladocera, Protozoa e Anostraca. A frequência de ocorrência das espécies, dentre os pontos amostrados, foi em geral baixa, sendo a maioria das espécies classificadas como esporádicas e pouco frequentes. O Anostraca *Dendrocephalus brasiliensis*, os cladóceros *Moina minuta* e *Simocephalus latirostris*, e os náuplios e copepoditos de Cyclopoida estão entre os poucos grupos que ocorreram com uma maior frequência, sendo *Moina minuta* a espécie mais frequente em todos os ambientes amostrados. Com relação aos Protozoa, o número de espécies pode estar subestimado, uma vez que as metodologias de coleta e fixação não foram adequadas para tais organismos, o que promove o rompimento desses

indivíduos unicelulares. Restam apenas as carapaças daqueles que as possuem, como é o caso tecamebas registradas neste estudo.

Um estudo com 29 lagoas temporárias do Reino Unido classificou-as em temporárias permanentes (que têm bem definido os períodos de cheia e estiagem) e temporárias semipermanentes (que secam excepcionalmente e podem passar anos em períodos de cheia), a fim de comparar suas características e variáveis, e classificar as comunidades de invertebrados ali habitantes (Collinson et al., 1995). Segundo estes autores, houve grande variação no número de espécies e os ambientes temporários permanentes suportaram um número bem reduzido de espécies, em comparação com os demais ambientes.

Em geral, a comunidade zooplancônica em ecossistemas temporários tende a apresentar densidade numérica relativa baixa, devido a fatores ambientais limitantes. Algumas das espécies identificadas nos oito ambientes amostrados, como *Lecane lunaris*, *Plationus patulus*, o copépode *Thermocyclops decipiens* e o cladóceros *Moina minuta* são cosmopolitas e, portanto, estão presentes em boa parte dos ambientes aquáticos (Serrano e Toja, 1998; Crispim e Freitas, 2005). Porém, é possível que a presença do Anostraca *Dendrocephalus* tenha vindo a reduzir o número de indivíduos dessas espécies, em comparação com o ambiente em que o Anostraca esteve ausente (U7).

Geralmente a fase inicial de um ambiente é dominada por espécies de maior porte, com capacidade e estratégias de colonização rápida. As demais espécies, como as *k-estrategistas* tendem a colonizar o ambiente posteriormente, caracterizando-o como um ecossistema de formação não tão recente (Vanschoenwinkel et al., 2011). Organismos maiores, como os Anostraca podem ser bons competidores por recursos, pois são generalistas, adaptados a esse tipo de ambiente e de rápida eclosão e, com isso, interferem na composição populacional dos demais grupos da comunidade (Sarma e Nandini, 2002). O presente estudo indica que o grupo Anostraca pode ter interferido na composição e nas densidades populacionais do grupo Cladocera, possivelmente pela sobreposição de nichos. Observa-se que as densidades numéricas das espécies de cladóceros no ambiente com ausências de espécies de *Dendrocephalus* (U7) são bem superiores quando comparadas às dos demais ambientes onde os Anostraca estão presentes. Além disso, são escassas as grandes espécies de cladóceros planctônicos, havendo predominância de pequenas espécies,

especialmente com hábitos bentônicos ou mistos, aptas a se alimentarem de bactérias e detritos, uma vez que o fitoplâncton é relativamente escasso nesses ambientes. Uma espécie maior, *Simocephalus latirostris*, ocorre em maiores densidades apenas em U7, onde não havia competição por recursos com os Anostraca.

Contrariamente ao encontrado para os cladóceros no presente estudo, estudos anteriores em lagoas temporárias da mesma região (Passos, 2017), sendo algumas coincidentes com este estudo, relataram que a presença ou ausência de *D. brasiliensis* parece não interferir na composição e na densidade numérica da comunidade zooplanctônica desses ambientes efêmeros, sendo que a riqueza de espécies e a diversidade locais podem estar relacionadas às perturbações e fatores ambientais, que podem exercer maior influência na dinâmica e na estrutura da comunidade zooplanctônica desses ecossistemas temporários. As espécies zooplanctônicas dos ambientes temporários possuem, no entanto, diversas estratégias para evitar a sobreposição de nichos. Uma delas é a defasagem temporal na eclosão dos ovos de resistências das diferentes espécies zooplanctônicas que indica uma partição de nichos entre elas, o que minimizaria a competição por recursos, levando à coexistência bem sucedida dessas espécies nos ambientes temporários (Passos, 2017).

No que se refere à biomassa, a qual é definida como a massa da matéria viva em um determinado momento, e é expressa por unidade de área ou volume, dentro das comunidades, é um parâmetro importante de percepção da cadeia trófica, do fluxo de energia e da real contribuição de cada espécie nos processos ecológicos (Begon et al., 2006). Uma vez que há variações no tamanho dos organismos das espécies, e cada grupo pode desempenhar uma função diferente no ecossistema, a biomassa descreve de maneira mais eficaz a comunidade zooplanctônica (Melão e Rocha, 2004; Bonecker et al., 2007). Dentre os grupos mais representativos entre os ambientes amostrados neste estudo, Anostraca foi o grupo que mais contribuiu para a biomassa dos ambientes, seguido de Copepoda, Protozoa e Cladocera. As espécies de Cladocera que mais contribuíram em termos de biomassa foram *Moina minuta* e *Simocephalus latirostris*. Com relação aos Copepoda, náuplios e copepoditos de Cyclopoida foram os que apresentaram maior biomassa. O Rotifera *Asplanchna sieboldi* representou a maior biomassa do grupo, e este grupo foi o menos representativo em termos de biomassa. Alguns estudos em ambientes temporários mostraram que Rotifera tende a ser mais abundante, no que se refere à

densidade, que os outros grupos nesse tipo de ambientes e que, em parte, isso pode estar relacionado com a elevação do nível de trofia do ambiente, à grande quantidade de sólidos em suspensão e matéria orgânica (Lopez e Gabellone, 1991; Serrano e Toja, 1998). Porém, o papel real de diferentes espécies nos ecossistemas depende também da eficiência na renovação de sua biomassa. Rotíferos, por exemplo, são pequenos, mas têm uma alta taxa de renovação de suas populações, significando alta relação produção/biomassa. Grupos maiores, como Copepoda, por exemplo, têm fecundidade relativamente alta com maior tempo de desenvolvimento embrionário, o que pode resultar em menores taxas de rotação da população, comparando-se com Cladocera e Rotifera (Begon et al., 2006). Nas lagoas temporárias deste estudo, espécies com maior taxa de rotação da população têm vantagens competitivas em relação a outras, pelo fato do curto hidroperíodo.

Diversidade Funcional

Para ampliar a compreensão da dinâmica da comunidade zooplancônica presente nos ambientes estudados, buscou-se conhecer sua diversidade funcional, cuja análise começou com a divisão das espécies em grupos funcionais. Segundo Barnett et al. (2007), a escolha dos atributos funcionais é uma etapa importante da análise, pois a falta de dados para alguma espécie, ou a utilização de atributos redundantes podem inviabilizar a análise. Existem inúmeros traços importantes para cada espécie, porém medir todos eles não é possível, por muitos motivos. O número de traços também pode influenciar nos resultados, e esse pode ser um dos motivos que justifique algumas espécies similares filogeneticamente terem sido compiladas no mesmo grupo, (Petchey e Gaston, 2002; Barnett et al., 2007).

A análise demonstrou que os atributos mais determinantes no agrupamento das espécies foram grupo trófico e hábito alimentar. As espécies também foram agrupadas de modo semelhante com relação aos traços relacionados à reprodução, porém a forma de alimentação é, talvez o traço mais forte no que se refere a agrupamento e seleção, pois implica na relação predador x presa. Em um ambiente relativamente pequeno e tão peculiar como os amostrados neste estudo, é natural que a forma de alimentação seja semelhante, pelas poucas espécies existentes e pelo tipo de recurso. Nos ambientes amostrados ocorre a predominância de espécies de alimentação passiva, que capturam de alguma forma partículas disponíveis no ambiente. Cada tipo de alimentação tem seus custos e benefícios

associados, e a alimentação passiva permite um baixo gasto energético, e um baixo risco à exposição de predadores. O tamanho das partículas alimentares também é um critério que pode determinar o agrupamento de espécies, e está diretamente relacionado ao hábito alimentar (Barnett, 2007). Organismos herbívoros, que neste trabalho esteve presente em metade dos grupos funcionais, tendem a se alimentar de partículas menores, que em geral flutuam no ambiente aquático, e favorece uma alimentação mais passiva. Já organismos carnívoros tendem a se alimentar de partículas maiores, pois gastam mais energia numa atividade mais ativa de alimentação. O tamanho das partículas alimentares, portanto pode determinar padrões de estratégias alimentares (Litchman, 2013).

Traços relacionados à reprodução (tipo de reprodução, fecundidade e longevidade, por exemplo) constituem padrões interessantes em ecossistemas aquáticos temporários, onde as espécies precisam investir em estratégias para garantir sua permanência diante de tantas oscilações ambientais. As taxas de reprodução e crescimento da comunidade zooplanctônica são reflexos das formas de se alocar energia (Litchman, 2013). Investir em reprodução ou em crescimento, por exemplo, pode ser uma escolha determinante para as espécies. Na comunidade zooplanctônica essa trade-off no investimento é muito claro: o investimento em reprodução implica em um crescimento e tempo de vida reduzidos. Ao contrário, investimento em crescimento automaticamente implica em menor longevidade. Rotíferos, por exemplo, alocam mais energia à reprodução, e deixam de investir em tamanho corporal e longevidade. Ao contrário, copépodos possuem fases de desenvolvimento definidas, com estágios de maturação, maior longevidade, que os proporciona um menor risco de predação (Huntley e Lopez, 1992; Garcia, 2007). Ainda no que se refere à reprodução, uma prole de número elevado está diretamente relacionado a um menor tamanho corporal de cada indivíduo da prole, que tem como consequência redução na sobrevivência individual. Essa é uma estratégia constante para a permanência das espécies da comunidade zooplanctônica no ecossistema (Litchman, 2013).

A comunidade zooplanctônica foi agrupada a partir de atributos funcionais, porém de uma maneira muito próxima a um agrupamento taxonômico. Neste resultado, o agrupamento pode ter ocorrido dessa maneira por diversos fatores, como a própria escolha dos traços. Porém deve-se considerar que a classificação taxonômica de espécies já é baseada justamente em suas características morfológicas, que de certa forma se relacionam com a função desempenhada pelas espécies dentro do ecossistema (Silva, 2015). Em geral,

a seleção natural tende a acentuar a aptidão individual, aumentando o resultado de padrões de alimentação, sobrevivência e crescimento dentro das comunidades (Litchman, 2013). Todavia, mesmo que em muitos casos o viés funcional seja semelhante ao agrupamento taxonômico, é importante se conhecer os atributos funcionais e também como eles se relacionam com as influências do meio (Brasil e Huszar, 2011).

A diversidade funcional analisada neste trabalho para a comunidade zooplânctônica foi em geral baixa para todos os ambientes amostrados. O maior valor registrado foi de 0,45 no ambiente U2, e o menor valor foi registrado no ambiente LG, sendo de 0,12, o que pode indicar dominância de poucos atributos funcionais. Valores baixos para a diversidade funcional de comunidades zooplânctônicas já foram encontrados em outros trabalhos, o que sugere que este pode ser um padrão comum à estrutura deste tipo de comunidade (Vogt et al., 2013; Sodré, 2014). A baixa diversidade funcional pode ser resultado da forte atuação de filtros ambientais na estrutura das comunidades, os quais estariam determinando a ocorrência de espécies com caracteres funcionais mais semelhantes entre si. Altas taxas de diversidade funcional seriam, em maior parte, consequências do predomínio de filtros biológicos impactando na estrutura das comunidades, como por exemplo, caso houvesse uma competição interespecífica muito alta, que levaria à baixa sobreposição de nichos entre as espécies que competem entre si, e que possuam características funcionais distintas (Laliberté e Legendre, 2010; Sobral e Cianciaruso, 2012; Laliberté et al., 2014). A baixa diversidade funcional do zooplâncton pode informar, portanto, que processos importantes que ocorrem na estrutura da comunidade podem ser influenciados pela ação de características físicas e/ou químicas, ou filtros ambientais que atuam sobre as espécies, provocando uma confluência das características funcionais.

Este estudo sugere, portanto, que há um número elevado de espécies ecologicamente parecidas em função de uma menor história evolutiva entre elas, o que evidencia também uma baixa diversidade filogenética, além apenas da baixa diversidade funcional. O uso de várias medidas de diversidade pode ajudar a compreender a importância de processos evolutivos e ecológicos que atuam sobre a diversidade. Um padrão de baixa diversidade funcional é algo comumente registrado em regiões tropicais. Um estudo realizado em grande escala espacial identificou baixa diversidade funcional em relação à diversidade taxonômica em grupos de mamíferos habitantes de ecossistemas tropicais (Safi et al., 2011).

Estudos relacionados à diversidade funcional têm avançado nos últimos anos, porém no que se refere às comunidades de zooplâncton, ainda há muito a ser feito. Uma barreira que pode justificar tal deficiência seria a falta de estudos básicos sobre a biologia dos organismos, pois com informações mais aprofundadas nesse sentido, poderiam ser utilizados um maior número de traços funcionais. Muitos dos traços a serem estudados já foram sugeridos por Litchman et al. (2013). Deste modo, seria possível a realização de medidas melhores e mais amplas de diversidade funcional, que conseqüentemente explicariam mais as funções ecológicas dos organismos e as relações deste com os ecossistemas.

6. Conclusões

Os estudos realizados na comunidade zooplanctônica dos ambientes aquáticos temporários do noroeste de Minas Gerais foram importantes, ao passo que ampliaram o conhecimento sobre a biodiversidade taxonômica e funcional desses ambientes em região Neotropical, cujas informações ainda são escassas. Condições ambientais e características muito peculiares desses ecossistemas efêmeros tiveram como consequência uma baixa diversidade da comunidade zooplanctônica. Foi identificado um número relativamente baixo de espécies, e com funções ecológicas semelhantes, resultando em um baixo índice de diversidade. A presença de espécies de Anostraca do gênero *Dendrocephalus* impactou a composição taxonômica e a densidade numérica da comunidade, uma vez que, na ausência das mesmas, observou-se uma quantidade expressivamente maior de espécies de zooplâncton, assim como maiores densidades populacionais, particularmente em cladóceros, especialmente na lagoa U7. Espécies de *Dendrocephalus* são generalistas, e podem, portanto, exercer uma força competitiva por alimento no ambiente.

Em geral, este tipo de ecossistema, devido às suas peculiaridades, abriga organismos funcionalmente semelhantes, com estratégias parecidas para garantir o estabelecimento, permanência e reprodução. As espécies habitantes desse tipo de ecossistema são, em geral, dotadas de alta capacidade de reprodução, crescimento rápido e curto ciclo de vida. As variações com relação à alimentação também são restritas, devido ao tamanho e

profundidade reduzidos dos ambientes, que fazem com que apenas espécies ecologicamente semelhantes consigam obter sucesso e garantir sua permanência ao longo dos tempos nos ecossistemas com tais características.

Referências bibliográficas

- ALLAN, J. D. Life history patterns in zooplankton. **The American Naturalist**, v. 110, p. 165-180, 1976.
- ATASHBAR, B. et al. Diversity and distribution patterns of large branchiopods (Crustacea: Branchiopoda) in temporary pools (Iran). **Journal of Arid Environments**, v. 111, p. 27-34, 2014.
- BABBITT, K. J. The relative importance of wetland size and hydroperiod for amphibians in southern New Hampshire, USA. **Wetlands Ecology and Management**, v. 13, p. 269–279, 2005.
- BADOSA, A. et al. Isolation mediates persistent founder effects on zooplankton colonisation in new temporary ponds. **Scientific Report**, v. 7, p. 43983, 2017.
- BARNETT, A.; BEISNER, B. E. Zooplankton Biodiversity and Lake Trophic State: Explanations Invoking Resource Abundance and Distribution. **Ecology**, v. 88, n. 7, p. 1675-1686, 2007.
- BARNETT, A. J.; FINLAY, K.; BEISNER, B. E. Functional diversity of crustacean zooplankton communities: towards a trait-based classification. **Freshwater Biology**, v. 52, n. 5, p. 796-813, 2007.
- BARROS-ALVES, S. P.; ALVES, D.F.R.; BOLLA JR, E.A.; RABET, N.; HIROSE, G.L. Morphological review of the freshwater fairy shrimp *Dendrocephalus brasiliensis* Pesta, 1921 (Anostraca: Thamnocephalidae). **Nauplius**, v. 24, n. 0, 2016.
- BEGON, M.; TOWNSEND, C. R.; J.L, H. **Ecology: from individuals to ecosystems**. Oxford: Blackwell Publishing. 759 p., 2006.
- BLAUSTEIN, L.; SCHWARTZ, S. S. Why Study Ecology in Temporary Pools? **Israel Journal of Zoology**, v. 47, n. 4, p. 303-312, 2001.
- BONECKER, C. C.; NAGAE, M.; BLETTER, M.C.M.; VELHO, L.F.M.; LANSXA-TÔHA, F.A. Zooplankton biomass in tropical reservoirs in Southern Brazil. **Hydrobiologia**, v. 579, p. 115-123, 2007.
- BOTTRELL, H. H.; DUNCAN, A.; GLIWICZ, Z.M.; GRYGIEREK, E.; HERZING, A.; HILLBRICHTLLKOWSKA, A.; KURASAWA, H.; LARSSON, P.; W'EGLENSKA, T. A

review of some problems in zooplankton production studies. **Norwegian Journal of Zoology**, v. 24, n. 524, p. 419-456, 1976.

BRASIL, J.; HUSZAR, V. L. M. O papel dos traços funcionais na ecologia do fitoplâncton continental. *Oecologia Australis*. **Oecologia Australis**, v. 15, p. 799-834, 2011.

BRENDONCK, L; ROGERS, D.C; OLESEN, J.; WEEKS, S.; HOEH, W.R.. Global diversity of large branchiopods (Crustacea: Branchiopoda) in freshwater. **Hydrobiologia**, v. 595, n. 1, p. 167-176, 2008.

BUCKLAND, S. T, MAGURRAN, A,E; GREEN, R.E; FEWSTER, R.M. Monitoring change in biodiversity through composite indices. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 360, n. 1454, p. 243-54, Feb 28 2005.

CARPENTER, S. R. **Complex interactions in lake communities**. New York: 1988.

CIANCIARUSO, M. V; Batalha, M. A., Gaston, K. J., Petchey, O. L. Including intraspecific variability in functional diversity. **Ecology**, v. 90, n. 1, p. 81-89, 2009.

COLE, G. A. Textbook of limnology. **Saint Louis: C.V. Mosby Company**, p. 283, 1975.

COLLINSON, N. H.; BIGGS,J.; CORFIELD, A. HODSON, M. J. WALKER, D. WHITFIELD, M. WILLIAMS, P. J. Temporary and permanent ponds: An assessment of the effects of drying out on the conservation value of aquatic macroinvertebrate communities. **Biological Conservation**, v. 74, n. 2, p. 125-133, 1995.

CRISPIM, M. C.; FREITAS, G. T. D. P. Seazonal effects on zooplanktonic community in a temporary lagoon of northeast Brazil. **Acta Limnologica Brasileira**, v. 14, n. 4, p. 385-393, 2005.

CROSSETTI, L. O.; BICUDO, C. E. M. Structural and functional phytoplankton responses to nutrient impoverishment in mesocosms placed in a shallow eutrophic reservoir (Garcas Pond), São Paulo, Brazil. **Hydrobiologia**, v. 541, p. 71-85, 2005.

ELMOOR-LOUREIRO, L. M. **Manual de identificação de Cladóceros límnicos do Brasil**. Brasília: 1997. 156p.

ESTEVEES, F. D. A. **Fundamentos de Limnologia**. Rio de Janeiro: 1998. 826 p.

GLEASON, H. A. Further Views on the Succession-Concept. **Ecology**, v. 8, n. 3, p. 299-326, 1927.

GOMES E SOUZA, M. B. **Guia das tecamebas: Bacia do Rio Peruaçu. Subsídio para a conservação e monitoramento da Bacia do Rio São Francisco.** Belo Horizonte: Editora UFMG, 2008. 156 p.

GRAY, J. Evolution of the freshwater ecosystem: The fossil record. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 62, n. 1-4, p. 1-214, 1988.

HUNTLEY, M. E.; LOPEZ, M. D. G. Temperature-dependent production of marine copepods—a global synthesis. **Am. Nat.**, 140, 201–242, 1992.

HUTCHINSON, G. E. Concluding Remarks. Cold spring harbor symposium on quantitative biology. **Biology**, v. 22, p. 425-427, 1957.

KALFF, J. **Limnology.** Prentice Hall. NY. USA. 592p, 2002.

KOSTE, W. S., R.J. Rotifera from Australian Inland waters I. Bdelloidea (Rotifera: Digononta). **Australian Journal of Marine and Freshwater Research**, v. 37, p. 765-792, 1986.

LALIBERTÉ, E.; LEGENDRE, P. A distance-based framework for measuring functional diversity from multiple traits. **Ecology**, v. 91, n. 1, p. 299-305, 2010.

LALIBERTÉ, E.; LEGENDRE, P.; SHIPLEY, B. FD: measuring functional diversity from multiple traits, and other tools for functional ecology. **R package version 1.0-12**, 2014.

LAVOREL, S.; MCINTYRE, S.; LANDSBERG, J.; FORBES, T. D. A. Plant functional classifications: from general groups to specific groups based on response to disturbance. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 12, n. 12, p. 474-478, 1997.

LITCHMAN, E.; OHMAN, M. D.; KIORBOE, T. Trait-based approaches to zooplankton communities. **Journal of Plankton Research**, v. 35, n. 3, p. 473-484, 2013.

LOPEZ, T. T., J; GABELLONE, N. Limnological comparison between two peridunar ponds Arch. **Arch. Hydrobiologia**, v. 120, p. 357-378, 1991.

MACARTHUR, R. H.; WILSON, E. O. The theory of island biogeography. **Princeton University**, Princeton, 224p, 1967.

MACKERETH, F. Y. H.; HERON, J. G.; TALLING, J. J. Water analysis: some revised methods for limnologists. **Freshwater Biology Associate**, v. 36, p. 120, 1978.

MAGURRAN, A. E. **Measuring Biological Diversity**. Oxford: Blackwell Publishing Ltda, 2004.

MALTCHIK, L.; COSTA, M. A. J.; DUARTE, M. D. C. Inventory of Brazilian semi-arid shallow lakes. *Anais: Academia Brasileira de Ciências*. . **Academia Brasileira de Ciências**, v. 71, p. 801-808, 1999.

MALTCHIK, L.; MEDEIROS, E. S. F. Conservation importance of semi-arid streams in north-eastern Brazil: implications of hydrological disturbance and species diversity. **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems**, v. 16, n. 7, p. 665-677, 2006.

MARGALEF, R. **Limnologia**. Omega, Barcelona. 1010p.,1983.

MCGILL, B. J. ENQUIST, B. J.; WEIHER, E.; WESTOBY, M. Rebuilding community ecology from functional traits. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 21, n. 4, p. 178-85, Apr 2006.

MELÃO, M. G. G.; ROCHA, O. Life history, biomass and production of two planktonic cyclopoid copepods in a shallow subtropical reservoir. **Journal of Plankton Research**, v. 26, p. 909-923, 2004.

NOGRADY, T. S., H. **Rotifera 6. The Asplanchnidae, Gastropodidae, Lindiidae, Microcodinidae, Synchaetidae, Trochosphaeridae**. In.: DUMONT, HJ. **Guides to the Identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World 18**. (Eds) Backhuys Publishers BV, Dordrecht, The Netherlands, 264p. 2002.

PASSOS, R. F. **Interferência de *Dendrocephalus brasiliensis* Pesta, 1921 (Crustacea: Anostraca) na dinâmica da comunidade planctônica em três diferentes lagoas temporárias do município de Urucua, MG**. Dissertação de Mestrado Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 102p.2012.

_____. **Estudos ecológicos da comunidade plactônica de vinte e cinco ecossistemas aquáticos temporários tropicais**. Tese de Doutorado Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos- SP. 139p. 2017

PÉREZ-BILBAO, A.; BENETTI, C. J.; GARRIDO, J. Biodiversity and Conservation of Temporary Ponds — Assessment of the Conservation Status of "Veiga de Ponteliñares", NW Spain (Natura 2000 Network), Using Freshwater Invertebrates. In: (Ed.). **Using Freshwater Invertebrates. In: Biodiversity in Ecosystems - Linking Structure and Function**, 2015.

PEREZ-BILBAO, A.; GARRIDO, J. Evaluación del estado de conservación de una zona LIC (Gándaras de Budino, Red Natura 2000) usando los coleópteros acuáticos como indicadores. **Limnetica**, v. 28, n. 1, p. 11-22, 2009.

PETCHEY, O. L.; GASTON, K. J. Functional diversity (FD), species richness and community composition. **Ecology Letters**, v. 5, n. 3, p. 402-411, 2002.

_____. Functional diversity: back to basics and looking forward. **Ecology Letters**, v. 9, n. 6, p. 741-58, 2006.

PLA, L.; CASANOVES, F.; DI RIENZO, J. Functional Diversity Indices. p. 27-51, 2012.

RABET, N. A new species of Brazilian *Dendrocephalus* (Anostraca, Thamnocephalidae). **Zootaxa**, n. 1370, p. 49-57, 2006.

REID, J. W. Chave de identificação para as espécies continentais sulamericanas de vida livre da Ordem Cyclopoida (Crustacea, Copepoda). **Boletim de Zoologia**, v. 9, p. 17-143, 1985.

RICKLEFS, R. E. Community diversity: relative roles of local and regional processes. **Science**, v. 235, n. 4785, p. 167-71, Jan 9 1987.

RICOTTA, C. Through the jungle of biological diversity. **Acta Biotheoretica**, v. 53, n. 1, p. 29-38, 2005.

ROCHA, O, ESPÍNDOLA, E.L.A.; FENERICH-VERANI, N.; VERANI, JR.; RIETZLER, AC. (Eds.) Espécies invasoras em águas doces: estudo de caso e propostas de manejo em São Carlos. São Carlos: EdUFSCar, São Carlos. 417p. 2005.

ROCHA, O.; SENDACZ, S.; MATSUMURA TUNDISI, T. Composition, biomass and productivity of zooplankton in natural lakes and reservoirs of Brazil. In: TUNDISI, JG.; BICUDO, CEM.; MATSUMURA-TUNDISI, T. (Eds). Rio de Janeiro: ABC/SBL: 151-165, 1995.

ROGERS, D. C. Anostraca Catalogus (Crustacea: Branchiopoda). **The Raffles Bulletin of Zoology** v. 61, n. 2, p. 525-546, 2013.

RUTTNER-KOLISKO, A. Suggestions for biomass calculations of plankton rotifers. **Archiv für Hydrobiologie–Beiheft Ergebnisse der Limnologie**, v. 8, p. 71-76, 1977.

SAFI, K.; CIANCIARUSO, M.V.; LOYOLA, R.D.; BRITO, D.; AR-MOUR, M.K.; DINIZ-FILHO, J.A.F. Understanding global patterns of mammalian functional and phylogenetic diversity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London B***, v. 366, p. 2536-2544, 2011.

SAHUQUILLO, M. et al. Nutrient dynamics in water and sediment of Mediterranean ponds across a wide hydroperiod gradient. *Limnologia - Ecology and Management of Inland Waters*, v. 42, n. 4, p. 282-290, 2012.

SARMA, S. S. S.; NANDINI, S. Studies on functional response and prey selection using zooplankton in the anostracan *Chirocephalus diaphanus* Prevost, 1803. *Hydrobiologia*, v. 486, n. 1, p. 169-174, 2002.

SEGRS, H. Rotifera: the Lecanidae (Monogononta) In: Dumont, H.J.F. Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world. **Netherlands: SPB Academic**, v. 2, 1995.

SERRANO, L.; TOJA, J. Interannual variability in the zooplankton community of a shallow temporary pond. *SIL Proceedings*, v. 26, n. 4, p. 1575-1581, 1998.

SILVA, L. C. **A comunidade zooplanctônica de rios amazônicos na área de influência da Usina Hidrelétrica de Santo Antônio do Madeira, RO: diferentes abordagens no monitoramento.** Tese de Doutorado - Universidade Federal de São Carlos - UFSCar, São Carlos - SP. 333p. 2015.

SIMBERLOFF, D. Community ecology: is it time to move on? *American Naturalist*, v. 163, p. 787-799, 2004.

SINEV, A. Y. Redescription of *Alona glabra* Sars, 1901, a South American species of the pulchella-group (Branchiopoda: Anomopoda: Chydoridae). *Arthropoda Selecta*, v. 10, n. 4, p. 273-280, 2001.

SMIRNOV, N. N. Crustacea: Chydoridae. Jerusalém: Israel Program for Scientific Translation. 644 p., 1974.

SMITH, A. B.; SANDEL, B.; KRAFT, N. J. B.; CAREY, S. Characterizing scale-dependent community assembly using the functional-diversity–area relationship. *Ecology*, v. 94, n. 11, p. 2392-2402, 2013.

SOBRAL, F. L.; CIANCIARUSO, M. V. Estrutura filogenética e funcional de assembléias: (re)montando a ecologia de comunidades em diferentes escalas espaciais. *Bioscience Journal*, v. 28, n. 4, p. 617-631, 2012.

SODRÉ, E. O. **Diversidade funcional da comunidade zooplanctônica em um lago de planície de inundação**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro/RJ. 72 p. 2014

TUNDISI, J. G.; MATSUMURA TUNDISI, T. M. **Limnologia**. São Paulo: Oficina de Textos, 2008.

VALDERRAMA, J. C. The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters. **Marine Chemistry**, v. 10, n. 2, p. 109-122, 1981.

VAN DAMME, K.; KOTOV, A. A.; DUMONT, H. J. A checklist of names in *Alona* Baird 1843 (Crustacea: Cladocera: Chydoridae) and their current status: an analysis of the taxonomy of a lump genus. **Zootaxa**, v. 2330, p. 1–63, 2010.

VANSCHOENWINKEL, B; MERGEAY, J.; PINCEEL, T.; WATERKEYN, A.; VANDEWAERDE, H.; SEAMAN, M.; BRENDONCK, L. Long distance dispersal of zooplankton endemic to isolated mountaintops--an example of an ecological process operating on an evolutionary time scale. **PLoS One**, v. 6, n. 11, p. e26730, 2011.

VIOLLE, C.; NAYAS, M.L VILE, D.; Kazakou, E.; FORTUNEL, C.; HUMMEL, I.; GARNIER, E. Let the concept of trait be functional! **Oikos**, v. 116, n. 5, p. 882-892, 2007.

VOGT, R. J.; PERES-NETO, P. R.; BEISNER, B. E. Using functional traits to investigate the determinants of crustacean zooplankton community structure. **Oikos**, v. 122, n. 12, p. 1700-1709, 2013.

WEBB, C. O. et al. Phylogenies and Community Ecology. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 33, n. 1, p. 475-505, 2002.

WEBB, C. T.; HOETING, J. A.; AMES, G. M.; PYNE, M. I.; LEROY POFF, N. A structured and dynamic framework to advance traits-based theory and prediction in ecology. **Ecology Lett**, v. 13, n. 3, p. 267-83, Mar 2010.

WETZEL, R. G. **Limnologia 2 ed.** Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkia,. 915 p.1993

WETZEL, R. G.; LIKENS, G. E. **Lymnological analyses**. Berlin,. 391p.1991.

WIGGINS, G. B.; MACKAY, R. J.; SMITH, I. M. Evolutionary and ecological strategies of animals in annual temporary pools. **Archive für Hydrobiologie**, v. 58, p. 97-206, 1980.

WILLIAMS, D. D. Environmental constraints in temporary fresh waters and their consequences for the insect fauna **Journal of the North American Benthological Society**, v. 15, n. 4, p. 634-650, 1996.

_____. Temporary ponds and their invertebrate communities. **Aquatic Conservation: Marine and freshwater ecosystems**, v. 7, n. 105-117, 1997.

WILLIAMS, P. et al. History, origins and importance of temporary ponds. **Freshwater Forum**, v. 17, p. 7-15, 2001.

ZACHARIAS, I. et al. Overview of temporary ponds in the Mediterranean region: Threats, management and conservation issues. **Journal of Environmental Biology**, v. 28, p. 1-9, 2007.

Capítulo 2. Divergência genética de *Dendrocephalus* do noroeste de Minas Gerais: DNA Barcoding como ferramenta para taxonomia de Anostracas brasileiros.

Resumo

O gênero *Dendrocephalus* (Crustacea, Anostraca) está presente em várias regiões do Brasil, habitando pequenos corpos d'água efêmeros. É um importante grupo componente desses ecossistemas e contribui de maneira importante para a manutenção da biodiversidade dos mesmos. Até o momento, seis espécies do gênero foram descritas para o país. A identificação morfológica deste gênero é complexa e, para auxiliar nesse quesito, uma alternativa eficaz é a utilização de ferramentas moleculares. Foram analisados espécimes brasileiros coletados em quatro diferentes pontos de Minas Gerais e da Bahia, e a identificação molecular foi realizada através de DNA *Barcoding*. Neste estudo, foram identificadas três unidades taxonômicas operacionais moleculares, sendo que duas delas foram identificadas morfológicamente como duas espécies já descritas, *Dendrocephalus brasiliensis* e *Dendrocephalus thieryi* e uma terceira como uma possível espécie críptica de *D. brasiliensis*. Assim, este resultado reforça a importância da identificação molecular no auxílio de questões complexas de morfologia e taxonomia de Anostraca e em gêneros complexos como o *Dendrocephalus*.

Abstract

The genus *Dendrocephalus* (Crustacea, Anostraca) is present in several regions of Brazil, living on small ephemeral water bodies. It is an important component group of these ecosystems and contributes in an important way to the maintenance of their biodiversity. To date, six species of this genus have been described for the country. The morphological identification of this genus is complex and, to help in this question, an effective alternative is the use of molecular tools. Brazilian specimens collected at four different points in Minas Gerais and Bahia were analyzed and molecular identification was done through DNA Barcoding. Three molecular operational taxonomic units were identified, two of which were morphologically identified as two species, *Dendrocephalus brasiliensis* and *Dendrocephalus thieryi*, and a third as a possible cryptic species of *D. brasiliensis*. This result reinforces the importance of molecular identification in the aid of complex questions of Anostraca morphology and taxonomy and in complex genera as, for example, *Dendrocephalus*.

1.Introdução

Os crustáceos Branchiopoda da ordem Anostraca habitam tipicamente ambientes temporários de água doce, representando parte importante da biodiversidade desses ecossistemas efêmeros. No entanto, a diversidade de espécies de Anostraca no Brasil, de um modo geral, ainda é pouco conhecida (Chaves et al., 2011). O gênero *Dendrocephalus* Daday, 1908 (Thamnocephalidae), objeto do presente estudo, é composto por 17 espécies agrupadas em dois subgêneros: (1) *Dendrocephalinus* Rogers, 2006, até o momento descrito apenas para a América do Norte (Rogers, 2006) e (2) *Dendrocephalus* Daday, 1908, composto por 14 espécies, segundo Rogers (2013), distribuídas nas Américas Central e do Sul, ocorrendo desde a Costa Rica até a Argentina, incluindo o Brasil, bem como Ilhas do Caribe e Galápagos (Rabet, 1996; Rabet, 2006; Rogers, 2006; Rogers, 2012 Barros-Alves et al, 2016).

Para o Brasil, seis espécies de *Dendrocephalus* já foram descritas: *D. brasiliensis* (Pesta, 1921); *D. goiasensis* (Rabet e Thiéry, 1996); *D. orientalis* (Rabet e Thiéry, 1996); *D. thieryi* (Rabet, 2006); *D. carajaensis* (Rogers et.al., 2012) e *D. riograndense* (Rogers e Volcan, 2016). Dentre elas, *D. brasiliensis* é a de ocorrência mais frequente e a mais estudada, em parte devido ao seu alto potencial para utilização nas crescentes atividades aquícolas como alimento vivo de alto valor nutricional e menor custo em comparação a outros organismos utilizados para esse fim, como *Artemia* Leach, 1819 (Lopes et al.,2008). *D. brasiliensis* possui registros de ocorrência no Brasil, nos estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Bahia, Minas Gerais, São Paulo e Alagoas (Chaves et al., 2011; Barros-Alves et al., 2016; Pesta, 1921), além de ocorrer também na região norte da Argentina (César et al., 2004). No entanto, é possível que sua distribuição geográfica no Brasil se amplie em virtude do aumento de seu uso em atividades de aquicultura, desde que os indivíduos cultivados encontrem ambientes temporários propícios para o seu desenvolvimento.

Existe a necessidade de se aprimorar as ferramentas de identificação das espécies de *Dendrocephalus*, pois atualmente as informações relativas à morfologia deste grupo estão fragmentadas em diferentes estudos (Chaves et al., 2011; Barros-Alves et al., 2016; Mai et al, 2008). Autores diferentes, posteriores a Pesta (1921), investigaram a morfologia das

espécies de *Dendrocephalus*, porém muitas descrições e chaves de identificação foram propostas antes de ocorrer uma padronização de termos morfológicos (Belk e Pereira, 1982; Pereira, 1983). Trata-se de caracteres morfológicos complexos, muitos dos quais demandam informações complementares (Pereira, 1983; Rabet e Thiéry, 1996; Barros-Alves et al., 2016). Inicialmente, utilizou-se o número e comprimento de espinhos na porção basal do apêndice frontal para a proposição de uma chave de identificação (Chaves et al., 2011). Posteriormente, novas características foram descritas, segundo Hirose et al. (2015), com o intuito de facilitar a distinção das espécies de *Dendrocephalus*.

Especialistas têm demonstrado que características usualmente utilizadas na identificação do gênero, tais como o número de espinhos dos olhos e da porção basal do apêndice frontal, podem variar entre espécimes de uma mesma espécie, concluindo que as mesmas não podem ser usadas como diagnóstico no processo de identificação. Recentemente, Barros-Alves et al., (2016) revisaram todas as estruturas morfológicas até então descritas para *D. brasiliensis*, acrescentando novas características importantes para a identificação da espécie e que a diferencia das demais espécies de *Dendrocephalus*. Os autores evidenciaram a necessidade de um protocolo de identificação das características morfológicas de *Dendrocephalus* que permita a comparação mais adequada entre suas espécies já descritas (Barros-Alves et al., 2016). Além disso, acredita-se que a diversidade brasileira de *Dendrocephalus* seja subestimada e que novas espécies, incluindo espécies crípticas sejam detectadas, principalmente no Cerrado brasileiro (Chaves et al., 2011).

Portando, a identificação taxonômica usando características morfológicas pode ser limitante em alguns casos, sendo passível de erros devido à existência de plasticidade fenotípica, além da existência de espécies crípticas, que podem passar omissas nesse tipo de identificação (Barros-Alves, 2016). Outro fator desfavorável nesta maneira de reconhecer espécies é o fato de chaves morfológicas serem úteis para um estágio de vida mais específico do indivíduo, comprometendo a identificação de espécimes em diferentes fases de desenvolvimento (Hebert et al., 2003; Chaves et al., 2011). Do mesmo modo, esses fatores podem ser limitantes na identificação de espécies de *Dendrocephalus*.

Com o aprimoramento de ferramentas moleculares, tem sido possível solucionar muitos dos problemas relacionados à identificação de espécies e, dentre as ferramentas utilizadas, o DNA *Barcoding* se destaca de maneira muito eficaz nessa função

(Adamowicz, 2015). A região de DNA *Barcoding* compreende um segmento do gene correspondente à enzima mitocondrial citocromo *c* oxidase subunidade I (COI), com tamanho aproximado de 650 pares de bases para animais (Hebert et al., 2003; Valentini et al., 2009). Esta região é considerada bastante importante para estudos em ecologia, sendo amplamente utilizada como ferramenta de identificação e delimitação de espécies (Hebert et al., 2003; Joly et al., 2014). O valor de distância genética, estabelecido em 3%, encontrado para o DNA *Barcoding*, é considerado um dos parâmetros para delimitação de espécies em um grande número de grupos de animais (Hebert e Gregory, 2005). Costa et al., (2007) mostraram que esse valor de distância de 3% para a região COI descrita por Hebert et al. (2003) pode ser aplicado aos crustáceos para a delimitação ao nível de espécie e enfatizaram a importância, para trabalhos ecológicos, de um banco de dados de sequências de DNA *Barcoding* para esse grupo.

Diversos trabalhos utilizando ferramentas moleculares com Anostraca e com outros crustáceos demonstraram a alta eficiência desses métodos na solução de problemas de identificação e detecção de possíveis novas espécies, além de filogenia e biogeografia. Aguilar et al., (2017) utilizaram a análise com DNA *Barcoding* para descartar a presença de espécies crípticas no gênero *Branchinecta* Verrill, 1869. A análise molecular de genes de COI de *Streptocephalus* Baird, 1852 foi importante para corroborar hipóteses de teorias ecológicas tais como a Biogeografia de ilhas e Deriva genética de espécies (Daniels et al., 2004). Outro estudo utilizando genes de COI englobou um grande número de diferentes táxons de Branchiopoda, com espécimes coletados em diferentes continentes, abordando a filogenia de grandes grupos, a origem e a evolução de características morfológicas (deWaard, 2006).

Uma revisão sistemática para o gênero *Thamnocephalus* Packard, 1877, realizada com o apoio de análises de COI, com espécimes do México, para detectar diferenciação genética e atualizar sua distribuição geográfica, confirmou dados morfológicos sobre existência de duas linhagens genéticas em nível de espécie (Obregón-Barboza et al., 2015). Na Califórnia, EUA, foram identificadas, utilizando análises de COI, três espécies de *Branchinecta*, sendo duas delas ameaçadas de extinção, cuja identificação foi feita por meio dos cistos, o que é uma grande vantagem já que permite a identificação ainda no período de estiagem (Vandergast et al., 2009). Em um trabalho realizado na Austrália com espécimes de *Branchinella* Sayce, 1902, foram avaliados padrões evolutivos com o uso de COI, tendo

sido constatada uma ligação entre mudanças climáticas no período cenozoico e a diversidade desse gênero (Pinceel et al., 2013). Nas montanhas da África do Sul, espécies de *Branchiopodopsis* Sars, 1998 de lagoas temporárias foram estudadas, utilizando-se uma região de COI, em espécimes adultos e em cistos, com o intuito de se verificar a relação entre migração e mutação, tendo sido demonstrado que tais espécies colonizaram o ambiente num mesmo momento, concluindo-se que os padrões genéticos podem mostrar eventos históricos, como a colonização (Vanschoenwinkel et al., 2011).

Seis espécies italianas de *Chirocephalus* Prévost, 1803 foram estudadas pela análise de COI, visando conhecer as relações intra e interespecíficas, revelando diferentes níveis de diferenciação intraespecífica (Ketmaier et al., 2003). Em outro estudo, estes autores buscaram relacionar a genética e a história filogenética de populações de *Chirocephalus kerkyrensis* do mar mediterrâneo (Ketmaier et al., 2012). Populações de diferentes espécies de *Tanymastix* Simon, 1886, em três diferentes países, também foram estudadas com o uso de COI evidenciando alta diferenciação genética entre as espécies, o que levou à hipótese de que as mesmas colonizaram o ambiente de diferentes formas, indicando que vários fatores, e não apenas isolamento geográfico, moldam padrões genéticos de populações (Ketmaier et al., 2005). Outro estudo com COI realizado na Austrália com o camarão salino *Parartemia* Sayce, 1903 indicou que as espécies endêmicas conhecidas desse gênero são distintas e revelou duas novas espécies (Remigio et al., 2001). Este estudo ainda destacou que as espécies surgiram em um curto intervalo de tempo e que a divergência genética entre elas ocorreu a partir de linhagens de águas salinas juntamente com linhagens de habitat de água doce.

Em face do escasso conhecimento da diversidade de espécies de Anostraca no Brasil, em particular do gênero *Dendrocephalus*, e considerando-se os problemas taxonômicos desse grupo, além da eficiência de análises com COI já demonstrada anteriormente, o presente estudo buscou investigar a divergência genética de *Dendrocephalus*, utilizando DNA *Barcoding*.

2. Objetivos

Considerando a ampla distribuição e as incertezas taxonômicas baseadas em morfologia, o presente estudo objetivou realizar a identificação de *Dendrocephalus* de lagoas temporárias do noroeste de Minas Gerais, e de um cultivo artificial, com o apoio de DNA *Barcoding* como ferramenta molecular.

3. Metodologia

3.1 Distribuição das espécies de *Dendrocephalus*

A figura 2.1 apresenta a distribuição geográfica das espécies do gênero *Dendrocephalus* de ocorrência no Brasil.



Figura 2.1 Área de ocorrência registrada das espécies de *Dendrocephalus* Brasil. As figuras geométricas marcam as áreas para a qual cada espécie já foi registrada.

3.2 Áreas de estudo

As coletas foram realizadas em janeiro de 2017 em três lagoas temporárias naturais do estado de Minas Gerais, Brasil, sendo duas delas localizadas no município de Urucuia, MG: U1 ($16^{\circ}06'54.4''\text{S}$ $45^{\circ}37'06.5''\text{W}$), e U2 ($16^{\circ}07'02.3''\text{S}$ $45^{\circ}34'14.5''\text{W}$); e uma delas localizada no município de Lagoa Grande, MG: LG ($17^{\circ}48'01.1''\text{S}$ $46^{\circ}33'41.8''\text{W}$). Na lagoa U1, foram coletados 11 espécimes, na lagoa U2, 08 espécimes e na lagoa LG foram coletados 08 espécimes. Foram coletados também 13 espécimes em um cultivo artificial localizado no município de Santa Maria da Serra, SP, denominado PA ($22^{\circ}34'02''\text{S}$ $48^{\circ}09'38''\text{W}$), cujos cistos são provenientes de lagoas temporárias naturais de Paulo Afonso, BA, Brasil (Figura 2.2).

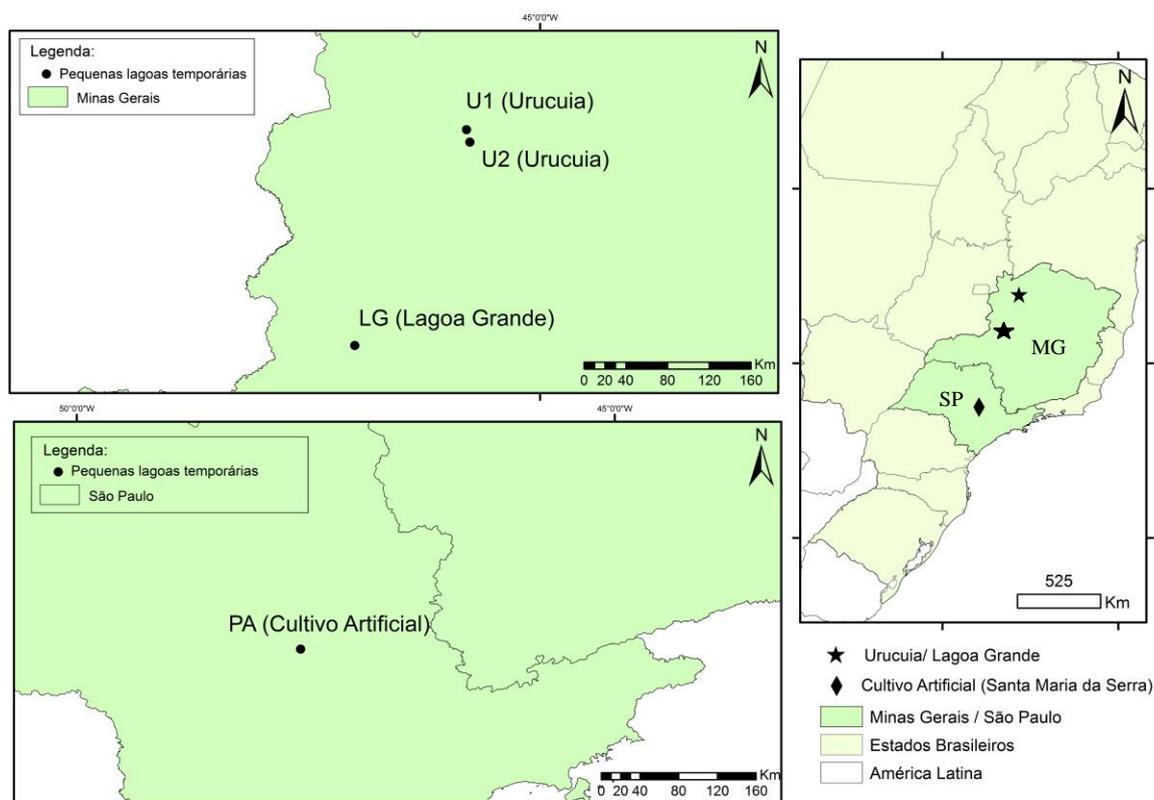


Figura 2.2. Mapa com a localização geográfica dos locais de origem dos espécimes estudados, onde U1 representa uma lagoa temporária localizada no município de Urucuia, MG, Brasil; U2 representa uma lagoa temporária localizada no município de Urucuia, MG, Brasil; LG representa uma lagoa temporária localizada no município de Lagoa Grande, MG, Brasil e PA representa um cultivo artificial localizado em Santa Maria da Serra, SP, Brasil.



Figura 2.3. Visão geral das lagoas temporárias durante o período de coleta (31/01 a 02/02/2017). As lagoas denominadas de U1 e U2 são localizadas no município de Urucua-MG, e LG, localizada no município de Lagoa Grande-MG.

3.3. Análise morfológica dos espécimes estudados para identificação em nível específico

A identificação dos indivíduos analisados em nível de espécie foi realizada através de chaves de identificação e com base nas características morfológica descritas na literatura especializada (Rabet, 2006; Chaves et al. 2011; Rogers, 2013; Barros-Alves et al., 2016; Rogers e Volcan, 2016). Na Tabela 2.1, estão listadas as principais características morfológicas de identificação das espécies encontradas no presente estudo, de acordo com os trabalhos de Rabet (2006), Chaves et al. (2011) e Barros-Alves et al. (2016). Para uma melhor identificação de cada estrutura, foram realizadas fotomicrografias, com câmera Leica DFC 295 acoplada a um estereomicroscópio Leica M205C com objetiva Planapo 1.0x e produzidas a partir de montagens de múltiplas fotos utilizando o software LAS (Leica Application Suite) v3.7. Alguns exemplares também foram fotografados e analisados por meio de um Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV, FEI Quanta 250) em modo baixo vácuo. Para observação em MEV, o material preservado em etanol 100% foi seco por meio de um secador de ponto crítico (Leica EM-CPD030) utilizando dióxido de carbono, e em seguida recobertos com jato de vapor de ouro palladium, por 70s a 15 mA.

Tabela 2.1. Principais características morfológicas para identificação de *Dendrocephalus*, baseadas em literatura.

Principais caracteres de identificação de <i>Dendrocephalus</i>
Olho peduncular com ou sem espinhos.
Apêndice frontal com variações de espinhos na porção basal.
Ramo 1V do apêndice frontal com sub-ramo de variado tamanho.
Ramo 2A do apêndice frontal.
Ramo 2D, sub-ramo I com ou sem espinho.
Endopoditos dos toracópodos com ou sem espinhos proeminentes.
Comprimento do Toracópodo I e do Toracópodo II.
Endópodo do toracópodo I, e de II a V.
Estrutura na forma de antena entre a 1ª e a 2ª antenas.
Formato e comprimento da 1ª antena em comparação a 2ª antena.
Antômeros da 2ª antena.

3.4 Análises moleculares – DNA Barcoding

Para as análises moleculares, imediatamente após a coleta dos animais, ainda em campo, os mesmos foram fixados em Etanol absoluto refrigerado. No laboratório de biologia molecular aplicada à biodiversidade, da Universidade Federal de Alfenas-MG, a segunda antena de um dos lados da cabeça dos espécimes foi retirada e usada para extração do DNA, que foi realizada conforme protocolo HotShot, descrito por Montero-Pau et al. (2008), com ajustes.

Para a amplificação da região COI, foram utilizados os *primers* ZplankF1 5'-tgtaaacgacggccagtTCTASWAATCATAARGATATTGG-3' e ZplankR1 5'-caggaaacagctatgacTTCAGGRTGRCCRAARAATCA-3' (Prosser, 2013). A reação de PCR foi realizada com um volume total de 25µL, contendo 10µL de água mili-Q, Tampão da enzima 1X, 0,2mM de cada dNTP, 1,5mM de MgCl₂, 0,2µM de cada *primer*, 5µL de extrato do DNA e 2 Unidades de enzima Platinum *Taq* DNA polymerase (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). As condições da PCR iniciaram-se com 95°C durante 3 min., sucedidas por 35 ciclos de 95°C por 45s, 45°C por 45s e 72°C por 60s, finalizadas com 72°C por 10min. Um volume de 5µL do produto de PCR foi visualizado em transiluminador de UV após eletroforese em gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio. Os produtos de PCR foram tratados com o reagente Exo-SAP™PCR Clean-UP (Termo Fischer) e suas sequências determinadas nas duas direções em sequenciador *3130xl Genetic Analyzer* (Life Technologies, Carlsbad/CA/USA) de acordo com as instruções do fabricante. Foram obtidas sequências de 40 espécimes.

As sequências foram alinhadas usando o MUSCLE no programa MEGA 6.0, conforme Tamura et al., (2013), onde também foram analisadas para detecção de *stopcodons*. A avaliação do sinal de saturação nas sequências foi realizada através do programa DAMBE5 (Xia, 2013). As distâncias *p* não corrigidas (uncorrected *p*-distance) e Kimura 2-Parâmetros (K2P) foram calculadas no MEGA 6.0, conforme Tamura et al., (2013), uma vez que existem algumas controvérsias na literatura sobre o uso do modelo K2P para análise de divergência com DNA *Barcoding* (Collins et al., 2012; Srivathsan e Meier, 2012; Kimura, 1980). Valores de divergência intragrupos e intergrupos foram calculados também pelo MEGA 6.0 (Tamura et al., 2013). Uma árvore de distâncias foi obtida pelo método de Neighbor Joining com uma análise de *bootstrap* não paramétrico com 1000 réplicas.

Para avaliar os limites de distância entre os espécimes analisados e uma estimativa de divergência, foram utilizadas as seguintes sequências de COI do banco de dados GenBank: *Thamnocephalus platyurus* (KP716862), *Thamnocephalus platyurus* (AF209066), *Branchinecta paludosa* (HM425355), *Branchinecta lindahli* (FJ439744), *Branchinecta sandiegonensis* (FJ439689) e *Branchinecta lynchi* (FJ439750).

O depósito dos espécimes utilizados neste trabalho em museu já está em processo de efetivação. Em breve cada um dos espécimes receberá seu número de tombo e o depósito será realizado no Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. Logo que cada espécime for identificado com seu número de tombo, as sequências genéticas serão depositadas nos banco de dados genéticos GenBank e BoldSystems.

4. Resultados

4.1. Análise morfológica dos espécimes estudados para identificação em nível específico

A partir da análise morfológica dos animais estudados, os espécimes provenientes de PA e U2 foram detectados como pertencentes à espécie *Dendrocephalus brasiliensis*. Já os indivíduos coletados nas lagoas LG e U1 foram identificados como pertencentes à espécie *Dendrocephalus thieryi*.

Para os espécimes de PA e U2, após análise das características morfológicas descritas na literatura para a diagnose da espécie *D. brasiliensis* (Lemos de Castro e Lima, 1986; Chaves et al., 2011; Barros-Alves et al., 2016), destacamos a presença de olhos sem espinhos, apêndice frontal com ausência de espinhos na porção basal; presença de uma estrutura em forma de antena entre a 1^a e a 2^a antenas, além de outras características já listadas. Para os espécimes dos grupos U1 e LG, analisadas as características morfológicas descritas na literatura para a diagnose da espécie *D. thieryi* (Rabet, 2006; Chaves et al., 2011), destacamos nesses espécimes a presença de olhos com espinho; apêndice frontal com espinhos na porção basal; ausência de estrutura em forma de antena entre a 1^a e a 2^a antenas, além das outras características listadas na tabela 2.1.

Na tabela 2.2 são descritas as características de identificação, de maneira comparativa entre as duas espécies identificadas. Nas figuras de 2.3 a 2.8, são apresentadas micrografias dos animais estudados com detalhes de algumas das principais características diferenciais das espécies.

Tabela 2.2. Resumo das principais características morfológicas diferenciais entre as duas espécies de *Dendrocephalus* identificadas, baseadas nas descrições em literatura.

<i>D. thieryi</i>	<i>D. brasiliensis</i>
Olho com espinho.	Olho sem espinho.
Apêndice frontal c/ espinhos na porção basal	Apêndice frontal sem espinhos na porção basal
Ramo 1V do apêndice frontal com sub-ramo anterior com a porção distal intumescida e longo sub-ramo posterior.	Ramo 1V do apêndice frontal com sub-ramo anterior intumescido distalmente; sub-ramo posterior curto e c/ terminação em gancho.
Ramo 2A do apêndice frontal podiforme.	Ramo 2A do apêndice frontal podiforme.
Sem espinho basal no ramo 2D sub-ramo I.	Grande espinho basal no ramo 2D sub-ramo I.
Endopoditos dos toracópodos com espinhos proeminentes.	Endopoditos dos toracópodos sem espinhos proeminentes.
Endópodo do toracópodos I com projeção basolateral espinada.	Toracópodo I com endópodo subigual em comprimento ao endópodo do toracópodo II.
Endópodo do toracópodos II com projeção basolateral sem espinhos.	Endópodo do toracópodo I sem processo espiniforme basolateral e similar aos endópodos dos toracópodos II a V (não modificado).
Endópodo do toracópodos III sem projeção basolateral.	Estrutura na forma de antena entre a 1 ^a e a 2 ^a antenas; 1 ^a antena cilíndrica, longa e lisa, quase tão longa quanto a 2 ^a . antena; 2 ^a antena com antenômeros proximais fundidos basalmente na região anterior da cabeça.
Endópodos dos toracópodos II e III com canto distolateral lobiforme, projetando-se distolateralmente para além da margem distal do endópodo.	

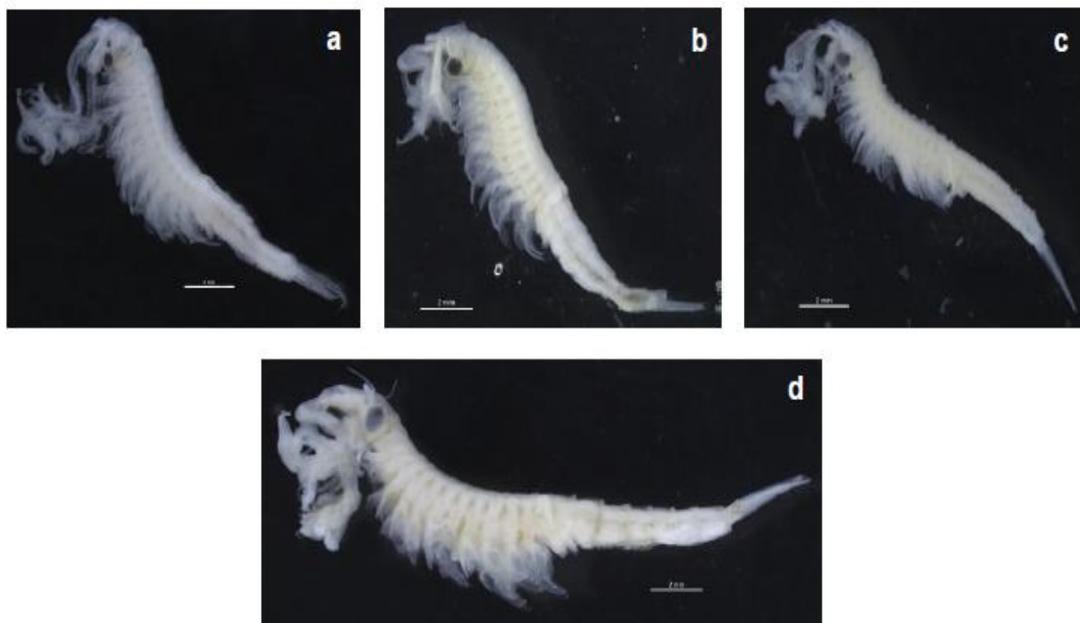


Figura 2.4. Aspecto geral de espécies de *Dendrocephalus*: a) Macho adulto de *D. thieryi* da lagoa U1; b) Macho adulto de *D. thieryi* da lagoa LG; c) Macho adulto de *D. brasiliensis* do cultivo PA; d) Macho adulto de *D. brasiliensis* da lagoa U2.

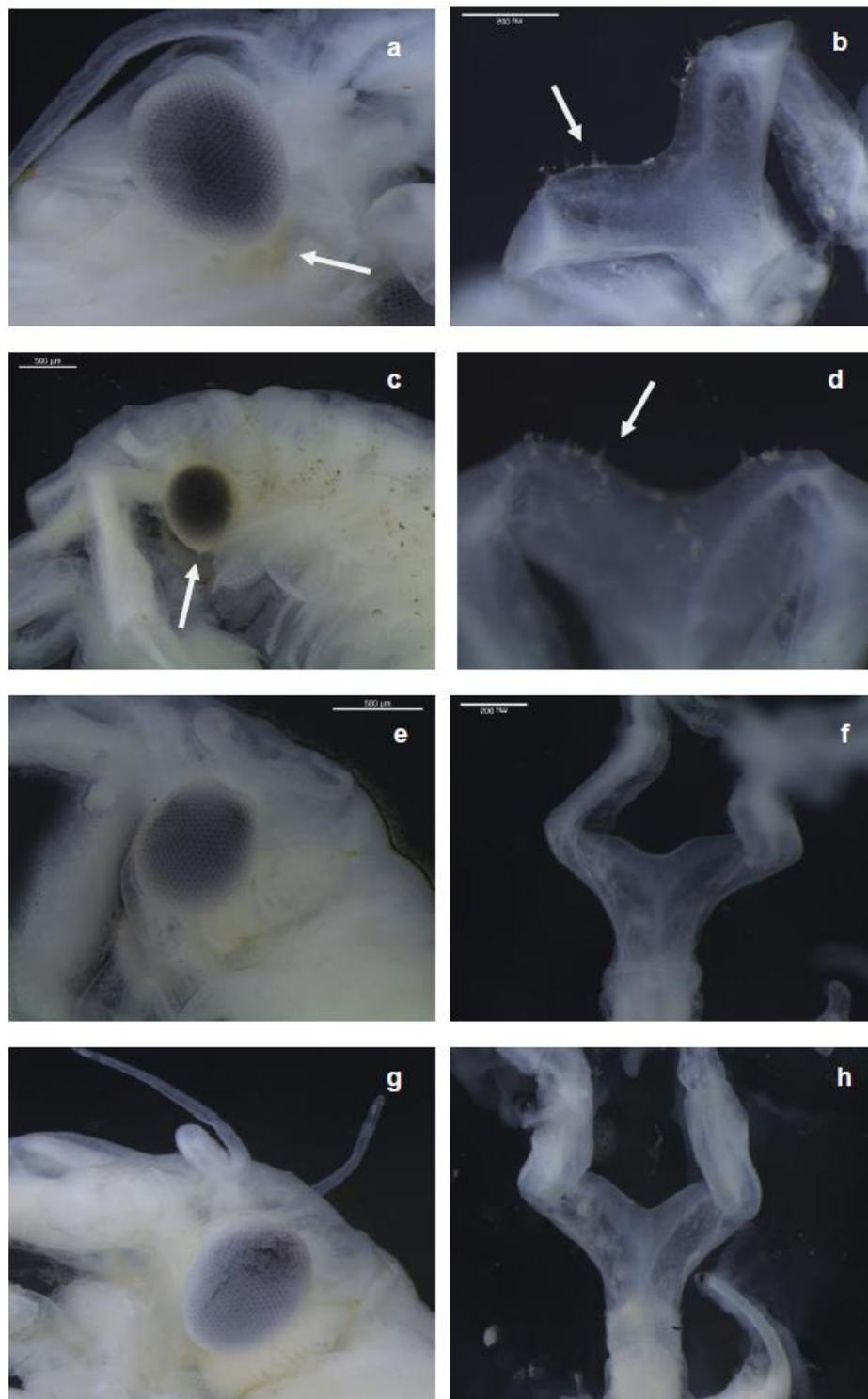


Figura 2.5. Comparativo entre espécies de *Dendrocephalus*: a) Detalhe do olho peduncular com presença de espinho de *D. thieryi* de U1, indicado por seta; b) Apêndice frontal de *D. thieryi* da lagoa U1, com presença de espinhos, indicados por seta; c) Detalhe do olho peduncular com presença de espinho de *D. thieryi* de LG, indicado por seta; d) Apêndice frontal de *D. thieryi* da lagoa LG com presença de espinhos, indicados por seta; e) Detalhe do olho peduncular sem espinho de *D. brasiliensis* de PA; f) Apêndice frontal de *D. brasiliensis* do cultivo PA, sem espinhos; g) Detalhe do olho peduncular espinho de *D. brasiliensis* de U2; h) Apêndice frontal de *D. brasiliensis* da lagoa U2, sem espinhos

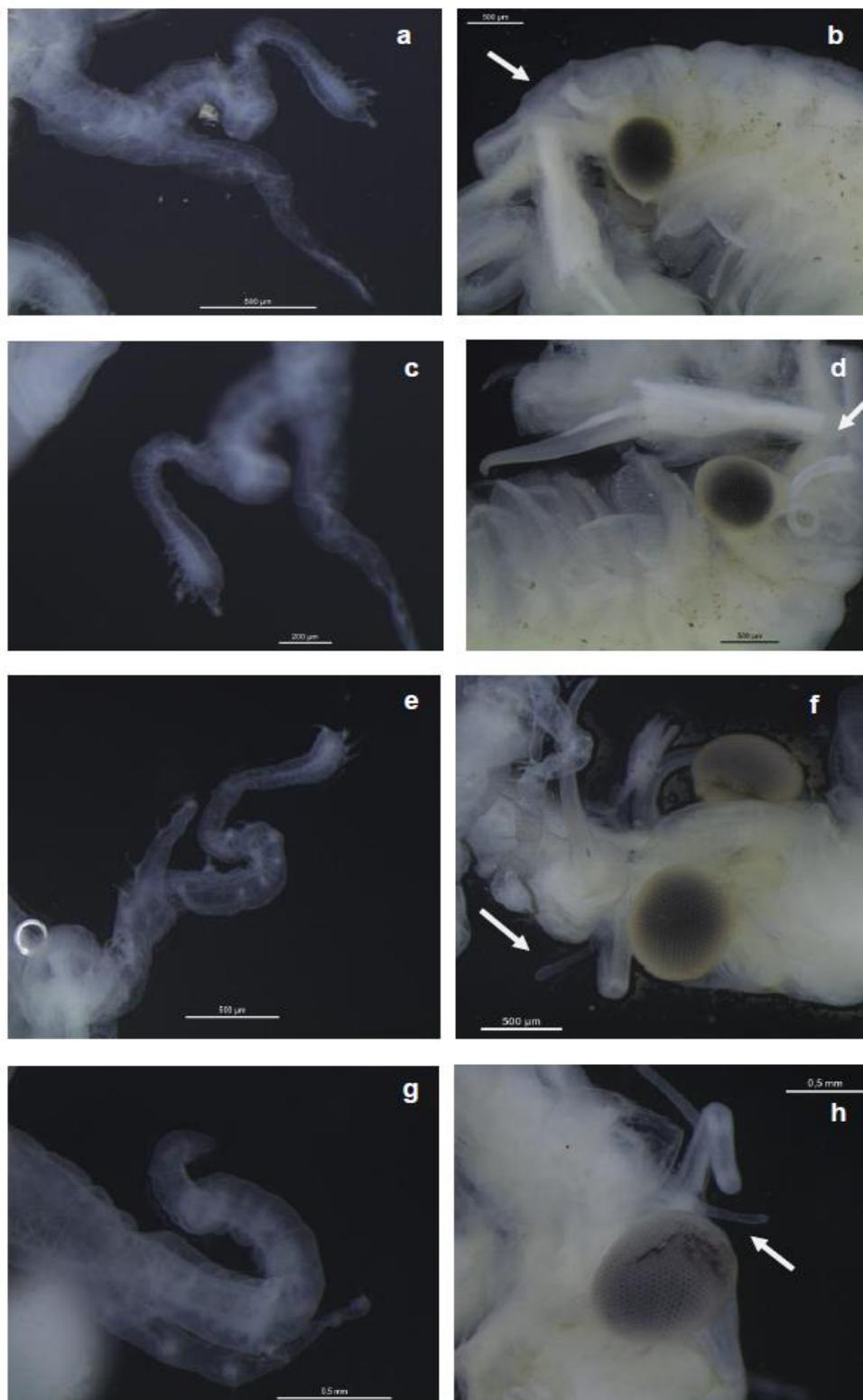


Figura 2.6. Comparativo entre espécies de *Dendrocephalus*: a) Ramo 1V do apêndice frontal de *D. thieryi* de U1; b) Ausência de estrutura em forma de antena, entre a 1ª e 2ª antena, em *D. thieryi* de U1, indicada por seta; c) Ramo 1V do apêndice frontal de *D. thieryi* de LG; d) Ausência de estrutura em forma de antena, entre a 1ª e 2ª antena, em *D. thieryi* de LG, indicada por seta; e) Ramo 1V do apêndice frontal de *D. brasiliensis* de PA; f) Estrutura em forma de antena, entre a 1ª e 2ª antena de *D. brasiliensis* de PA, indicada por seta; g) Ramo 1V do apêndice frontal de *D. brasiliensis* de U2; h) Estrutura em forma de antena, entre a 1ª e 2ª antena de *D. brasiliensis* de U2, indicada por seta

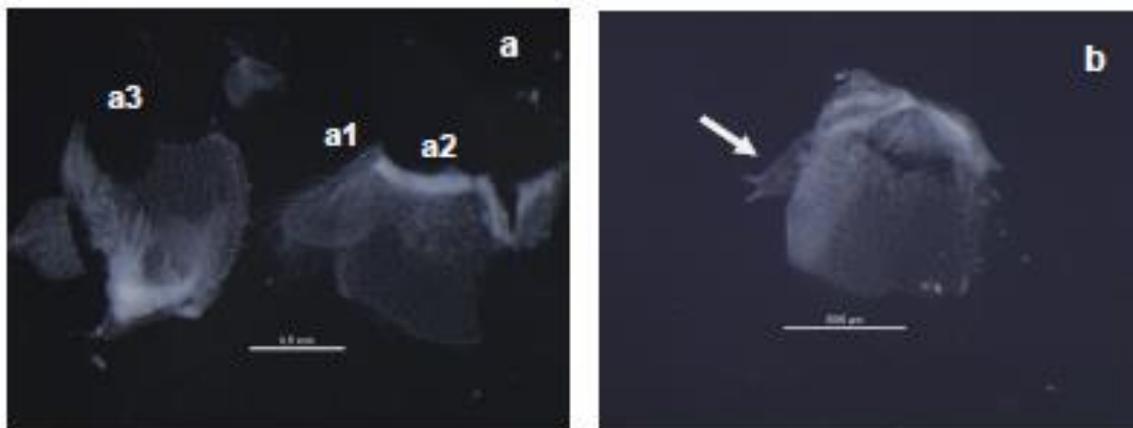


Figura 2.7. Comparativo entre espécies de *Dendrocephalus*: a) Pré-endopodito do primeiro membro (a1), endopodito do primeiro membro (a2) e endopodito do segundo membro (a3) de *D. brasiliensis* do ponto U2; b) Endopodito do primeiro membro de *D. thieryi* do ponto LG, com seta indicando o lobo basolateral.

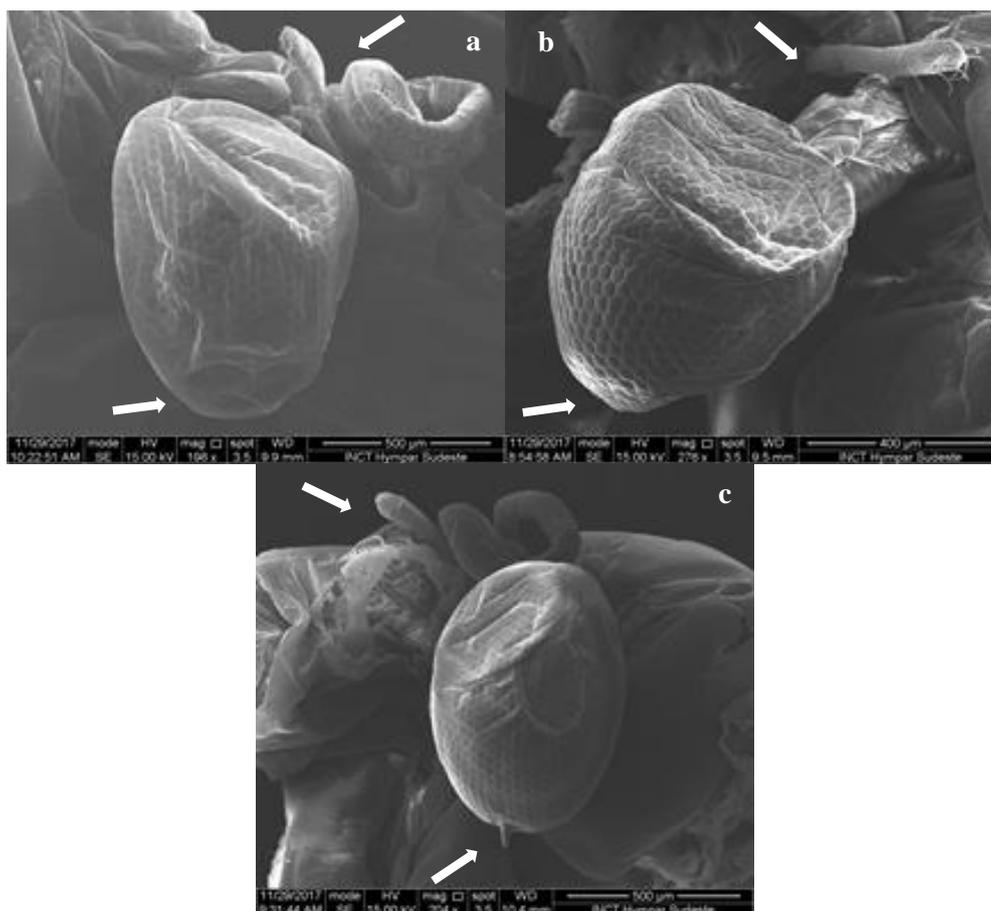


Figura 2.8. Imagem de MEV com comparativo entre espécies de *Dendrocephalus*: a) Detalhe do olho peduncular sem espinho de *D. brasiliensis* de U2 e presença de estrutura em forma de antena, entre a 1ª e 2ª antena de *D. brasiliensis* de U2, indicados por seta; b) a) Detalhe do olho peduncular sem espinho de *D. brasiliensis* de PA e presença de estrutura em forma de antena, entre a 1ª e 2ª antena de *D. brasiliensis* de PA, indicados por seta; c) Detalhe do olho peduncular sem espinho de *D. thieryi* de U1 e presença de estrutura em forma de antena, entre a 1ª e 2ª antena de *D. thieryi* de U1, indicados por seta.

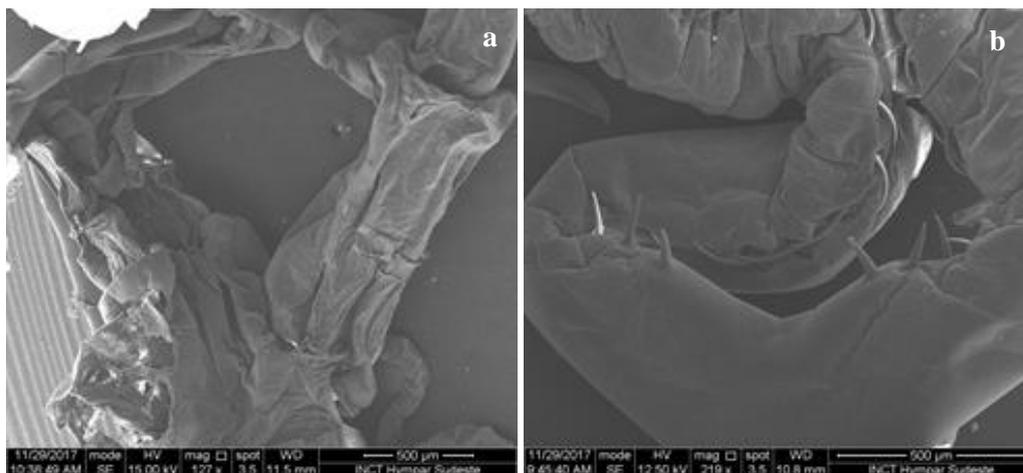


Figura 2.9. Imagem de MEV com comparativo entre espécies de *Dendrocephalus*: a) Apêndice frontal de *D. brasiliensis* da lagoa U2 sem espinhos; b) Apêndice frontal de *D. thieri* da lagoa U1 com presença de espinhos.

4.2 Análises moleculares – DNA Barcoding

As 40 sequências de COI obtidas dos espécimes de *Dendrocephalus* provenientes dos quatro pontos estudados possuem 658 pares de base (pb) de tamanho, dos quais 118 são sítios polimórficos. O conteúdo de GC médio encontrado de é 38,88%. A ausência de *stopcodons* e a alta similaridade das sequências com espécies da mesma família (Thamnocephalidae) no GenBank garantem que o produto amplificado consiste da região COI funcional dos organismos. As sequências obtidas não mostraram sinal de saturação de nucleotídeos da região COI (Iss de 0,1176, com Issc de 0,7398 para árvore simétrica e 0,5008 para árvore assimétrica, com $P < 0,0000$), mostrando que as sequências são úteis para as análises propostas.

Para a separação das sequências nos grupos para delimitação das distâncias intra e intergrupos, foi utilizado um dendrograma obtido pelo método de Neighbor-joining (NJ). Foram obtidos seis agrupamentos distintos, com valores de *bootstrap* consistentes (Figura 2.10), que corroboram a distribuição dos espécimes nos grupos de amostragem (U1, U2,

LG e PA), e também para os gêneros *Thamnocephalus* e *Branchinecta*, cujas sequências foram retiradas do Genbank.

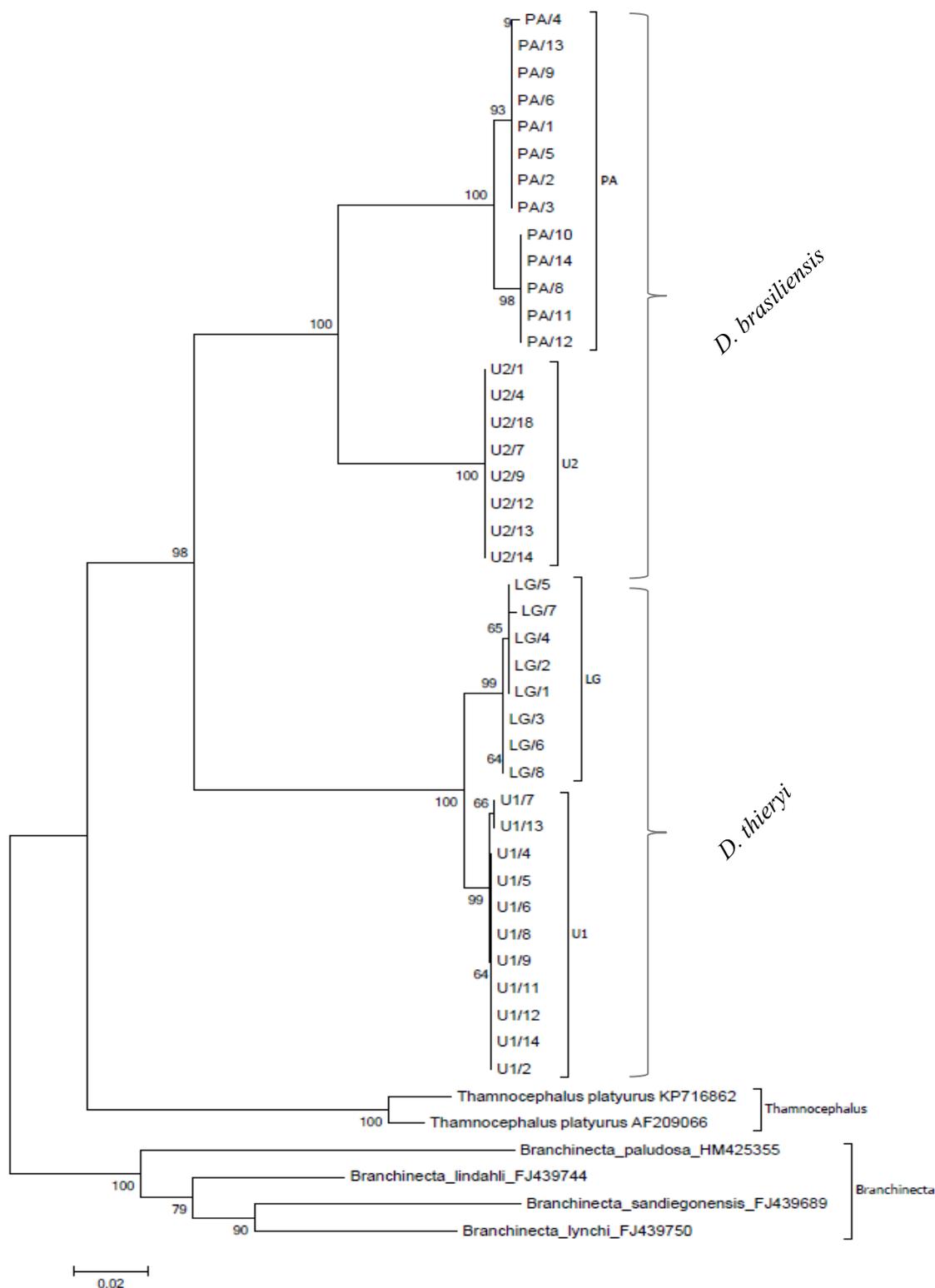


Figura 2.10. A árvore de distâncias foi inferida usando o método de NJ, usando 46 sequências e um total de 573 posições. A melhor árvore apresentada possui soma dos ramos = 0.72555165. A porcentagem de *bootstrap* (para 1000 replicas) está mostrada ao lado de cada nó. A árvore foi desenhada em escala, com o comprimento na mesma unidade das distâncias obtidas. As distâncias foram computadas usando o método de Kimura 2 parâmetros e a escala corresponde aos números de substituições por sítio. A análise incluiu as 3 posições do códon e regiões não codificantes. Todas as posições contendo gaps foram eliminadas. As análises foram realizadas no programa MEGA 6.0 (Tamura, 2013).

Em função da discussão sobre o método de obtenção das distâncias genéticas, inicialmente foram geradas as distâncias usando a distância p não corrigida e pelo modelo evolutivo K2P. Como a diferença no valor de distância entre os dois métodos não foi significativa, optou-se por usar apenas a distância obtida pelo modelo K2P, já que é a mais comum e de fácil comparação entre os artigos.

Dentre os espécimes provenientes do mesmo ambiente de coleta, houve pouca variação genética para a região COI (Tabela 2.3), sendo que apenas o grupo PA mostrou uma distância média ligeiramente maior (0,007) do que os outros grupos (0,001). Nas sequências entre os grupos U1 e U2, a distância genética média foi de 15,9%. Entre os grupos U1 e LG foi verificada distância média de 1,9%, entre os grupos LG e PA, 17,5% de distância média, entre os grupos LG e U2, 16,4% e entre PA e U2, a distância média foi de 8,7% (Tabela 2.3). Após a comparação da região consenso das sequências de espécimes de cada um dos quatro pontos de coleta amostrados com outros dois gêneros de Anostraca (Tabela 2.3), foi verificada uma distância média em torno de 20% com outros gêneros de Anostraca do GenBank. Com esse alinhamento dos pb foi gerada árvore de distâncias apresentada na Figura 2.10, que mostra as sequências dos espécimes dos quatro grupos amostrados como um cluster isolado dos demais gêneros de Anostraca analisados nesse trabalho. Esse cluster encontra-se inserido dentro de um agrupamento maior que inclui o gênero *Thamnocephalus*, também pertencente à família Thamnocephalidae e um agrupamento separado, de espécies do gênero *Branchinecta*, que é da família Branchinectidae.

Tabela 2.3. Distâncias genéticas médias de K2P entre sequências COI de espécimes de *Dendrocephalus* dos quatro grupos amostrados e de outros gêneros de Anostraca do Genbank.

	1	2	3	4	5	6
1. PA	0,007					
2. LG	0,175	0,001				
3. U2	0,087	0,164	0,000			
4. U1	0,167	0,019	0,159	0,001		
<i>Thamnocephalus</i>	0,209	0,198	0,218	0,201	0,027	
<i>Branchinecta</i>	0,247	0,268	0,250	0,257	0,230	0,151

5. Discussão

Este é o primeiro trabalho de identificação de Anostraca no Brasil usando DNA *Barcoding* como marcador molecular. Para isso, foram analisados um total de 40 espécimes de quatro diferentes pontos amostrais, três do Sertão de Minas Gerais e um de cultivo artificial.

O conteúdo de GC médio encontrado de 38,88% é condizente com outros valores já descritos para Anostraca. Em um estudo com 35 táxons de Anostraca, a variação de GC esteve entre 35,81% e 49,62% (Costa et al., 2007). A maioria dos trabalhos que envolvem espécies da Ordem Anostraca usa o parâmetro K2P, e isso facilita a comparação entre os valores (Costa et al, 2007; Munoz et al., 2008; Zofkova et al, 2009; Munoz et al., 2010; Pinceel et al., 2012; Pinceel et.al.; 2013; Aguilar et al., 2017).

Uma divergência sete vezes maior (0,7%) foi encontrada no grupo PA em relação aos outros três grupos (0,1%). Como o grupo PA corresponde ao local onde os espécimes são cultivados artificialmente, essa maior divergência poderia estar relacionada a uma maior população de organismos gerada (maior replicação e maior taxa de mutação) no mesmo período de tempo em relação aos espécimes coletados nas lagoas temporárias na natureza. Para confirmar essa hipótese, um maior número de espécimes do cultivo poderia ser analisado por DNA *Barcoding* e também o estabelecimento de cultivos provenientes dos locais naturais, para verificar se a mesma divergência se repete usando maior número de indivíduos. Ressalta-se ainda, que os sítios com detecção de variabilidade nos espécimes do grupo PA não geraram substituição de aminoácidos na sequência da proteína correspondente, por isso devem ter se fixado na população.

A distância média intragrupos variou de 8,7% a 16,7%, e uma variação de distância média para crustáceos entre 0,46% e 2,81% já foi descrita para a relação intraespecífica e 5,7 a 25,3% para interespecífica (Costa et al., 2007). Trabalhos com COI em outros Anostraca apresentam distâncias semelhantes às encontradas no presente trabalho. Em estudo com duas espécies de *Thamnocephalus*, as distâncias médias foram de 0,16 e 2,54% intraespécie e de 17 a 18,3% interespecies (Obregón-Barboza et al., 2015). Para *Chirocephalus* foi identificada uma distância média de 11 a 24,7% entre cinco espécies (Reniers et al., 2013). Em outro estudo com *Chirocephalus*, foram analisadas seis espécies, tendo sido demonstrada uma distância média variando de 2,2 a 28,8% (Ketmaier et al.,

2003). Uma única espécie de *Chirocephalus* apresentou uma distância de 2,5 a 5,3% (Ketmaier et al., 2012). Em um estudo realizado com duas espécies de *Branchiopodopsis*, foi encontrada uma distância média de 26% entre elas (Vanschoenwinkel et. al, 2011). Para *Branchinecta*, foi observada distância média de 0 a 3% intraespécies e 10 a 14% interespecies, num trabalho com três espécies (Vandergast et al., 2009).

Os dados indicam que LG e U1 são ambientes colonizados pela mesma espécie, identificada morfológicamente como *D. thieryi* (Figuras 2.3 a 2.8). Tanto a morfologia (Tabela 2.2), como a distância genética média de 1,9% encontrada entre os exemplares dos dois pontos de coleta confirmam esse dado. A descrição e distribuição geográfica de *D. thieryi* teve seu primeiro registro, e o único até o momento, no município de Buritizeiro, em Minas Gerais (Rabet, 2006), localizado a aproximadamente 300 km de distância do ponto U1 e 250 km do ponto LG onde foi encontrada no presente trabalho. Portanto, esse dado aponta um novo registro de ocorrência da espécie no estado de Minas Gerais.

A outra espécie deste estudo, identificada morfológicamente como *D. brasiliensis* (Figuras 2.4 a 2.9) está presente em PA e U2, e a distância genética média encontrada entre os dois grupos foi de 8,7%, bem maior do que os 3% propostos por Hebert et al. (2003) e Costa et al. (2007) para o limite entre espécies. Considerando que as características morfológicas usualmente utilizadas para a diagnose das espécies desse gênero (Tabela 2.1) foram observadas nos espécimes destes grupos, é possível que ocorra uma espécie críptica para *D. aff brasiliensis*, já que os indivíduos analisados não apresentam nenhum caráter morfológico que possa indicar uma nova espécie e, no entanto, são diferentes do ponto de vista molecular. Essa divergência entre a identificação taxonômica com base em análises morfológicas (que resultou em uma espécie) e as análises moleculares com COI (que resultou em duas MOTUS's – unidades taxonômicas operacionais moleculares) reforça a possibilidade de uma espécie críptica dentro de gênero *Dendrocephalus*.

A diversidade morfológica intraespecífica, que pode levar a confusões taxonômicas, possivelmente está ligada à seleção induzida por fatores ambientais, podendo, em última instância, resultar em especiação. A lagoa temporária U2 e o local de origem dos organismos cultivados em PA são geograficamente muito distantes. As populações já estão há tempos isoladas, evoluindo independentemente uma da outra, acumulando divergências e podendo, inclusive, em um futuro virem a ser espécies distintas. Distância geográfica e

características ambientais, especialmente as que perduram ao longo dos anos, vão moldando a morfologia e a fisiologia das espécies ao longo da evolução.

Um estudo na Austrália com um Thamnocephalidae, *Branchinella longirostris*, buscou combinar a análise taxonômica com análise de filogenia com COI, para verificar a possibilidade de tratar-se de um complexo de espécies crípticas. Os resultados mostraram que a identificação morfológica, baseada na forma do apêndice frontal, não é concordante com a estrutura genética mitocondrial, havendo uma distância genética média intraespecífica de 7,7%, enquanto a distância média entre grupos se deu entre 17,8 e 20,8% (Zofkova e Timms, 2009). Segundo os autores, a excepcional diversidade intraespecífica de *B. longirostris* se deve à sua ampla distribuição geográfica, e as alterações na morfologia do apêndice frontal pode estar relacionadas à geografia e sujeitas à seleção motivada por fatores ambientais, tendo o isolamento das populações podendo resultar em especiação devido à sua grande divergência genética.

Os resultados obtidos no presente estudo indicam a presença de três MOTU's do gênero *Dendrocephalus* e um possível conflito para a identificação morfológica, já que exemplares morfológicamente idênticos apresentam-se como diferentes unidades moleculares. No trabalho de Barros-Alves et al. (2016), os autores já haviam cogitado a possibilidade da existência de espécies crípticas dentro do gênero *Dendrocephalus*. Com a identificação desse provável problema taxonômico, torna-se necessária uma análise mais refinada da morfologia dessas duas entidades e a aplicação da taxonomia integrativa, com o apoio de análises moleculares, para a confirmação desse fato, dado que *D. brasiliensis* é a espécie de maior distribuição geográfica no Brasil, sendo muito utilizada como alimento vivo em aquicultura.

7. Conclusão

A análise das sequências da região de DNA *Barcoding* de 40 espécimes, identificadas morfologicamente como *D. brasiliensis* e *D. thieryi* possibilitou, pela primeira vez, a caracterização por meio de DNA *Barcoding* para espécimes do gênero e de Anostraca no Brasil. Os dados evidenciam a possível presença de espécie críptica em *D. aff brasiliensis*, em lagoas temporárias de Minas Gerais e em cultivos com inóculos proveniente da Bahia. Estudos envolvendo maior número de espécimes e de outras espécies do gênero, inclusão de localidades ainda não amostradas e a continuidade do uso de taxonomia integrativa serão essenciais para uma maior compreensão da taxonomia desse grupo de Anostraca.

A utilização de COI na identificação de espécimes de *Dendrocephalus* neste trabalho foi importante para reforçar a necessidade de estudos moleculares em identificações taxonômicas, especificamente em espécies que apresentam complexas estruturas de identificação e indicação de espécies crípticas, como é o caso do gênero. Uma correta identificação dos espécimes em regiões onde várias espécies do mesmo gênero são encontradas é crucial para o entendimento de aspectos ecológicos, fisiológicos e nutricionais, de modo a ampliar o conhecimento da biologia desses organismos e seu papel funcional nos ecossistemas. Dado o grande potencial de uso desses animais como fonte de alimento em tanques de piscicultura, sua correta identificação torna-se um ponto necessário para o manejo ideal de cada espécie e preservação da biodiversidade de espécies em ecossistemas temporários naturais.

Referências Bibliográficas

ADAMOWICZ, S. J. International Barcode of Life: Evolution of a global research community. **Genome** 58(5):151-62, 2015.

AGUILAR, A.; MAEDA-MARTÍNEZ, A. M.; MURUGAN, G.; OBREGÓN-BARBOZA, D. C.; MCCLINTOCK, K.; KRUMM, J. L. High intraspecific genetic divergence in the versatile fairy shrimp *Branchinecta lindahli* with a comment on cryptic species in the genus *Branchinecta* (Crustacea: Anostraca). **Hydrobiologia** 801(1):59-69, 2017.

BARROS-ALVES, S.P.; ALVES, D.F.R.; BOLLA JR, E.A.; RABET, N.; HIROSE, G.L. Morphological review of the freshwater fairy shrimp *Dendrocephalus brasiliensis* Pesta, 1921 (Anostraca: Thamnocephalidae). **Nauplius** 24(0)1-10, 2016.

BELK D.; PEREIRA, G. *Thamnocephalus venezuelensis*, new species (Anostraca: Thamnocephalidae), first report of *Thamnocephalus* in South America. **Journal of Crustacean Biology** 2(2):223 – 226, 1982.

CÉSAR, I. I.; ARMENDARIZ, L. C.; BECERRA, R. V.; LIBERTO, R. Biodiversidad de Crustacea (Anostraca, Notostraca, Spinicaudata, Laevicaudata, Ostracoda, Amphipoda y Brachyura Trichodactylidae) de la Mesopotamia argentina. Insugeo, **Miscelánea** 12:247–252, 2004.

CHAVES, T. P.; LACAU, S.; RABET, N. Illustrated key to the Brazilian *Dendrocephalus* (Crustacea: Anostraca: Thamnocephalidae). **Nauplius** 19(1):1-5, 2011.

COLLINS, R. A.; BOYKIN, L. M.; CRUICKSHANK, R. H.; ARMSTRONG, K. F. Barcoding's next top model: an evaluation of nucleotide substitution models for specimen identification. **Methods in Ecology and Evolution** 3(3):457-465, 2012.

COSTA, F. O.; DEWAARD, J. R.; BOUTILIER, J.; RATNASINGHAM, S.; DOOH, R. T.; HAJIBABAEI, M.; HEBERT, P. D. N. Biological identifications through DNA barcodes: the case of the Crustacea. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences** 64(2):272-295, 2007.

DANIELS, S. R., HAMER, M.; ROGERS, C. Molecular evidence suggests an ancient radiation for the fairy shrimp genus *Streptocephalus* (Branchiopoda: Anostraca). **Biological Journal of the Linnean Society** 82(3):313-327. 2004.

DEWAARD, J. R.; SACHEROVA, V.; CRISTESCU, M. E.; REMIGIO, E. A.; CREASE, T. J.; HEBERT, P. D. Probing the relationships of the branchiopod crustaceans. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 39(2):491-502, 2006.

HEBERT, P. D.; CYWINSKA, A; BALL, S. L.; DEWAARD, J. R. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings Biological sciences** 270(1512):313-21, 2003.

HEBERT, P. D.; GREGORY, T. R. The promise of DNA barcoding for taxonomy. **Systematic biology** 54(5):852-859, 2005.

HIROSE, G. L.; BARROS-ALVES, S. P.; ALVES, D. F. R.; SILVA, I. R. S.; BEZERRA, M. A. O. Morphological variation in males of *Dendrocephalus orientalis* (Anostraca: Thamnocephalidae): Implications for species identification. **Zootaxa** 3915(4):569–580, 2015.

JOLY, S.; DAVIES, T. J.; ARCHAMBAULT, A.; BRUNEAU, A.; DERRY, A.; KEMBEL, S. W.; PERES-NETO, P.; VAMOSI, J.; WHEELER, T. A. Ecology in the age of DNA barcoding: the resource, the promise and the challenges ahead. **Molecular ecology resources** 14(2):221-32, 2014.

KETMAIER, V.; MANDATORI, R.; MATTHAEIS, E.; MURA, G. Molecular systematics and phylogeography in the fairy shrimp *Tanymastix stagnalis* based on mitochondrial DNA. **Journal of Zoology** 266(4):401-410, 2005.

KETMAIER, V., MARRONE, F.; ALFONSO, G.; PAULUS, K.; WIEMANN, A.; TIEDEMANN, R.; MURA, G. Mitochondrial DNA regionalism and historical demography in the extant populations of *Chirocephalus kerkyrensis* (Branchiopoda: Anostraca). **PLoS one** 7(2):e30082, 2012.

KETMAIER, V.; ZARATTINI, P.; MATTHAEIS, E.; COBOLLI, M.; MURA, G. Intra- and inter-specific relationships in the six Italian species of the fairy shrimp genus *Chirocephalus*: combining allozyme and mtDNA data. **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research** 41(4):276-285, 2003.

KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences **Journal of Molecular Evolution** 16:111-120, 1980.

LEMOS DE CASTRO, A.; LIMA, I. B. M. Sobre um crustáceo anostráceo reencontrado no estado do Rio Grande do Norte, Brasil (Crustacea, Branchiopoda). Anais do VII Congresso Brasileiro de Zoologia, Publicações Avulsas do Museu Nacional, Rio de Janeiro 66:43-54, 1986.

LOPES, J. P.; GURGEL, H.C.B.; ARAUJO, A.; PONTES, C.S. Influência da inoculação de cistos na produção de biomassa de "branchoneta" *Dendrocephalus brasiliensis* Pesta, 1921 (Crustacea: Anostraca). **Ciência e Agrotecnologia** 32(2):598-603, 2008.

MAI, M. G.; SILVA T. A. S.; ALMEIDA, V. L. S.; SERAFINI, R. L. First record of the invasion of *Dendrocephalus brasiliensis* Pesta, 1921 (Crustacea: Anostraca: Thamnocephalidae) in São Paulo State, Brazil Pan-American **Journal of Aquatic Sciences** 3(3):269-274, 2008.

MONTERO-PAU, J., GOMÉZ, A.; MUNOZ, J. Application of an inexpensive and high-throughput genomic DNA extraction method for the molecular ecology of zooplanktonic diapausing eggs. **Limnology and Oceanography: Methods** 6(6):218-222, 2008.

MUNOZ, J.; GOMEZ, A.; GREEN, A. J.; FIGUEROLA, J.; AMAT, F.; RICO. Phylogeography and local endemism of the native Mediterranean brine shrimp *Artemia salina* (Branchiopoda: Anostraca). **Molecular ecology** 17(13):3160-77, 2008.

MUNOZ, J.; GOMEZ, A.; GREEN, A. J.; FIGUEROLA, J.; AMAT, F.; RICO, C. Evolutionary origin and phylogeography of the diploid obligate parthenogen *Artemia parthenogenetica* (Branchiopoda: Anostraca). **PloS one** 5(8):e11932, 2010.

NUSH, E. A. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigment determination. **Archiv für Hydrobiologie** 14:14-36, 1980

OBREGON-BARBOZA, H.; GARCÍA-VELAZCO, H.; MURUGAN, G.; MAEDA-MARTÍNEZ, A. M. A systematic review of Mexican populations of the fairy shrimp genus *Thamnocephalus* (Branchiopoda: Anostraca). **Journal of Crustacean Biology** 35(3):407-432, 2015.

PEREIRA, G. Taxonomic importance of the frontal appendage in the genus *Dendrocephalus* (Anostraca: Thamnocephalidae). **Journal of Crustacean Biology** 3(2):293-305, 1983.

PESTA, O. Kritische Revision der Branchipodidensammlung des Wiener Naturhistorischen Staatsmuseum. **Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien**, 34: 80–98(34):80–98, 1921.

PINCEEL, T.; BRENDONCK, L.; LARMUSEAU, M. H. D.; VANHOVE, M. P. M.; TIMMS, B. V.; VANSCHOENWINKEL, B. Environmental change as a driver of diversification in temporary aquatic habitats: does the genetic structure of extant fairy shrimp populations reflect historic aridification? **Freshwater Biology** 58(8):1556-1572, 2013.

PINCEEL, T.; VANSCHOENWINKEL, B.; WATERKEYN, A.; VANHOVE, M. P. M.; PINDER, A.; TIMMS, B.V; BRENDONCK, L. Fairy shrimps in distress: a molecular taxonomic review of the diverse fairy shrimp genus *Branchinella* (Anostraca: Thamnocephalidae) in Australia in the light of ongoing environmental change. **Hydrobiologia** 700(1):313-327, 2012.

PROSSER, S.; MARTINEZ-ARCE, A.; ELIAS-GUTIERREZ, M. A new set of primers for COI amplification from freshwater microcrustaceans. **Molecular ecology resources** 13(6):1151-1155, 2013.

RABET, N. A new species of Brazilian *Dendrocephalus* (Anostraca, Thamnocephalidae). **Zootaxa**(1370):49–57, 2006.

RABET, N.; THIÉRY, A. The neotropical genus *Dendrocephalus* (Crustacea: Anostraca: Thamnocephalidae) in Brazil (South America), with a description of two new species. **Journal of Natural History** 30(4):479-503, 1996.

REMIGIO, E. A.; HEBERT, P. D. N.; SAVAGE, A. Erratum: Phylogenetic relationships and remarkable radiation in *Parartemia* (Crustacea: Anostraca), the endemic brine shrimp of Australia: evidence from mitochondrial DNA sequences. **Biological Journal of the Linnean Society** 74(4):597-599, 2001a.

REMIGIO, E. A.; HEBERT, P. D. N.; SAVAGE, A. Phylogenetic relationships and remarkable radiation in *Parartemia* (Crustacea: Anostraca), the endemic brine shrimp of Australia: evidence from mitochondrial DNA sequences. **Biological Journal of the Linnean Society** 74(1):59-71. 2001b.

RENIERS, J., VANSCHOENWINKEL, B.; RABET, N.; BRENDONCK L.; Mitochondrial gene trees support persistence of cold tolerant fairy shrimp throughout the Pleistocene glaciations in both southern and more northerly refugia. **Hydrobiologia** 714(1):155-167, 2013.

ROGERS, D. C. A genus level revision of the Thamnocephalidae (Crustacea: Branchiopoda: Anostraca) **Zootaxa**(1260):1-25, 2006.

ROGERS, D. C. Anostraca Catalogus (Crustacea: Branchiopoda). The Raffles Bulletin of **Zoology** 61(2):525-546, 2013

ROGERS, D. C.; CORREA-GOMES, J.P.; VIEIRA, F. A new species of *Dendrocephalus* (Crustacea, Anostraca) from Serra dos Carajás (Pará State, Brasil). **Zootaxa**(3363):52–58, 2012.

ROGERS, D. C.; VOLCAN, M. V. A new *Dendrocephalus* (Crustacea, Anostraca, Thamnocephalidae) from Rio Grande do Sul State, Brazil. **Nauplius** 24(0):1-9, 2016.

SRIVATHSAN, A.; MEIER, R. On the inappropriate use of Kimura-2-parameter (K2P) divergences in the DNA-barcoding literature. **Cladistics** 28(2):190-194, 2012.

TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. **Molecular biology and evolution** 30(12):2725-9, 2013.

VALENTINI A.; POMPANON, F.; TABERLET, P. DNA barcoding for ecologists. **Trends in ecology & evolution** 24(2):110-117, 2009.

VANDERGAST A. G.; WOOD, D. A.; SIMOVICH, M.; BOHONAK, A. J. Identification of co-occurring *Branchinecta* fairy shrimp species from encysted embryos using multiplex polymerase chain reaction. **Molecular ecology resources** 9(3):767-70, 2009.

VANSCHOENWINKEL, B.; MERGEAY, J.; PINCEEL, T.; WATERKEYN, A.; VANDEWAERDE, H.; SEAMAN, M.; BRENDONCK, L. Long distance dispersal of zooplankton endemic to isolated mountaintops--an example of an ecological process operating on an evolutionary time scale. **PloS one** 6(11):e26730, 2011.

XIA, X., 2013. DAMBE5: a comprehensive software package for data analysis in molecular biology and evolution. **Molecular biology and evolution** 30(7):1720-8.

ZOFKOVA, M.; TIMMS, B. V. 2009. A conflict of morphological and genetic patterns in the Australian anostracan *Branchinella longirostris*. **Hydrobiologia** 635(1):67-80, 2009.