



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
USO DOS RECURSOS NATURAIS



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO:

**EFEITO DA QUALIDADE, QUANTIDADE E DO ENRIQUECIMENTO
NUTRICIONAL DE DIFERENTES DETRITOS FOLIARES PARA O
CONSUMO DE *Phylloicus* sp. (Calamoceratidae)**

GUILHERME PEREIRA DA SILVA DE SENA

MONTES CLAROS – MG

FEVEREIRO DE 2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
USO DOS RECURSOS NATURAIS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO:

EFEITO DA QUALIDADE, QUANTIDADE E DO ENRIQUECIMENTO
NUTRICIONAL DE DIFERENTES DETRITOS FOLIARES PARA O
CONSUMO DE *Phylloicus* sp. (Calamoceratidae)

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Montes Claros como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Uso dos Recursos Naturais, para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Uso dos Recursos Naturais.

GUILHERME PEREIRA DA SILVA DE SENA

Orientador: Prof. Dr. José Francisco Gonçalves Junior

Co-orientador: Prof. Dr. Renan de Souza Rezende

MONTES CLAROS – MG

FEVEREIRO DE 2019

Sena, Guilherme Pereira da Silva de.

S474e Efeito da qualidade, quantidade e do enriquecimento nutricional de diferentes detritos foliares para o consumo de *Phylloicus* sp. (Calamoceratidae) [manuscrito] / Guilherme Pereira da Silva de Sena. – 2019.

65 f. : il.

Inclui bibliografia.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas/PPGCB, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Uso dos Recursos Naturais, PPGBURN, 2019.

Orientador: Prof. Dr. José Francisco Gonçalves Júnior.

Coorientador: Prof. Dr. Renan de Souza Rezende.


1. Inseto aquático. 2. Nutrientes. 3. Riacho. 4. Cerrado. 5. Amazônia. 6. Zona ripária. 7. Detritos – Qualidade - Quantidade. 8. Decomposição. I. Gonçalves Júnior, José Francisco. II. Rezende, Renan de Souza. III. Universidade Estadual de Montes Claros. IV. Título.


Guilherme Pereira da Silva de Sena

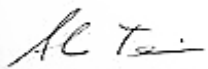
**EFEITO DA QUALIDADE, QUANTIDADE E DO ENRIQUECIMENTO
NUTRICIONAL DE DIFERENTES DETRITOS FOLIARES PARA O CONSUMO DE
Phylloicus sp. (Calamoceratidae).**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Montes Claros como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Uso dos Recursos Naturais, para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Uso dos Recursos Naturais.

Aprovado em 25 de janeiro de 2019


Prof. Dr. José Francisco Gonçalves Júnior – Orientador - UNB


Prof. Dr. Anderson Medeiros dos Santos - UNIMONTES


Prof. Dr. Alan Mosele Tonin – UNB

BOLSA:



APOIO:



Ao meu pai e meus avós.

Wyrð bið ful aræd.
(O destino é inexorável)
Bernard Cornwell

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. José Francisco Gonçalves Júnior, pela oportunidade de trabalhar e aprender. Obrigado pela paciência, confiança, apoio, orientações e pelos “puxões de orelha” que me deu sempre nas horas necessárias; que me fizeram crescer (tanto pessoal, quanto profissional e acadêmico). Admiro o caráter do senhor e o tenho não só como professor, mas como amigo e exemplo de pesquisador.

Ao Prof. Dr. Renan de Sousa Rezende pela oportunidade de desenvolver o trabalho que resultou nesta dissertação. Obrigado pela paciência, confiança e apoio durante as muitas dúvidas que tive durante o período do mestrado. Sinto-me lisonjeado por ter tido sua orientação.

À Dra. Verónica Ferreira, pelo auxílio na execução dos experimentos do segundo capítulo desta dissertação. Obrigado por ter agregado ainda mais em conhecimento e experiência para mim durante o mestrado.

Ao Prof. Dr. Anderson Medeiros dos Santos, por ter me recebido e disponibilizado o laboratório de Limnologia e Macrófitas Aquáticas da Universidade Estadual de Montes Claros durante mestrado. Obrigado pelos momentos de discussão e aprimoramento em Limnologia.

O meu muito obrigado aos demais professores do Programa de Pós Graduação em Biodiversidade e Uso de Recursos Naturais – Burn da Universidade Estadual de Montes Claros – UNIMONTES pelos momentos de discussão e aprendizado sobre diversas questões biológicas, as quais vieram para enriquecer meu conhecimento.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Uso de Recursos Naturais – Burn: Bets, Zete, Humberto, Jeff, Kami, Lais, Léo, Lety, Leu, Peu e Rayssa. Foi um imenso prazer poder tê-los conhecido e convivido durante o mestrado. Garanto que ganhei amizades que levarei pelo resto da vida.

Aos meus colegas do Laboratório de Limnologia/Aquaripária da UnB: Alan, Regina, Fernanda, Dianne, Flávio, Laís, Marcos, Monalisa, Raiane, e Paulino, pela amizade e apoio nas horas que precisei.

À Bia, meu amor, pelo carinho, apoio e compreensão durante o período do mestrado. Ao Rafael Chaveirinho pela força que me dá desde a graduação. À Emilia, que me aguenta deste que era seu estagiário e que sempre me aconselha sobre a vida.

Por fim, obrigado à minha família pelo apoio incondicional, pelos conselhos dados durante toda a vida, por mostrarem por quais caminhos devo andar, pelo amor e carinho dados a mim.

MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURAS.....	10
ÍNDICE DE TABELAS.....	11
APRESENTAÇÃO.....	12

CAPÍTULO 1 – LEAF-TRAITS CONTROL LEAF-LITTER PROCESSING BY INVERTEBRATE SHREDDERS IN TROPICAL STREAM.....

ABSTRACT.....	16
INTRODUCTION.....	17
METHODS.....	20
RESULTS.....	24
DISCUSSION.....	27
CONCLUSION.....	30
LITERATURE CITED.....	31

CAPÍTULO 2 – EFEITO DO ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DE DIFERENTES DETRITOS FOLIARES NO CONSUMO DE *Phylloicus* (TRICHOPTERA, CALAMOCERATIDAE).....

RESUMO.....	41
INTRODUÇÃO.....	43
MÉTODOS.....	46
RESULTADOS.....	51
DISCUSSÃO.....	54
CONCLUSÃO.....	56
LITERATURA CITADA.....	57

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	64
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 – LEAF-TRAITS CONTROL LEAF-LITTER PROCESSING BY INVERTEBRATE SHREDDERS IN TROPICAL STREAMS

Figure 1. Experimental design to assess the effect of litter quality and the effect of litter quantity on the processing by *Phylloicus* sp.....22

Figure 2. Leaf litter consumption by *Phylloicus* spp. from Cerrado and from Amazonian, in the Quantity test, in the Quality test and both experiments together.....24

CAPÍTULO 2 – EFEITO DO ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DE DIFERENTES DETRITOS FOLIARES NO CONSUMO DE *Phylloicus* (TRICHOPTERA, CALAMOCERATIDAE)

Figure 1. Representation of leaf consumption experiment 72 replicates (12 for each treatment) of two Cerrado species with high and low quality enriched with three levels of nitrogen and phosphorus, for an invertebrate shredder.....48

Figure 2. Representation of Preference experimental design of two cerrado leaf species with high and low quality, enriched with three levels of nitrogen and phosphorus, for an invertebrate shredder.....50

Figure 3. Leaf litter consumption experiment. Consumption of gram of leaf discs per gram of invertebrate biomass among the three enrichment treatments carried out in *Maprounea guianensis*.....52

Figure 4. Leaf litter preference experiment. Consumption preference of the gram of leaf discs per gram of invertebrate biomass for *I. laurina* and *M. guianensis* enrichment with N and P in different levels.....54

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO 1 – LEAF-TRAITS CONTROL LEAF-LITTER PROCESSING BY INVERTEBRATE SHREDDERS IN TROPICAL STREAMS

Table 1. Summary results table of comparisons between sites, resource availability (leaf quantity), litter proportions (leaf quality) and interaction of this factors (as a linear regression model) for food resource use by *Phylloicus*, performed at Cerrado and Amazonian systems.26

CAPÍTULO 2 – EFEITO DO ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DE DIFERENTES DETRITOS FOLIARES NO CONSUMO DE *Phylloicus* (TRICHOPTERA, CALAMOCERATIDAE)

Table 1. Consumption of g dry mass/g invertebrate in *M. guianensis* and *I. Laurina* by *Phylloicus* sp. larvae after an enrichment with N and P in different levels (High, Medium and Low) and consumption for each nutriente level for each leaf specie. Values are means \pm SE (n = 3).....53

Table 2. Concentration of chemical compounds (% dry weight) and fungal biomass (μg ergosterol g^{-1} AFDM) of *M. guianensis* and *I. Laurina* after a enrichment with N and P in different levels (High, Medium and Low). Values are means \pm SE (n = 3).....53

APRESENTAÇÃO

A principal questão que orientou esta dissertação foi "Como a quantidade e as características foliares regulam a atividade alimentar de um invertebrado fragmentador tropical?".

Assim, esta dissertação aborda aspectos relacionados ao consumo e preferência alimentar no estágio larval (fase aquática) do inseto fragmentador do gênero *Phylloicus* (Calamoceratidae-Trichoptera). Este documento foi subdividido em Capítulos 1 e 2, Considerações Finais e Perspectivas Futuras.

O primeiro capítulo intitulado como: “**Leaf-traits control leaf-litter processing by invertebrate shredders in tropical streams**” buscou avaliar a relação entre a quantidade (4 ou 12 discos foliares) e diferentes proporções de folhas com maior (*Maprounea guianensis*) e menor (*Inga laurina*) qualidade foliar no consumo de *Phylloicus* spp. oriundo de um córrego do Cerrado e de outro da Amazônia. Os experimentos foram realizados concomitantemente em microcosmos no Laboratório de Limnologia/Aquaripária, no Departamento de Ecologia da Universidade de Brasília (UnB), e no Laboratório de Citotaxonomia e Insetos Aquáticos do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

No segundo capítulo que tem por nome: “**Efeito do enriquecimento nutricional de diferentes detritos foliares no consumo de *Phylloicus* (Trichoptera, Calamoceratidae)**” buscou compreender como o enriquecimento de Nitrogênio (N) e Fósforo (P) na água pode afetar a qualidade dos detritos foliares e conseqüentemente a preferência e consumo de diferentes folhas por *Phylloicus* sp. Foram realizados experimentos em microcosmo utilizando organismos de um córrego do Cerrado e folhas de menor (*Inga laurina*) e maior (*Maprounea guianensis*) qualidade. Estas folhas foram enriquecidas com uma solução de concentração de NP mais baixa, água do riacho filtrada

(como concentração média) e solução de concentração de NP mais alta, e posteriormente foram ofertadas aos invertebrados.

OBJETIVO GERAL

Estudar o efeito da quantidade, qualidade e enriquecimento (aumento de N e P) de detritos foliares no consumo e na preferência alimentar de larvas de *Phylloicus* sp.

CAPÍTULO 1

Leaf-traits control leaf-litter processing by invertebrate shredders in tropical streams

Guilherme Sena, José Francisco Gonçalves Júnior, Renato Tavares Martins, Neusa Hamada, Renan de Souza Rezende

Leaf-traits control leaf-litter processing by invertebrate shredders in tropical streams

Guilherme Sena¹, José Francisco Gonçalves Júnior¹, Renato Tavares Martins^{2,3}, Neusa Hamada², Renan de Souza Rezende^{1,4}

¹AquaRiparia/Lab. de Limnologia, Department of Ecology, University of Brasília, Brasília, Brazil.

²Coordenação de Biodiversidade, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, Manaus, Brazil.

³Program of Postgraduate in Ecology and Evolution, Universidade Federal de Goiás - UFG, Goiânia, Goiás, Brazil.

⁴Program of Postgraduate in Environmental Sciences, Community University of Chapecó Region, Chapecó, Brazil.

ABSTRACT

Amazon and Cerrado forested streams show natural fluctuations in leaf-litter quantity along the time and space, suggesting a change on litter quality input. These natural fluctuations of leaf-litter change the energy flow and organic matter cycling, affecting leaf decomposition in forested streams. Larvae of shredder insects have an important role in leaf-litter decomposition. The Trichoptera *Phylloicus* spp. is a typical shredder in tropical headwater streams. Here, we assessed the consumption by shredder *Phylloicus* spp., from Amazonia and Cerrado biomes, on higher (*Maprounea guianensis*) and lower quality leaves (*Inga laurina*) on different proportions and quantities. Experiments were performed concomitantly in microcosms approaches, simulating Cerrado and Amazonian streams. Higher leaf consumption occurred in Cerrado microcosms. Litter quantity influenced negatively leaf consumption by shredders in Cerrado, in opposition to Amazonia, where consumption was not affected by leaf quantity. In both sites we observed higher consumption by shredders in treatment with only *M. guianensis* and no difference between other treatments with mixture of leaves. In treatment with litter of *I. laurina*, we noted the use of substrate for case building (due to the higher leaf toughness), affecting the fragmentation process. Therefore, our results indicate that leaf-traits drives the preference of litter consumption by *Phylloicus* larvae in Cerrado and Amazonia streams.

Keywords: Aquatic insect, detritus quality, quantity of organic matter, riparian zone, Cerrado, Amazonia.

INTRODUCTION

Floristic studies on tropical rainforests and savannas (Cerrados) in South America demonstrated a mutual influence between them, mainly near of transition zones (Méio *et al* 2003, Oliveira-Filho and Ratter 1994). The biome interaction becomes more evident especially by global climate fluctuations in the past (Bueno *et al* 2016). South American Cerrados, expanded into the tropical rainforest (Amazon Forest) during the Last Glacial Maximum according to Pleistocene refuge theory (see Bueno *et al* 2016). Recently, the association between high deforestation rates and global warming is transforming tropical forest areas in grassland prairies similar to Cerrado areas in a savannization process (Fearnside 2007, Silverio *et al* 2013). In addition, regardless of higher climatic changes, tropical biomes show natural seasonal changes on litter quantity input (Rezende *et al* 2016, Sales *et al* 2015), with a strong seasonality in Cerrado forested streams (Tonin *et al.*, 2017). Furthermore, there is a higher input of litter in Amazon than in the Cerrado forested streams, related to precipitation as a limiting factor (Tonin *et al.*, 2017). These natural seasonal changes on litter input suggest a change of litter quality input (Gonçalves and Callisto 2013, Tonin *et al.*, 2017), as well as repercussions for the flow of energy and the cycling of organic matter in streams (Bueno *et al* 2016).

Riparian zone closes the canopy above streams (Gonçalves and Callisto 2013), reducing the light input in lotic ecosystems and, consequently, the primary productivity of the system (Vannote *et al* 1980). Therefore, the main source of energy for low-order lotic systems comes from the input and subsequent decomposition of litter material originated from the riparian plants, between 60 and 80% (Esteves and Gonçalves 2011 Bambi *et al* 2017) derive from vertical and lateral contribution of the stream edges, respectively (Rezende *et al* 2016). Leaf litter in these ecosystems can be retained and accumulated on the riverbed (Bambi *et al* 2017), where can undergo leaching of soluble

compounds (e.g., tannins and polyphenols; Graça *et al* 2015) and be colonized by microorganisms in the conditioning process (Graça *et al* 2016). Finally, invertebrates fragment leaves to use them as food resource and/or shelter (Gessner *et al* 1999, Graça *et al* 2015). Detritivore invertebrates (mainly shredders) can dramatically increase leaf breakdown rates (Moulton *et al* 2010, Graça *et al* 2015) showing the importance of the shredders for functioning of headwater streams systems (Graça 2001).

In general, shredders (Prather 2003) have been found in low abundance in tropical streams (more adapted to lower temperatures; Boyero *et al* 2011), but due to high biomass and body size they can be important for cycling of organic matter and energy flow in aquatic ecosystems (Rezende *et al* 2014, Tonin *et al* 2014, Martins *et al* 2015). The genus *Phylloicus* Müller, 1880 (Trichoptera: Calamoceratidae) has approximately 60 species, distributed from South to Central America. *Phylloicus*' larvae are commonly found on submerged leaf-litter (Prather 2003). It is the most abundant shredder taxon in Cerrado (Rezende *et al* 2014, 2015) and Amazonian headwater streams (Martins *et al* 2014, Martins *et al* 2015). *Phylloicus* is a typical shredder and uses leaf-litter deposited in pool areas on streams bed to obtain their food and material to case construction (Wantzen and Wagner 2006). In this process, *Phylloicus* larvae convert the coarse particulate organic matter into fine particles and dissolved organic matter (Prather 2003). This highlights the importance of understanding factors that change the leaf litter processing by *Phylloicus*, and consequently, the functioning of ecosystem.

Ferreira *et al* (2015) analyzed the diet of *Phylloicus* larvae and pointed out that the particulate organic matter (fine and coarse) consumed varied among instars with the proportion of food related to stream characteristics. These results indicated the complex diet and the direct connection with local and temporal resource availability (input of leaf litter), highlighting the need for further studies. Events such as temporal changes of litter

quantity and the physical environment have been claimed to affect *Phylloicus* populations (Leite *et al* 2016, Rezende *et al* 2017). As well, intrinsic leaf-traits, such as leaf-litter size (Rezende *et al* 2018), hardness and nutrients (Graça, 2001, Biasi *et al* 2019), lignin (Gessner 2005) and phenolic concentrations (Moretti *et al* 2009) are factors that denote the leaf-litter quality and explain shredders feed preference. However, biological interactions as competition (Rezende *et al* 2015) and risk of predation (Navarro *et al* 2013) can affect negatively the population dynamics of *Phylloicus*. Leaf-litter processing by *Phylloicus* larvae can also be negatively influenced by environmental conditions, as increase of temperature (Navarro *et al* 2013, Martins *et al* 2017a, b). However, all these mentioned studies have a local character, using leaf-litter and larvae just from the same place in their design.

Previous studies just investigated food preference of *Phylloicus* larvae (Moretti *et al* 2009, Navarro *et al* 2013). However, the effects of leaf-litter quantity of different leaf traits on leaf-litter consumption in biomes with different organic matter dynamics have still been an ignored question. Our aim was to assess consumption by *Phylloicus* larvae from different geographic origins on higher (*Maprounea guianensis*) and lower quality leaves (*Inga laurina*) on different proportions and quantities under controlled conditions of microcosms. This experiment will allow assessing of possible impacts on leaf litter processing and survival of *Phylloicus* spp. by riparian changes in Amazonia and Cerrado biomes. Our hypotheses were: 1) the highest consumption will be recorded in treatments with more *M. guianensis* proportion, due to shredder feeding preference for softer leaf-litter (Rincon and Martinez 2006; Biasi *et al*, 2019); 2) the highest litter availability will decrease the use of harder leaf-litter because consumers tends to potentialize the feed in resources that are energetically better for metabolism maintenance (Kaspari *et al* 2012).

METHODS

Sampling Site description

We sampled *Phylloicus* spp. larvae in Amazonian and Cerrado streams. In Cerrado, larvae were sampled in Capetinga stream (15 ° 57 '40 "S, 47 ° 56' 33" W) located in Gama-Cabeça de Veado watershed of Federal District of Brazil. In Amazonian stream, *Phylloicus* larvae were collected in Barro Branco stream, at the Ducke Reserve (02°55' and 03°01'S, 59°53' and 59°59'W), Central Amazonia in the Amazon State of Brazil. In the sampling sites we measured, the stream channel (Cerrado: 2 m; Amazonia: 1.5 m), depth (Cerrado: 0.20 m; Amazonia: 0.15 m), dissolved oxygen (Cerrado: 7.0±0.6 mg.L⁻¹ standard error; Amazonia: 6.6±0.1 mg.L⁻¹), electrical conductivity (Cerrado: 16.7±0.5 µS.cm⁻²; Amazonia: 10.7±0.4 µS.cm⁻²), temperature (Cerrado: 19.5±1.0°C; Amazonia: 24.5±0.5°C) and pH (Cerrado: 6.1±0.1; Amazonia: 4.6±0.1).

Phylloicus' sampling and identification

Phylloicus spp. larvae were sampled by "active searching" (saw target species and then collected by kicknet) by 4 hours of sampling effort (single day). For identification, some *Phylloicus* larvae from Cerrado stream were collected in the field and kept, individually, in containers with small portion of leaves collected in the field and stream water with constant aeration, each container was covered with fine mesh of 0.5 mm held by a rubber band. Daily observations were made until newly hatched adults were observed. They were captured, preserved in 80% alcohol, and sent to the National Institute for Research in Amazonia (INPA) for identification. The specimens from Cerrado represent an undescribed *Phylloicus* species. Larvae collected in the Amazonian stream belong to the species *Phylloicus elektoros* Prather, association with adult was made by rearing procedures, however, the larva is not formally described yet.

Laboratory procedures

The experiments were performed in the microcosms of the Laboratory of Limnology/AquaRiparia in Department of Ecology at the University of Brasilia (UnB) for the Cerrado biome experiment, and in the Laboratory of *Citotaxonomia e Insetos Aquáticos* located at the Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) for Amazonian biome experiment. *Phylloicus* larvae were taken to the laboratory in cool boxes and placed in containers (15.5 cm x 15.5 cm x 12 cm, 20 m³ volume) with mineral water and previously calcined gravel (in an oven for 4 hours at 550°C) on the bottom (Martins *et al* 2017 a, b). Larvae were kept in containers in an experimental room with continuous aeration at a temperature of 20°C and with a light/dark ratio of 12/12 h throughout the experiment. Daily, we measured dissolved oxygen (Lenway 970 Meter DO₂; Cerrado: 6.9±0.3 standard error mg.L⁻¹; Amazonia: 6.6 ±0.22 mg.L⁻¹), electrical conductivity (Lenway 430 pH/cond. Meter; Cerrado: 20.1 ±1.5 µS.cm⁻²; Amazonia: 72.8 ±5.4 µS.cm⁻²) and pH (Lenway 430 pH/cond. Meter; Cerrado: 6.5±0.04; Amazonia: 4.7±0.1) in all containers. *Phylloicus* larvae had their cases removed before the start of the experiments to avoid the consumption of external organic matter (e.g. consumption of case).

Leaf-litter of *Maprounea guianensis* and *Inga laurina* were conditioned in litterbags (0.5 mm mesh) for seven days at Capetinga and Barro Branco streams for Cerrado and Amazonia experiments, respectively. *Maprounea guianensis* (higher quality leaf-litter) presents lignin concentration of 23%, 15% of cellulose, 36% of polyphenols, 0.76% of Nitrogen (N), 0.01% of Phosphorus and 31 of Lignin:N ratio. *Inga laurina* (lower quality leaf-litter) presents 45% lignin, 33% cellulose, 7% polyphenols, 1% N, 0.11% P and 43 of Lignin:N ratio (see Gomes *et al* 2016). Following Gomes *et al.* (2016), the leaves were classified according to the feed preference of the shredder in relation to

leaf hardness, lignin and cellulose concentration and lignin:N ratio in low and high quality for *I. laurina*, and *M. guianensis*, respectively. Both species show large occurrence in riparian vegetation zones throughout the tropical system in Brazil. Subsequently, the conditioned leaves were cut into discs (1.98 cm diameter) and freeze-dried (Terroni, LT-AISI 304 model). Sets of discs were weighed on a precision balance (0.01 mg; Shimadzu, AUW220D model) to determine the initial dry mass and distributed among the treatments. At the end of the experiments, the leaf disks were removed, dried at 60°C for 48 h and subsequently weighed to obtain the final dry weight. The mass leaf loss (MLL) between treatments was calculated by the difference between the initial and final dry mass, after seven days of experiment in both locals.

Experimental design

In the experiment we used 80 containers (Cerrado = 40; Amazonia = 40) with a single *Phylloicus* larvae to avoid interactions between individuals (e.g., aggression and competition) that could interfere in the consumption results. The effect of litter quality was assessed by providing leaf-litter of *M. guianensis* and *I. laurina* in five different ratios (**A** = 100% of *M. guianensis*; **B** = 75% of *M. guianensis* and 25% of *I. laurina*; **C** = 50% of both; **D** = 25% of *M. guianensis* and 75% of *I. laurina*; and **E** = 100% of *I. laurina*) to *Phylloicus* larvae. These five ratios were repeated in two treatments regarding the quantity of organic matter where the first with four leaf disks (**Lower quantity**) and the second with 12 leaf disks (**Higher quantity**) in each container (Figure 1).

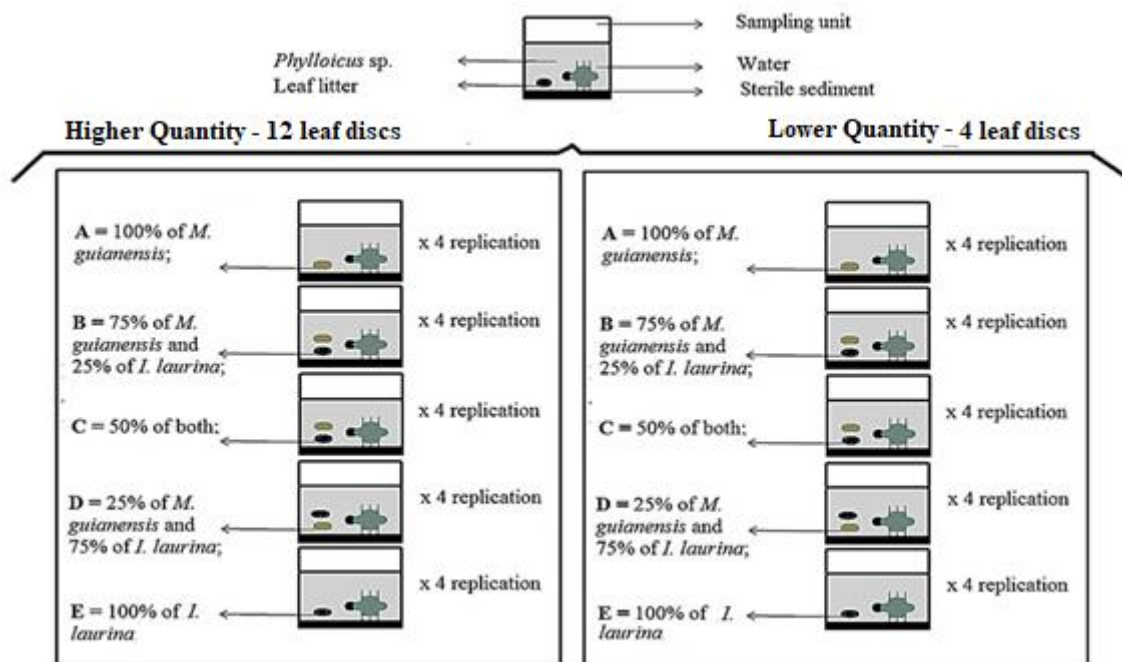


Figure 1. Experimental design performed with 80 containers (Cerrado = 40; Amazonia = 40) to assess the effect of litter quality and quantity on the processing by *Phylloicus* spp. **Quality test** (A = 100% of *Maprounea guianensis*; B = 75% of *M. guianensis* and 25% of *Inga laurina*; C = 50% of both; D = 25% of *M. guianensis* and 75% of *I. laurina*; and E = 100% of *I. laurina*), in a quality gradient to high (A) to low (E). **Quantity test:** these five proportions was repeated for the quantity test, ordered with four leaf disks (**Lower quantity**) and the second with 12 leaf disks (**Higher quantity**) in each container.

Statistical analysis

Through Factorial-ANOVA between biomes resource availability (leaf quantity), litter proportions (leaf quality) and interaction of these factors (independent variables), we tested the percentage of leaf litter used as food resource by *Phylloicus* (dependent variable). The data were transformed whenever necessary with the root sine arc of the ratio to obtain the best fit (Crawley 2007). We used contrast analysis to discriminate among statistically significant categorical variables. In this contrast analysis

(orthogonal), the treatments were ordered (increasingly) and tested pairwise (with the closest values) and sequentially adding to the model treatment values with no differences and testing with the next in a steps model simplification. All analyses were conducted in R (The R Core Team 2019).

RESULTS

The consumption by *Phylloicus* between Cerrado and Amazonia was statistically different ($F_{1,60} = 4.95$; $p = 0.029$), as well leaf-litter proportions ($F_{4,60} = 10.85$ $p < 0.001$), and resource availability ($F_{1,60} = 8.15$; $p = 0.005$). We did not record a significant interaction effect between biomes, leaf-litter proportions and the resource availability on *Phylloicus* spp. consumption (Table 1). In Cerrado, higher consumption was recorded in treatment with lower leaf-litter quantity ($24.0 \pm 2.2\%$ standard error) compared to higher quantity ($15.0\% \pm 1.7$; Figure 2). We recorded higher consumption by *Phylloicus* sp. larvae in treatments with 100% of *M. guianensis* (A; $33.0 \pm 3.7\%$). On the other hand, treatments with 75% of *M. guianensis* (B – $22.0 \pm 3.2\%$), 50% of both, (C – $19.0 \pm 4.2\%$) and 25% of *M. guianensis* (D – $18.0 \pm 3.7\%$) did not differ in the mass loss. The lower consumption was recorded in 100% of *I. laurina* (E; $7.0 \pm 0.8\%$; Figure 2). In Amazonia, we recorded a consumption of $16.9 \pm 4.3\%$ in treatment with lower quantity; and $11.7 \pm 3.5\%$ in higher quantity treatment. Similar to Cerrado experiment, we recorded higher consumption in the treatment with 100% of *M. guianensis* (A – $27.0 \pm 5.5\%$). However, other treatments did not differ statistically among themselves (B – $15.0 \pm 5.5\%$; C – $12.0 \pm 2.3\%$; D – $13.0 \pm 2.4\%$ and E – $5.0 \pm 1.1\%$).

Table 1. Summary results table of comparisons between sites, resource availability (leaf quantity), litter proportions (leaf quality) and interaction of this factors (as a linear regression model) for food resource use by *Phylloicus*, performed at Cerrado and Amazonian systems.

	DF	Sum. Sq.	F value	Pr(>F)
Resource Availability	1	0.089	8.159	0.005
Leaf Litter Proportions	4	0.476	10.854	<0.001
Biomes	1	0.054	4.956	0.029
Availability x Proportions	4	0.035	0.807	0.525
Availability x Biomes	1	0.004	0.385	0.537
Proportions x Biomes	4	0.007	0.166	0.954

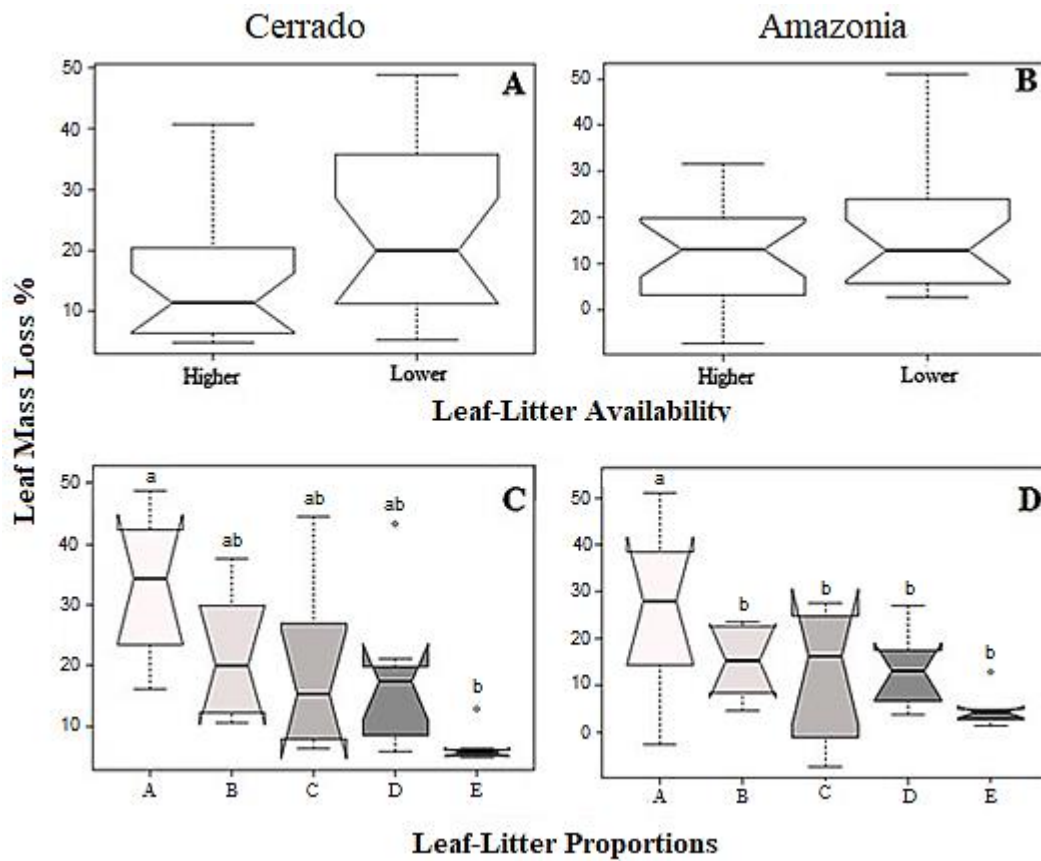


Figure 2. Leaf litter consumption by *Phylloicus* spp. from Cerrado (A and C) and from Amazonia (B and D), performing the Quantity test (A and B) and the Quality test (C and D). Treatments: **A** = 100% of *Maprounia guianensis*; **B** = 75% of *M. guianensis* and 25% of *Inga laurina*; **C** = 50% of both; **D** = 25% of *M. guianensis* and 75% of *I. laurina*; and **E** = 100% of *I. laurina*. Boxes represent the quartiles, the bold line represents the mean, and the vertical dashed line represents the upper and lower limits and circles the outliers. Different letters indicate statistically significant differences ($p < 0.05$)

DISCUSSION

In general, our results indicated that leaf-litter traits were the main factor to explain consumption by *Phylloicus* larvae, supporting our first hypothesis. In both systems, we recorded higher consumption in treatments with only *M. guianensis* leaf-litter. Leaf-litter consumption of *M. guianensis* in Cerrado (33%) and Amazonia (27%) systems were similar to previous study with this plant species in a Cerrado stream (37%; Rezende *et al* 2018). Lower Lignin:N and low hardness explain an accelerated fragmentation by *Phylloicus* (Biasi *et al* 2019). Thus, our results corroborate the knowledge that leaf traits are important for the processing of organic matter (Rezende *et al* 2014, Gonçalves *et al* 2017, Rezende *et al* 2018). Therefore, changes in plant species composition of riparian zones and, consequently, leaf-litter traits may lead to modifications in litter decay, affecting the functioning of Cerrado and Amazonian streams.

The lowest consumption of *I. laurina* leaf-litter differed of treatments only in Cerrado, but not in Amazonian system. This result can be explained due to higher influence of physical and chemical leaf traits on colonization of decomposing organisms in Cerrado systems (Casotti *et al* 2014, Rezende *et al* 2018). Moreover, high content of recalcitrant compounds (ex., lignin and cellulose) in some leaves is common in Cerrado streams (Rezende *et al* 2015). This higher quantity of low-quality litter in Cerrado hinders microbial colonization (Sales *et al* 2015), and as consequence affected invertebrate consumption (Graça *et al* 2015). Furthermore, the low contribution of invertebrate decomposers in tropical streams to leaf-litter breakdown is often related to low leaf quality (Boyero *et al.* 2011, Rezende *et al* 2015). Added the low palatability of this litter species, the low availability of dissolved nutrients limits the litter decomposition in

certain Cerrado streams (Alvim *et al* 2015, Medeiros *et al* 2015). This implies directly in the preference of *Phylloicus* sp. to consume leaf-litter with less structural and secondary compounds and higher nutritional content (Rincón and Martínez 2006; Moretti *et al* 2009, Rezende *et al* 2018). Thus, this may indicate that variations in the composition of allochthonous organic matter have different effects on its processing by *Phylloicus* at Amazonia and Cerrado.

On the other hand, half each leaf proportion has seemed to have an effect of composition of leaf litter mixtures, which may determine breakdown rate (Rezende *et al* 2016, 2017). Different leaf species have different chemical characteristics (Graça *et al* 2015) these interspecific difference could lead to have substantial effects on leaf breakdown rates (López-Rojo *et al* 2018). In a mixture of labile and refractory litter species, shredders focused more on the most labile litter species (Swan and Palmer 2006). However, our results show that different proportional leaves mixture had the same response between themselves but differ to sole leaf litter species. Probably, due to effect of refractory compounds of harder leaf species, equalizing the decay of the entire mixture (Navarro and Gonçalves 2017, López-Rojo *et al* 2018).

The higher litter availability decreased the use of *I. laurina* leaf-litter in microcosm of the Cerrado and Amazonia regions, because *Phylloicus* spp. larvae selected softer leaf-litter proportions in detriment to less palatable litter for feeding. Although *I. laurina* has higher nutritional content than *M. guianensis*, the processing of softer leaf-litter appears to be more cost benefit for *Phylloicus* larvae metabolism (Arias-Real *et al* 2018), corroborating our second hypothesis. In general, we recorded a higher mass loss in treatment with lower quantity compared to higher quantity. The higher quantity of resources may cause a smaller stimulus of resources use to satisfy shredders requirements, according to the concept of order of resource selection (Johnson 1980). Apparently,

Phylloicus presents higher stimulus for leaf consumption when there is a smaller litter quantity. Mainly because a vital component to the consumer may be so abundant that the consumer needs only small amounts of it to satisfy their requirement (Johnson 1980). This may be a behavior during periods of less organic matter production in both biomes (Tonin *et al.*, 2017). The low consumption of both leaf-litter in the Amazonian system may be related to the low quality of them for *Phylloicus* from Amazonia (Martins *et al* 2017a) highlighting the importance of leaf-traits (e.g., C, N and lignin) for the consumption by shredders (Rincon and Martinez 2006, Moretti *et al* 2009) and leaf-litter breakdown process (García-Palacios *et al* 2016). This found reinforces the indication of leaf-traits as the considerable factor for leaf breakdown in Amazonian streams (Gonçalves *et al* 2017, Four *et al* 2019), while the availability of leaf litter does not.

For most containers, mainly *M. guianensis* was used (fragment) in case building *Phylloicus* larvae prefer leaves with low quality for case-building (Rincón and Martinez 2006, Moretti *et al* 2009). *M. guianensis* is not ideal for case building, because it has low concentration of refractory compounds compared to *I. laurina* (Navarro 2014). However, its fragmentation is easier than litter with lower quality and greater hardness (Gonçalves *et al* 2017). In treatment where there was only litter of *I. laurina*, we noted the use of sand from the bottom of the container for case building. This fact could be a response for *I. laurina* toughness, because larvae have more energy cost to fragment *I. laurina* affecting the fragmentation process of leaf litter (Moretti *et al* 2009, Navarro 2014, Biasi *et al* 2019). *I. laurina* traits may have induced *Phylloicus* to use the fine substrate from the bottom of the containers for case construction, instead of using its leaf. Such behavior may have negative effects on the decomposition of organic matter, because reduces its processing.

CONCLUSION

As many others experiments in laboratory, our study synthesizes the natural environment in search of answers that can add to the knowledge about the role of the organic matter breakdown process. To summarize, our results indicated that leaf-traits (as lignin:N content) drives the preference of litter consumption by *Phylloicus* larvae in Cerrado and Amazonia streams. Moreover, we showed how the availability of leaf litter might affect its use by *Phylloicus* in the Cerrado, in opposition to the Amazonian. In this way, it is possible to conclude that different resource availability, tends to be more marked for *Phylloicus* from Cerrado streams. Finally, we suggest that a possible change in plant composition might have a direct effect on the processing of organic matter in tropical streams.

LITERATURE CITED

- Alvim, E. A., Medeiros, A. O., Rezende, R. S., and Gonçalves, J. F. Jr. 2015. Leaf breakdown in a natural open tropical stream. *Journal of Limnology*, Vol 74, N°2.
- Arias-Real, R., Menéndez, M., Abril, M., Oliva, F., & Muñoz, I. 2018. Quality and quantity of leaf litter: Both are important for feeding preferences and growth of an aquatic shredder. *PloS one*, **13**(12).
- Bambi, P., Rezende, R. S., Feio, M. J., Leite, G. F. M., Alvin, E., Quintão, J. M. B., Araújo, F. and Gonçalves, J. F. Jr. 2017. Temporal and spatial patterns in inputs and stock of organic matter in cerrado streams of Central Brazil. *Ecosystems*, **20**, 757-768.
- Becker, C. G., Loyola, R. D., Haddad, C. F. B. and Zamudio, K. R. 2010. Integrating species life-history traits and patterns of deforestation in amphibian conservation planning. *Diversity and Distributions*, **16**, 10-19.
- Biasi, C., Cogo, G. B., Hepp, L. U., and Santos, S. 2019. Shredders prefer soft and fungal-conditioned leaves, regardless of their initial chemical traits. *Iheringia. Série Zoologia*, **109**.
- Boyero, L., Pearson, R. G., Dudgeon, D., Graça, M. A. S., Gessner, M. O., Albariño, R. J., ... & Callisto, M. 2011. Global distribution of a key trophic guild contrasts with common latitudinal diversity patterns. *Ecology*, **92**(9), 1839-1848.
- Bueno, M. L., Pennington, R. T., Dexter, K. G., Kamino, L. H. Y., Pontara, V., Neves, D. R. M., Ratter, J. A. and De Oliveira-Filho, A. T. 2016. Effects of quaternary climatic fluctuations on the distribution of neotropical Cerrado tree species. *Ecography*, **40**, 403-414.
- Casotti, C. G., Kiffer Jr, W. P., and Moretti, M. S. 2014. Leaf traits induce the feeding preference of a shredder of the genus *Triplectides* Kolenati, 1859 (Trichoptera)

- in an Atlantic Forest stream, Brazil: a test with native and exotic leaves. *Aquatic insects*, **36**, 43-52.
- Crawley, M. J. 2007. *The R Book*, John Wiley and Sons Ltd, England.
- Cummins, K. W. and Klug, M. J. 1979. Feeding ecology of stream invertebrates. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **10**, 147-172.
- Esteves, F. D. A., & Gonçalves, J. F. 2011. Etapas do metabolismo aquático. *Fundamentos de limnologia. Interciência, Rio de Janeiro*, 119-124.
- Fearnside, P. M. 2007. Savana onde havia mata. *Revista Página* 22, **8**, 58 - 61.
- Ferreira V, Gonçalves A. L, Godbold D. L., Canhoto C. 2010. Effect of increased atmospheric CO₂ on the performance of an aquatic detritivore through changes in water temperature and litter quality. *Global Change Biology*.; **16**: 3284–3296.
- Ferreira, W. R., Ligeiro, R., Macedo, D. R., Hughes, R. M., Kaufmann, P. R., Oliveira, L. G. and Callisto, M. 2015. Is the diet of a typical shredder related to the physical habitat of headwater streams in the Brazilian Cerrado? *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology*, **51**, 115-127.
- Four, B., Cárdenas, R. E., and Dangles, O. 2019. Traits or habitat? Disentangling predictors of leaf-litter decomposition in Amazonian soils and streams. *Ecosphere*, **10**(4), e02691.
- García-Palacios, P., McKie, B. G., Handa, I. T., Frainer, A., and Hättenschwiler, S. 2016. The importance of litter traits and decomposers for litter decomposition: a comparison of aquatic and terrestrial ecosystems within and across biomes. *Functional Ecology*, **30**, 819-829.
- Gessner, M. O., and Chauvet, E. 1994. Importance of stream microfungi in controlling breakdown rates of leaf litter. *Ecology*, **75**(6), 1807-1817.

- Gessner, M. O., Chauvet, E. and Dobson, M. 1999. A perspective on leaf litter breakdown in streams. *Oikos*, **85**, 377-384.
- Gessner, M.O. 2005. Proximate Lignin and Cellulose. In: Graça, M.A.S.; Bärlocher, F. & Gessner, M.O. (eds), *Methods to Study Litter Decomposition: A Practical Guide*, 115-120. Springer. The Netherlands.
- Gomes, P. P., Medeiros, A. O., and, Gonçalves J. F. Jr. 2016. The replacement of native plants by exotic species may affect the colonization and reproduction of aquatic hyphomycetes. *Limnologica-Ecology and Management of Inland Waters*, **59**, 124-130.
- Gonçalves, J. F. Jr., Couceiro, S. R., Rezende, R. S., Martins, R. T., Ottoni-Boldrini, B. M., Campos, C. M., and Hamada, N. 2017. Factors controlling leaf litter breakdown in Amazonian streams. *Hydrobiologia*, **792**, 195-207.
- Gonçalves Jr, J. F., & Callisto, M. 2013. Organic-matter dynamics in the riparian zone of a tropical headwater stream in Southern Brasil. *Aquatic Botany*, **109**, 8-13.
- Graça, M. A. S. 2001. The role of invertebrates on leaf litter decomposition in streams – a review. *International Review of Hydrobiology*, **86**, 383-393.
- Graça, M. A., and Zimmer, M. 2005. Leaf toughness. In *Methods to Study Litter Decomposition*. 121-125. Springer, Dordrecht.
- Graca, M. A. S. and Poquet, J. M. 2013. Do climate and soil influence phenotypic variability in leaf litter, microbial decomposition and shredder consumption? *Oecologia*, **174**, 1021-1032
- Graça, M. A. S., Ferreira, V., Canhoto, C., Encalada, A. C., Guerrero-Bolaño, F., Wantzen, K. M. and Boyero, L. 2015. A conceptual model of litter breakdown in low order streams. *International Review of Hydrobiology*, **100**, 1-12.

- Graça, M. A. S., Hyde, K. and Chauvet, E. 2016. Aquatic hyphomycetes and litter decomposition in tropical – subtropical low order streams. *Fungal Ecology*, **19**, 182-189.
- Johnson, D. H. 1980. The comparison of usage and availability measurements for evaluating resource preference. *Ecology*, **61**, 65-71.
- Kaspari, M., Donoso, D., Lucas, J. A., Zumbusch, T., and Kay, A. D. 2012. Using nutritional ecology to predict community structure: a field test in Neotropical ants. *Ecosphere*, **3(11)**, 1-15.
- Lecerf, A., G. Risnoveanu, C. Popescu, M. O. Gessner, and E. Chauvet. 2007. Decomposition of diverse litter mixtures in streams. *Ecology* **88**, 219-227.
- Leite, G. F., Silva, F. T. C., Navarro, F. K. S. P., Rezende, R. S., and Gonçalves, J. F. Jr. 2016. Leaf litter input and electrical conductivity may change density of *Phylloicus* sp. (Trichoptera: Calamoceratidae) in a Brazilian savannah stream. *Acta Limnologica Brasiliensia*, **28**, e12.
- López-Rojo, N., Martínez, A., Pérez, J., Basaguren, A., Pozo, J., and Boyero, L. 2018. Leaf traits drive plant diversity effects on litter decomposition and FPOM production in streams. *Plos One*, **13**, e0198243.
- Martins, R. T., Melo, A. S., Gonçalves, J. F., and Hamada, N. 2014. Estimation of dry mass of caddisflies *Phylloicus elektoros* (Trichoptera: Calamoceratidae) in a Central Amazon stream. *Zoologia (Curitiba)*, **31(4)**, 337-342.
- Martins, R. T., Melo, A. S., Gonçalves, J. F. Jr., and Hamada, N. 2015. Leaf-litter breakdown in urban streams of Central Amazonia: direct and indirect effects of physical, chemical, and biological factors. *Freshwater Science*, **34**, 716-726.
- Martins, R. T., Melo, A. S., Gonçalves, J. F., Campos, C. M. and Hamada, N. 2017a. Effects of climate change on leaf breakdown by microorganisms and the

- shredder *Phylloicus elektoros* (Trichoptera: Calamoceratidae). *Hydrobiologia*, **789**, 31–44.
- Martins, R. T., de Souza Rezende, R., Gonçalves, J. F. Jr., Lopes, A., Piedade, M. T. F., de Lima Cavalcante, H., and Hamada, N. 2017b. Effects of increasing temperature and, CO₂ on quality of litter, shredders, and microorganisms in Amazonian aquatic systems. *Plos One*, **12**, e0188791.
- Medeiros, A., Callisto, M., Graça, M., Ferreira, V., and Goncalves, J. F. Jr. 2015. Microbial colonization and litter decomposition in a Cerrado stream is limited by low dissolved nutrient concentration. *Limnetica*, **34**, 283-292.
- Méio, B.B., Freitas, C.V., Jatobá, L., Silva, M.E.F., Ribeiro, J.F. and Henriques, R.P.B. 2003. Influência da flora das florestas Amazônica e Atlântica na vegetação do cerrado *sensu stricto*. *Revista Brasileira Botânica*, **26**, 37-444.
- Moretti, M., Loyola, R., Becker, B. and Callisto, M. 2009. Leaf abundance and phenolic concentrations codetermine the selection of case-building materials by *Phylloicus* sp. (Trichoptera, Calamoceratidae). *Hydrobiologia*, **630**, 199-206.
- Moulton, T. P., Magalhaes-Fraga, S. A. P., Brito, E. F., and Barbosa, F. A. 2010. Macroconsumptionrs are more important than specialist macroinvertebrate shredders in leaf processing in urban forest streams of Rio de Janeiro, Brazil. *Hydrobiologia*, **638**, 55-66.
- Navarro, F. K. S. P., Rezende, R. S., and Gonçalves, J. F. 2013. Experimental assessment of temperature increase and presence of predator carcass changing the response of invertebrate shredders. *Biota Neotropica*, **13**, 28 - 33.
- Navarro, F. K., & Gonçalves Júnior, J. F. 2017. Effect of leaf decomposition stage and water temperature on fragmentation activity of a shredder invertebrate species in lotic ecosystems. *Iheringia. Série Zoologia*, **107**.

- Oliveira-Filho, A. T. and Ratter, J. A. 1994. A study of the origin of central Brazilian forests by the analysis of plant species distribution patterns. *Journal of Botany*, **52**, 141–194.
- Prather, A.L. 2003. Revision of the Neotropical caddisfly genus *Phylloicus* (Trichoptera: Calamoceratidae) *Zootaxa*, **275**, 1-214.
- Rezende, R. S., Petrucio, M. M. and Gonçalves, J. F. Jr. 2014. The Effects of Spatial Scale on Breakdown of Leaves in a Tropical Watershed. *Plos One*, **9**, e97072.
- Rezende, R. D. S., Leite, G. F. M., De-Lima, A. K. S., Silva Filho, L.A. B. D., Chaves, C. V. C., Prette, A. C. H., Freitas, J. S. and Gonçalves, J. F. Jr. 2015. Effects of density and predation risk on leaf litter processing by *Phylloicus* sp. *Austral Ecology*, **40**, 693-700.
- Rezende, R. D. S., Graça, M. A. S., Santos, A. M., Medeiros, A. O., Santos, P. F., Nunes, Y. R. and Gonçalves, J. F. Jr. 2016. Organic matter dynamics in a tropical gallery forest in a grassland landscape. *Biotropica*, **48**, 301-310.
- Rezende, R. S.; Santos, A. M.; Medeiros, A. O.; Gonçalves, J. F. Jr. 2017. Temporal leaf litter breakdown in a tropical riparian forest with an open canopy. *Limnetica*, **36**, 445-459.
- Rezende, R. S., Leite, G. F. M., Ramos, K. Torres, I., Tonin, A. M., Gonçalves, J. F. Jr. 2018. Effects of litter size and quality on processing by decomposers in a Cerrado aquatic system. *Biotropica*, **1**, 1-8.
- Rincón, J., and Martínez, I. 2006. Food quality and feeding preferences of *Phylloicus* sp. (Trichoptera: Calamoceratidae). *Journal of the North American Benthological Society*, **25**, 209-215.

- Sales, M. A., Goncalves, J. F. Jr., Dahora, J. S. and Medeiros, A. O. 2015. Influence of leaf quality in microbial decomposition in a headwater stream in the Brazilian Cerrado: a 1-year study. *Microbial Ecology*, **69**, 84-94.
- Scherrer, S., Lepesqueur, C., Vieira, M. C., Almeida-Neto, M., Dyer, L., Forister, M., and Diniz, I. R. 2016. Seasonal variation in diet breadth of folivorous Lepidoptera in the Brazilian cerrado. *Biotropica*, **48**, 491-498.
- Silverio, D. V., Brando, P. M., Balch, J. K., Putz, F. E., Nepstad, D. C., Oliveira-Santos, C. and Bustamante, M. M. 2013. Testing the Amazon savannization hypothesis: fire effects on invasion of a neotropical forest by native cerrado and exotic pasture grasses. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **368**, 20120427.
- Swan, C. M. and Palmer, M. A. 2006. Composition of species leaf litter alters stream detritivore growth, feeding activity and leaf breakdown. *Oecologia*, 147: 469–478.
- Tank, J. L., Rosi-Marshall, E. J., Griffiths, N. A., Entekin, S. A. and Stephen, M. L. 2010. A review of allochthonous organic matter dynamics and metabolism in streams. *Journal of the North American Benthological Society*, **29**, 118-146.
- Tonin, A. M., Hepp, L. U., Restello, R. M., and Gonçalves, J. F. Jr. 2014. Understanding of colonization and breakdown of leaves by invertebrates in a tropical stream is enhanced by using biomass as well as count data. *Hydrobiologia*, **740**, 79-88.
- Tonin, A. M., Gonçalves, J. F., Bambi, P., Couceiro, S. R., Feitoza, L. A., Fontana, L. E., ... & Lemes-Silva, A. L. 2017. Plant litter dynamics in the forest-stream interface: precipitation is a major control across tropical biomes. *Scientific reports*, **7(1)**, 10799.

- Vannote, R. L., Minshall, G. W., Cummins, K. W., Sedell, J. R. and Cushing, C. E. 1980. River Continuum Concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **37**, 130-137.
- Vidovix, T. D. S., Martins, R. T., Duarte, C. and Pes, A. M. O. 2013. Use of leaves treated with hydrogen peroxide in case-building by *Phylloicus* spp. (Trichoptera: Calamoceratidae). *EntomoBrasilis*, **6**, 39-41.
- Wantzen, K. M. and Wagner, R. 2006. Detritus processing by invertebrate shredders: a neotropical-temperate comparison. *Journal of the North American Benthological Society*, **25**, 216-232.

CAPÍTULO 2

Efeito do enriquecimento nutricional de diferentes detritos foliares no consumo de *Phylloicus* (Trichoptera, Calamoceratidae)

Guilherme Sena, Verónica Ferreira, Renan de Souza Rezende José
Francisco Gonçalves Júnior

Efeito do enriquecimento nutricional de diferentes detritos foliares no consumo de *Phylloicus* (Trichoptera, Calamoceratidae)

Guilherme Sena¹, Verónica Ferreira², Renan de Souza Rezende^{1,3} José Francisco Gonçalves Júnior¹

¹AquaRiparia, Departamento de Ecologia, Universidade de Brasília, Brasília, Brazil;

²MARE – Centro de Ciências do Mar e Ambiente, Departamento de Ciências da Vida, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal;

³Programa de Pós-Graduação em Ciências ambientais, Universidade Comunitária da Região de Chapecó, Chapecó, Brazil.

RESUMO

A decomposição de matéria orgânica em riachos de pequena ordem é um processo ecológico fundamental para sustentação da teia alimentar. As atividades antrópicas podem aumentar a disponibilidade de nutrientes em ambientes aquáticos e posteriormente afetar a decomposição da matéria orgânica por via de alterações na atividade dos organismos que participam na sua decomposição. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do enriquecimento de nitrogênio e fósforo da água sobre diferentes detritos foliares (*Maprounea guianensis* e *Inga laurina*, que têm características físicas e químicas contrastantes) e sua posterior preferência e consumo por *Phylloicus* sp. (um fragmentador típico em riachos de regiões tropicais). Um maior consumo foi registrado em *M. guianensis* comparado a *I. laurina*, devido à menor razão lignina:N de *M. guianensis*, que influencia o comportamento de fragmentação do invertebrado. O enriquecimento não influenciou o consumo de *I. laurina* pelos fragmentadores. A alta concentração de compostos estruturais de *I. laurina* pode levar a um gasto energético maior para a alimentação dos invertebrados. O enriquecimento levou a uma diminuição no consumo de *M. guianensis* com o maior consumo de detrito foliar a ocorrer no tratamento com menor nível de enriquecimento, sugerindo que a eutrofização aquática diminui a atividade de fragmentação por *Phylloicus* sp. Pois o aumento da disponibilidade N e P nos detritos foliares pode exceder o requerimento elementar que as larvas de *Phylloicus* necessitam para desenvolver suas atividades, podendo afetar seu metabolismo e conseqüentemente a atividade fragmentadora. No entanto, não encontramos diferença na preferência das larvas de insetos fragmentadores entre *M. guianensis* e *I. laurina*, indicando que o enriquecimento nutricional induz à homogeneização da qualidade do detrito foliar para as larvas de *Phylloicus* sp. Que pode ter ocorrido devido à um possível aumento da palatabilidade de *I. laurina* após o enriquecimento, alterando a preferência natural de

Phylloicus sp. por folhas de melhor qualidade para o consumo. Dessa forma, nossos resultados evidenciam que o enriquecimento nutricional pode afetar a atividade fragmentadora de detritos foliares por *Phylloicus* spp.

PALAVRAS-CHAVES

Nutrientes; riacho; Cerrado; invertebrado; detritos, decomposição

INTRODUÇÃO

Os riachos de pequena ordem (1^a - 3^a ordem) são ecossistemas fortemente influenciados pela vegetação ripária adjacente (Vannote *et al.*, 1980; Wallace *et al.*, 1997). O dossel da vegetação ripária diminui a luz disponível nesses ecossistemas, o que consequentemente pode levar a uma redução da produtividade primária (Vannote *et al.*, 1980). Desta forma, a principal fonte de energia para esses sistemas advém da entrada de matéria orgânica foliar alóctone (60 - 80% Esteves e Gonçalves, 2011; Bambi *et al.*, 2017) e de sua decomposição (Graça *et al.*, 2015; Rezende *et al.*, 2016). Dentro do riacho, a decomposição foliar é o resultado da lixiviação de compostos solúveis, da abrasão física, da atividade de decompositores microbianos e da fragmentação por macroinvertebrados detritívoros (Gessner *et al.*, 1999; Graça *et al.*, 2015). Durante a decomposição, constituintes químicos (nutrientes) são assimilados ao tecido biológico na forma orgânica, sendo transferidos para níveis tróficos superiores ou remineralizados através da respiração e / ou excreção (Hieber e Gessner, 2002; Cornut *et al.*, 2010).

Os nutrientes são substâncias intrinsecamente relacionadas ao metabolismo aquático, principalmente devido à constituição de importantes moléculas biológicas, que conduzem essencialmente ao funcionamento do ecossistema (Esteves, 2011). Além da decomposição de matéria orgânica, as fontes de entrada natural de nutrientes advêm da deposição atmosférica, o escoamento superficial e subterrâneo após precipitações e erosão de rochas (Allan e Castillo, 2007; Withers e Jarvie, 2008). Entretanto, a intensificação de atividades antrópicas nos últimos séculos, tem aumentado a disponibilidade (enriquecimento) de nutrientes - principalmente nitrogênio (N) e fósforo (P) - em ambientes aquáticos (Steffen *et al.*, 2015), podendo levar à eutrofização (Smith *et al.*, 1999). Esse aumento da disponibilidade de nutrientes pode ocorrer principalmente

devido ao lançamento de efluentes domésticos e industriais não tratados e o uso de fertilizantes agrícolas (Dodds e Smith, 2016).

Essas alterações no ciclo de nutrientes em sistemas aquáticos podem afetar o processo de decomposição de matéria orgânica e serviços ecossistêmicos associados (Ferreira *et al.*, 2015; Manning *et al.*, 2015; Rosemond *et al.*, 2015). O aumento de nutrientes em riachos pode afetar a retenção de carbono (C) e a redução de seu transporte à jusante, levando a um aumento da emissão CO₂ para atmosfera (Rosemond *et al.*, 2015). Em um estudo de larga escala, notou-se que em um gradiente de enriquecimento nutricional, houve uma diminuição na fragmentação em ambos extremos, porém com uma aceleração deste processo com enriquecimento moderado (Woodward *et al.*, 2012). Além disso, o enriquecimento do ecossistema aquático pode alterar a preferência de alimentação de fragmentadores pela diminuição da palatabilidade de detritos foliares (Casotti *et al.*, 2014). Por outro lado, o enriquecimento pode aumentar as contribuições de fungos e invertebrados fragmentadores na decomposição de detritos foliares (Tant *et al.*, 2015), como também afetar apenas os microrganismos associados em detrimento dos invertebrados (Ferreira *et al.*, 2006). Ademais, o efeito do enriquecimento de nutrientes na decomposição depende do tipo e das características dos detritos (Ferreira *et al.*, 2015).

As características dos detritos foliares podem ser descritas como o conjunto de atributos químicos e morfológicos intrínsecos destes detritos, quantificados em termos de palatabilidade, toxicidade e valor nutricional para organismos decompositores (Gessner *et al.*, 1999; Graça *et al.*, 2005; Graça *et al.*, 2015). Características foliares tais como tamanho do detrito (Rezende *et al.* 2018), a dureza foliar (Graça, 2001), as concentrações de lignina (Gessner, 2005), fenólicas (Moretti *et al.*, 2009) e nutricionais (García-Palacio *et al.*, 2016) são fatores que denotam a qualidade do detrito foliar e guiam a decomposição de detritos foliares (Graça *et al.*, 2015; Boyero *et al.*, 2016).

Em muitos sistemas aquáticos, a incorporação da matéria orgânica vegetal em biomassa animal faz-se primeiramente por via do seu consumo por invertebrados fragmentadores (Vannote *et al.*, 1980; Hieber e Gessner, 2002). Os fragmentadores podem ser definidos como invertebrados aquáticos que trituram folhas, galhos e outros tipos de matéria orgânica em sistemas aquáticos (Merritt & Cummins, 1996). As suas atividades podem contribuir em mais de 60% na perda de massa dos detritos foliares (Hieber e Gessner, 2002), aumentando a sua fragmentação (Tonello *et al.*, 2016). Nos trópicos em geral, os fragmentadores podem ocorrer em menor abundância ou até mesmo serem ausentes (Wantzen e Wagner 2006; Boyero *et al.*, 2012), embora sejam abundantes na Austrália (Cheshire *et al.*, 2005). Isso ocorre devido às barreiras geográficas à dispersão (Boyero *et al.*, 2012), temperatura da água (Navarro & Gonçalves, 2017) e / ou características físico-químicas dos detritos (Rincón & Martínez, 2006). No entanto, a importância dos fragmentadores não deve ser avaliada pela sua densidade/abundância, mas pela sua biomassa, onde nos trópicos há uma tendência de maior tamanho corporal (Tonin, *et al.*, 2014). Dentro deste grupo trófico de fragmentadores, o gênero *Phylloicus* Müller, 1880 (Trichoptera: Calamoceratidae) possui ampla distribuição na América Latina (Moretti *et al.*, 2007), sendo o gênero de fragmentador mais encontrado em córregos tropicais e subtropicais (Wantzen e Wagner 2006; Tonello *et al.*, 2016).

As larvas de *Phylloicus* sp. tendem a usar detritos foliares com maior concentração de N e P para alimentação e detritos constituídos com alta porcentagem de lignina e polifenóis para a construção de abrigos de proteção (Rincón & Martínez, 2006; Moretti *et al.*, 2009). Esta atividade fragmentadora está diretamente relacionada ao condicionamento microbiano, que é maior em detritos com maior concentração de N e P, o que torna esses detritos foliares mais palatáveis aos fragmentadores (Bärlocher, 2005).

Além disso, esta atividade pode ser influenciada pela adição de nutrientes à água (Casotti *et al.*, 2014).

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do enriquecimento de N e P na água sobre dois detritos foliares com características iniciais contrastantes e sua posterior preferência e consumo por *Phylloicus* sp. As premissas são: i) *Phylloicus* spp. tem preferência pela alimentação de detritos foliares com maior teor nutricional, enquanto o uso de detrito foliar de baixa qualidade é direcionado para a construção do casulo/abrigo de proteção (Rincon e Martínez, 2006) e ii) a maior disponibilidade de N e P nos sistemas aquáticos influencia na taxa de fragmentação devido ao aumento do condicionamento microbiano (Ferreira *et al.*, 2015). A hipótese do estudo é que: i) os detritos foliares mais enriquecidos são preferencialmente consumidos pelos fragmentadores, em oposição aos detritos menos enriquecidos.

MÉTODOS

Detritos foliares e enriquecimento de água

Folhas secas de duas espécies do cerrado, *Maprounea guianensis* Aubl., e *Inga laurina* (Sw.) Willd. foram colocadas em *litterbags* de malha fina (10 x 15 cm, com 0,5 mm espessura de malha) e incubadas no córrego Cabeça de Veado (15° 53' 22,15" S, 47° 50' 34,10" O) no Jardim Botânico de Brasília durante uma semana para permitir condicionamento por microrganismos aquáticos. Após os sete dias, os *litterbags* foram coletados e em seguida levados ao laboratório em caixas térmicas com gelo.

Em laboratório, as folhas foram lavadas suavemente com água destilada e distribuídas em três recipientes com diferentes concentrações de nitrogênio e fósforo: concentração baixa de NP (solução com 0.10 mgP.L, 1.39 mgN.L), água filtrada do córrego Cabeça de Veado (0.50 mgP.L 1.52 mgN) e concentração alta de NP (solução

com 0.98 mgP.L, 13.86 mgN.L). As soluções foram arejadas continuamente (1,5 L /min) substituídas a cada dois dias. As incubações ocorreram durante uma semana, a uma temperatura constante de 20°C, com foto-período de 12 h de luz, 12h no escuro. Seguindo Gomes *et al.* (2016), as folhas foram classificadas de acordo com a preferência do fragmentador em relação à dureza foliar, a concentração de lignina e celulose e relação lignina:N em baixa e alta qualidade para *I. laurina*, e *M. guianensis*, respectivamente. Após a incubação, discos foliares (12 mm de diâmetro) foram cortados com um cortador de cortiça, liofilizados e armazenados até serem posteriormente utilizados nos experimentos com *Phylloicus* sp.

Análise química dos detritos

Os detritos foliares de todos os tratamentos foram caracterizados antes do experimento utilizando conjuntos de discos de folhas após a incubação nas soluções de nutrientes. A concentração de polifenóis totais foi determinada pelo método de Folin-Ciocalteau (Bärlocher e Graça, 2005). A concentração de lignina foi determinada pelo método gravimétrico (Gessner, 2005).

Para verificar o sucesso do enriquecimento foliar nos tratamentos propostos, um conjunto de discos de cada tratamento foi submetido à quantificação do fósforo total por digestão ácida com ácido clorídrico (Flindt e Lillebø, 2005). Para quantificação de carbono e nitrogênio foi usado o método de combustão total a 950°C de amostras secas em um analisador elementar (modelo Truspec CHN628, Leco Instruments Ltda, São José, Michigan, EUA 2013), que detecta carbono e nitrogênio na forma de CO₂ e N₂, respectivamente, por meio de células infravermelhas e condutividade térmica.

Coleta de *Phylloicus* sp

Os indivíduos de *Phylloicus* spp. foram coletados no Córrego Capetinga (15° 57' 40" S, 47° 56' 33" W), localizado na Fazenda Água Limpa da Universidade de Brasília, Distrito Federal, por meio de busca ativa. Foram coletados indivíduos de instares diferentes, colocados em uma caixa térmica e levados ao laboratório. No Laboratório, os indivíduos coletados foram colocados em um aquário, com água mineral, coberto com sedimento ao fundo, oxigenação constante e com temperatura a 20° C (temperatura média do córrego Capetinga), para aclimatação às condições de laboratório por 48h, antes da realização dos experimentos.

Desenho experimental de consumo

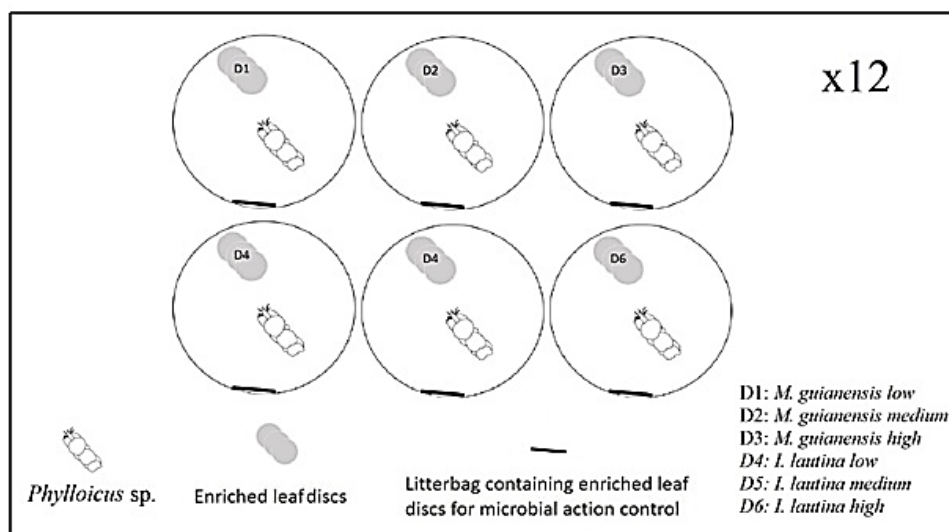


Figure 1. Experimental design of the leaf consumption experiment. 12 recipients were set for each of 6 treatments crossing two Cerrado leaf species differing in physical and chemical characteristics (*Maprounea guianensis* and *Inga laurina*) and three levels of dissolved nitrogen and phosphorus (low, medium and high) (72 recipients in total). Each container received one invertebrate shredder (*Phylloicus* spp.), 3 leaf discs and a control litter bags with leaf discs protected from invertebrate access.

Doze recipientes (dimensões, volume) foram estabelecidos para cada um de seis tratamentos que cruzaram as duas espécies de folhas do Cerrado com características contrastantes (*Maprounea guianensis* e *Inga laurina*) incubadas em soluções de nutrientes com 3 níveis de concentração (baixa, média e alta) (72 recipientes no total): (i) Maprounea-baixa, (ii) Maprounea-média, (iii) Maprounea-alta, (iv) Inga-baixa, (v) Inga-média e (vi) Inga-alta (Figura 1). Cada recipiente recebeu 300 ml de água mineral (Martins *et al.*, 2017) diluída 100x. A água utilizada no experimento apresentou as seguintes características físicas e químicas: condutividade elétrica = 20,38 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-2}$; temperatura = 20°C ; pH = 7,37; sólidos totais dissolvidos = 6,25 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$; turbidez = 0,24 NTU; oxigenação constante = 375ml/min; sódio = 0,017 $\text{mg}\cdot\text{l}$; amônia = 0,007 $\text{mg}\cdot\text{l}$; potássio = 0,148 $\text{mg}\cdot\text{l}$; magnésio = 0,002 $\text{mg}\cdot\text{l}$; cálcio = 0,008 $\text{mg}\cdot\text{l}$; fluoreto = 0,01 $\text{mg}\cdot\text{l}$; cloreto = 0,009 $\text{mg}\cdot\text{l}$; brometo = 0,011 $\text{mg}\cdot\text{l}$; nitrato = 0,017 $\text{mg}\cdot\text{l}$; fosfato = 0,059 $\text{mg}\cdot\text{l}$; sulfato = 0,021 $\text{mg}\cdot\text{l}$. O fundo de cada recipiente foi coberto com sedimento previamente queimado em mufla (550°C) para simular o leito do rio. Apenas um indivíduo de *Phylloicus* spp. foi colocado em cada recipiente, a fim de evitar interações intraespecíficas que pudessem interferir no consumo de *M. guianensis* e *I. Laurina*, com fotoperíodo de 12 h de luz, 12 h no escuro.

Cada recipiente recebeu um fragmentador e três discos de folha previamente pesados (Figura 1). Em cada recipiente foi também pendurado um saco de malha fina (70 x 50 mm; 0,5 mm de abertura de malha) com 3 discos para servirem de controle para a perda de massa por lixiviação e atividade microbiana (Figura 1). Esse experimento durou até aproximadamente 50% da massa inicial de um disco de um dos tratamentos ser consumido. A massa remanescente dos discos expostos e dos discos de controle, assim como indivíduos foram coletados e pesados para determinar a massa final após secagem em estufa (60°C, 72h). O consumo de cada indivíduo foi determinado pela diferença entre

a massa final e inicial dos discos foliares, ajustado com a massa perdida dos discos foliares do controle e a biomassa inicial estimada de cada indivíduo, e expresso em g massa seca/g invertebrado.

Desenho experimental de preferência

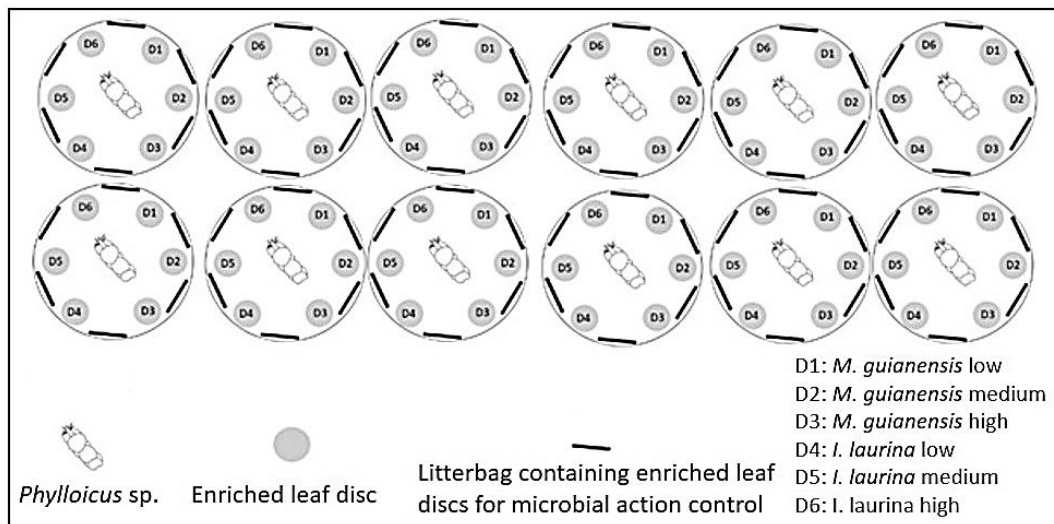


Figure 2. Experimental design of the preference experiment. Each of 12 recipients received one leaf disc of each of 6 treatments crossing two Cerrado leaf species differing in physical and chemical characteristics (*Maprounea guianensis* and *Inga laurina*) and three levels of dissolved nitrogen and phosphorus (low, medium and high) one invertebrate shredder (*Phylloicus* sp.) and six control litter bags (one per litter treatment) with leaf discs protected from invertebrate access.

Semelhante ao experimento de consumo, porém com 12 recipientes com um disco de cada tratamento, previamente pesados, oferecidos juntos, e identificados com pinos coloridos (cada cor corresponde a cada tratamento). Além disso, *litter bags* (70 x 50 mm; 0,5 mm de abertura de malha) com um disco cada dos respectivos tratamentos foi adicionado à parede de cada recipiente, a fim de evitar o uso de *Phylloicus* como controle da perda de massa apenas pela atividade microbiana (Figura 2). O experimento durou até aproximadamente 50% da massa inicial de cada disco consumido. A massa

remanescente dos discos expostos e dos discos de controle, assim como indivíduos foram coletados e pesados para determinar a massa final após secagem em estufa (60°C, 72h). O consumo de cada indivíduo foi determinado pela diferença entre a massa final e inicial dos discos foliares, ajustado com a massa perdida dos discos foliares do controle e a biomassa inicial estimada de cada indivíduo e expresso em g massa seca/g invertebrado.

Análises estatísticas

Testamos a normalidade dos dados e a homogeneidade das variâncias usando os testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene, respectivamente. O efeito da espécie de folha (*Maprounea guianensis* vs. *Inga laurina*), níveis de nutrientes (baixa vs. média vs. alta) e interação destes fatores (variável categórica) no consumo por *Phylloicus* (variável dependente) foi testado através de ANOVA-Fatorial. Usamos a análise de contraste para discriminar entre as variáveis categóricas estatisticamente significativas. Nessa análise de contraste (ortogonal), o tratamento foi ordenado e testado em pares (com os valores mais próximos) e adicionado sequencialmente aos valores de tratamento do modelo sem diferenças e testando com o seguinte na simplificação do modelo (Crawley, 2007). As análises foram realizadas em R (The Core Team, 2013).

RESULTADOS

Experimento de consumo foliar

O consumo entre os detritos foliares de *M. guianensis* e *I. laurina* foi estatisticamente diferente ($F_{1,66} = 6,597$; $p = 0,012$), bem como entre os níveis de enriquecimento ($F_{2,66} = 3,564$; $p = 0,03$). Para *I. laurina*, os níveis de enriquecimento não influenciaram o consumo pelos fragmentadores ($F_{2,33} = 0,772$; $p = 0,470$), mas influenciaram o consumo de *M. guianensis* ($F_{2,33} = 3,538$; $p = 0,0406$). O maior consumo

foi registrado em *M. guianensis* ($M \pm SE: 0,549 \pm 0,085$ g massa seca/g invertebrado) comparado a *I. laurina* ($0,248 \pm 0,088$ g massa seca/g invertebrado; Tabela 1). Registramos maior consumo por larvas de *Phylloicus* sp. no tratamento com a menor concentração de enriquecimento em *M. guianensis* ($0,842 \pm 0,196$ g massa seca/g invertebrado; Figura 3).

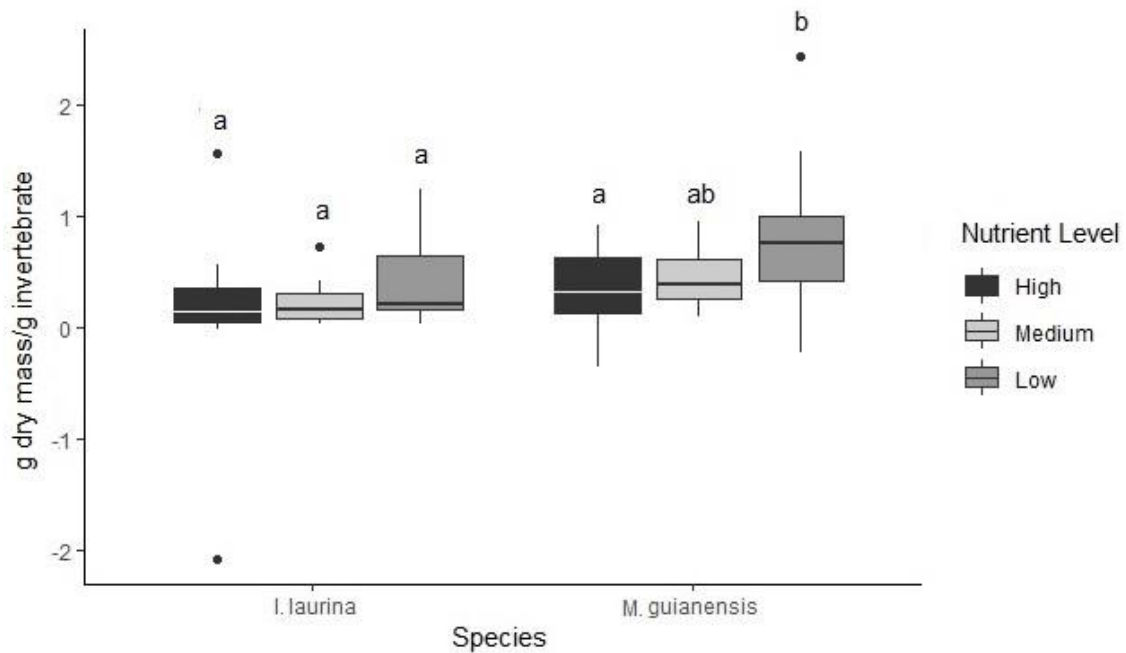


Figure 3. Leaf litter consumption experiment. Consumption of g dry mass/g invertebrate of three enrichment treatments (High, Medium and Low) carried out in leaves of *Inga laurina* and *Maprounea guianensis*. Boxes represent the quartiles, the bold line represents the mean, and the vertical dashed line represents the upper and lower limits and circles the outliers. Different letters indicate statistically significant differences ($p < 0.05$)

Table 1. Consumption of g dry mass/g invertebrate in *M. guianensis* and *I. Laurina* by *Phylloicus* sp. larvae after an enrichment with N and P in different levels (High, Medium and Low) and consumption for each nutriente level for each leaf specie. Values are means \pm SE (n = 3).

Species	g dry mass / g invertebrate	Nutrient Level	g dry mass / g invertebrate
<i>M. guianensis</i>	0.549 \pm 0.085	High	0.345 \pm 0.110
		Medium	0.462 \pm 0.079
		Low	0.842 \pm 0.196
<i>I. Laurina</i>	0.248 \pm 0.088	High	0.132 \pm 0.236
		Medium	0.216 \pm 0.057
		Low	0.397 \pm 0.110

Table 2. Concentration of chemical compounds (% dry weight) and fungal biomass (μ g ergosterol g⁻¹ AFDM) of *M. guianensis* and *I. Laurina* after a enrichment with N and P in different levels (High, Medium and Low). Values are means \pm SE (n = 3).

Species	Nutrient Level	Lignin	Polyphenols	N	P	Lignin:N	Fungal biomass
<i>M. guianensis</i>	High	22.8 \pm 1.2	27.3 \pm 1.6	1.06 \pm 0.01	0.12 \pm 0.03	21.4	101.2 \pm 0.5
	Medium	22.6 \pm 1.2	30.2 \pm 2.1	1.01 \pm 0.03	0.05 \pm 0.01	22.4	104.1 \pm 6.7
	Low	22.2 \pm 1.2	31.8 \pm 2.8	0.89 \pm 0.01	0.04 \pm 0.01	25.5	109.9 \pm 12.6
<i>I. Laurina</i>	High	48.7 \pm 4.6	31.8 \pm 2.8	1.63 \pm 0.07	0.15 \pm 0.01	31.3	43.4 \pm 0.4
	Medium	48.5 \pm 3.5	9.3 \pm 1.4	1.56 \pm 0.01	0.08 \pm 0.08	31.0	38.0 \pm 2.4
	Low	47.3 \pm 2.5	4.9 \pm 0.1	1.51 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01	29.8	32.3 \pm 2.2

Experimento de Preferência

Não registramos diferença estatística na preferência de consumo por fragmentadores entre *M. guianensis* e *I. laurina* ($F_{1,66} = 1,449$; $p = 0,233$; Figure 4) nem entre tratamentos de enriquecimento ($F_{2,66} = 1,381$; $p = 0,258$). Além disso, não registramos um efeito de interação significativo entre as espécies e os níveis de enriquecimento para preferência de consumo *Phylloicus* spp. ($F_{2,66} = 0,647$; $p = 0,527$).

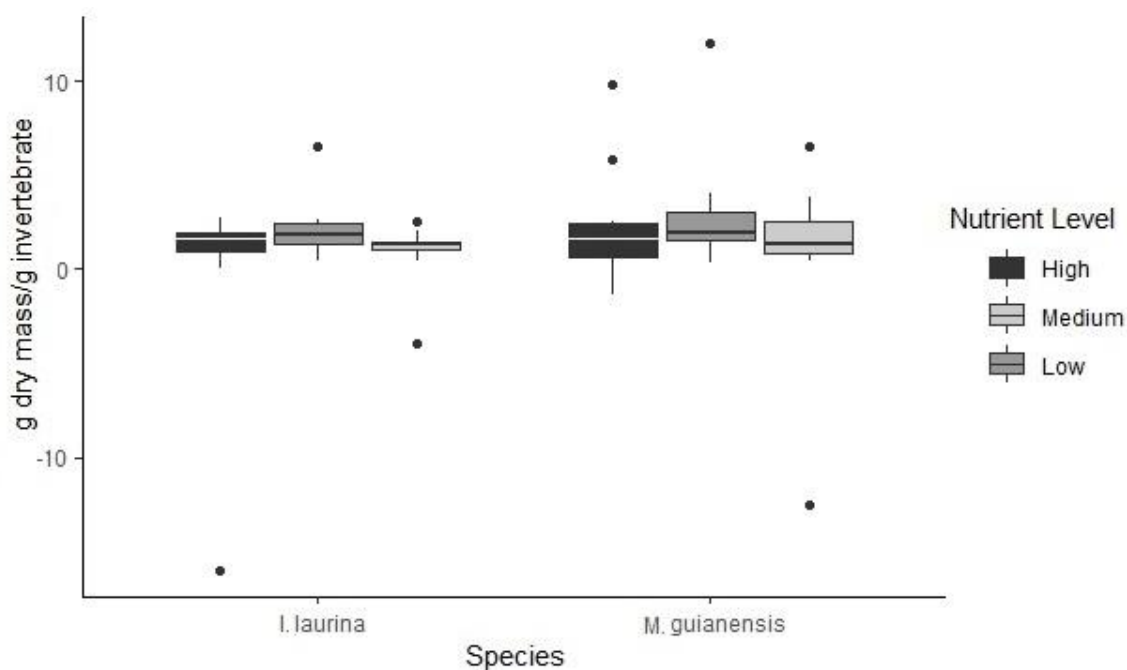


Figure 4. Leaf litter preference experiment. Consumption preference of g dry mass/g invertebrate in *I. laurina* and *M. guianensis* after enrichment with N and P in different levels (High, Medium and Low). Boxes represent the quartiles, the bold line represents the mean, and the vertical dashed line represents the upper and lower limits and circles the outliers.

DISCUSSÃO

O maior consumo de *M. guianensis* pelas larvas de *Phylloicus* spp. pode ser explicado devido à menor razão lignina:N em relação a *I. laurina*, do qual o comportamento de fragmentação de *Phylloicus* sp. é dependente (Navarro, 2014). Este Resultado indicam uma tendência das larvas de *Phylloicus* consumirem mais folhas de *M. guianensis* do que de *I. laurina* (Rezende *et al.*, 2018). Embora os discos foliares de *I. laurina* tenham apresentado maior teor de N e P em relação aos discos foliares de *M. guianensis*, o maior conteúdo de compostos estruturais de *I. laurina* podem ter

influenciado o consumo pelos invertebrados (Navarro, 2014). Estas diferentes características estruturais das folhas também podem estar relacionadas a uma maior biomassa fúngica encontrada em *M. guianensis*. Pois uma alta concentração desses compostos estruturais pode desacelerar a fragmentação foliar (Gessner e Chauvet, 1999; Gonçalves e Graça, 2007), devido ao gasto energético para os fragmentadores (Arias-Real *et al* 2018). Além disso, devido à estas características foliares de *I. laurina*, não houve influência dos tratamentos de enriquecimento no consumo pelos fragmentadores. Este resultado indica que o enriquecimento de N e P não seria capaz de minimizar a dificuldade de processamento da matéria orgânica com alta concentração de compostos estruturais por *Phylloicus* sp.

O tratamento com o menor nível de enriquecimento em *M. guianensis* obteve o maior consumo dos discos foliares dessa espécie. Isto poderia indicar que processo de enriquecimento de nutrientes pode diminuir o consumo de detrito foliar, e conseqüentemente diminuir a taxa de decomposição em riachos (Ferreira *et al*, 2015). Como também pode estar relacionado a uma maior biomassa fúngica encontrada neste tratamento. Além disso, o enriquecimento de N e P no detrito de boa qualidade (menor concentração de compostos estruturais) indicou uma diminuição da atividade fragmentadora de *Phylloicus* sp nos tratamentos mais enriquecidos. A eficiência de assimilação de nutrientes está relacionada a composição elementar do recurso alimentar e da composição elementar corporal do consumidor (Sterner e Elser, 2002; Frost *et al.*, 2005). A sobrecarga de N e P nos detritos foliares pode exceder a exigência elementar que invertebrados fragmentadores necessitam para desenvolver suas atividades (Cross *et al.*, 2005). Assim, o desequilíbrio estequiométrico dos recursos foliares após o enriquecimento pode ter efeito na razão estequiométrica e no metabolismo dos detritívoros (Evans-White e Halvorson, 2017). O que pode levar a um crescimento

corporal mais lento e até mudanças na estrutura da comunidade de macroinvertebrados fragmentadores (Prater *et al.*, 2015).

No presente estudo, o enriquecimento nutricional resultou em uma ausência de preferência de consumo foliar pelos invertebrados fragmentadores (Figura 4). *Inga laurina*, o detrito foliar de menor qualidade teve a preferência de consumo igualado ao de *M. guianensis* depois do enriquecimento com N e P. Entretanto, estudos prévios demonstraram que *Phylloicus* sp. possuem uma preferência alimentar por detritos foliares de melhor qualidade e de menos compostos recalcitrantes (Rincón e Martinez, 2006; Moretti *et al.*, 2007; 2009). Este resultado encontrado demonstra que o enriquecimento do detrito nem sempre resulta em um aumento de consumo, levando à uma homogeneização de recursos alimentares para os invertebrados fragmentadores. Pois, o enriquecimento pode ter alterado a palatabilidade de *I. laurina* (Casotti *et al.*, 2014), modificando a tendência de *Phylloicus* spp. preferir folhas de melhor qualidade para o consumo (Rincón e Martinez, 2006). Este resultado pode levar à alteração no fluxo de energia e na ciclagem de nutrientes nos ecossistemas lóticos (Frost *et al.*, 2002).

CONCLUSÃO

O desenvolvimento humano e nossas atividades impactantes na natureza a partir do século XIX aumentaram a eutrofização de corpos d'água no mundo todo. Nosso trabalho demonstrou como o enriquecimento nutricional em água pode causar um efeito negativo na fragmentação de larvas *Phylloicus* sp. Este resultado encontrado, indicou o efeito potencial da eutrofização na decomposição foliar em riachos do Cerrado. Assim, é possível evidenciar que enriquecimento de N e P pode afetar o processamento de matéria orgânica nos riachos do Cerrado.

LITERATURA CITADA

- Allan, J.D., Castillo, M.M., 2007. Stream ecology: structure and function of running waters. Springer Science & Business Media.
- Arias-Real, R., Menéndez, M., Abril, M., Oliva, F., & Muñoz, I. 2018. Quality and quantity of leaf litter: Both are important for feeding preferences and growth of an aquatic shredder. *PloS one*, **13**(12).
- Bambi, P., de Souza Rezende, R., Feio, M.J., Leite, G.F.M., Alvin, E., Quintão, J.M.B., Araújo, F., Gonçalves Júnior, J.F., 2017. Temporal and Spatial Patterns in Inputs and Stock of Organic Matter in Savannah Streams of Central Brazil. *Ecosystems*.
- Bärlocher, F., Graça, M.A.S., 2005. Total phenolics. In: Graça, M.A.S., Bärlocher, F., Gessner, M.O. (Eds.), *Methods to Study Litter Decomposition. A Practical Guide*. Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 97–100.
- Bärlocher, F. 2005. Leaf mass loss estimated by litter bag technique. In *Methods to study litter decomposition* 37-42. Springer, Dordrecht.
- Biasi, C., Graça, M. A., Santos, S., & Ferreira, V. 2017. Nutrient enrichment in water more than in leaves affects aquatic microbial litter processing. *Oecologia*, *184*(2), 555-568.
- Boyero L., Pearson R. G., Dudgeon D. *et al.* 2012. Global patterns of stream detritivore distribution: implications for biodiversity loss in changing climates. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 21, 134–41.
- Casotti, C. G., Kiffer Jr, W. P., & Moretti, M. S. 2014. Leaf traits induce the feeding preference of a shredder of the genus Triplectides Kolenati, 1859 (Trichoptera) in an Atlantic Forest stream, Brazil: a test with native and exotic leaves. *Aquatic insects*, *36*(1), 43-52.

- Cheshire, K. I. M., Boyero, L. U. Z., & Pearson, R. G. 2005. Food webs in tropical Australian streams: shredders are not scarce. *Freshwater biology*, 50(5), 748-769.
- Cornut, J., Elger, A., Lambrigt, D., Marmonier, P., & Chauvet, E. 2010. Early stages of leaf decomposition are mediated by aquatic fungi in the hyporheic zone of woodland streams. *Freshwater Biology*, 55(12), 2541-2556.
- Cross, W.F., Benstead, J.P., Frost, P.C., Thomas, S.A., 2005. Ecological stoichiometry in freshwater benthic systems: recent progress and perspectives. *Freshw. Biol.* 50, 1895–1912.
- Dobson, M., A. Magana, J. M. Mathooko & F. K. Ndegwa. 2002. Detritivores in Kenyan highland streams: more evidence for the paucity of shredders in the tropics? *Freshwater Biology*, 47: 909–919.
- Dodds, W. K., & Smith, V. H. 2016. Nitrogen, phosphorus, and eutrophication in streams. *Inland Waters*, 6(2), 155-164.
- Esteves, F. D. A. 2011. *Fundamentos de limnologia* N° 504.45 FUN.
- Esteves, F. de A., & J. F. Gonçalves Jr. 2011. Etapas do metabolismo aquático. *In: Fundamentos de limnologia. Interciência, Rio de Janeiro* 119-124.
- Evans-White M.A., Halvorson H.M. 2017. Comparing the Ecological Stoichiometry in Green and Brown Food Webs—A Review and Meta-analysis of Freshwater Food Webs. *Front Microbiol*: 8:1184.
- Ferreira, V., Gulis, V., & Graça, M. A. S. 2006. Whole-stream nitrate addition affects litter decomposition and associated fungi but not invertebrates. *Oecologia*, 149. 718–729.
- Ferreira, V., Castagnyrol, B., Koricheva, J., Gulis, V., Chauvet, E., & Graça, M. A. 2015. A meta-analysis of the effects of nutrient enrichment on litter decomposition in streams. *Biological Reviews*, 90(3), 669-688.

- Fleituch, T. 2013. Effects of nutrient enrichment and activity of invertebrate shredders on leaf litter breakdown in low order streams. *Internat. Rev. Hydrobiol.*, 98: 191–198.
- Flindt, M R. & Lillebø A. I. 2005. Determination of Total Nitrogen and Phosphorus in Leaf Litter In: Graça, M.A.S.; Bärlocher, F. & Gessner, M.O. (eds), *Methods to Study Litter Decomposition: A Practical Guide*, 115-120. Springer. The Netherlands.
- Frost, P. C., Stelzer, R. S., Lamberti, G. A., & Elser, J. J. 2002. Ecological stoichiometry of trophic interactions in the benthos: understanding the role of C: N: P ratios in lentic and lotic habitats. *Journal of the North American Benthological Society*, 21(4), 515-528.
- Frost, P.C., Cross, W.F., Benstead, J.P., 2005. Ecological stoichiometry in freshwater benthic ecosystems: an introduction. *Freshw. Biol.* 50, 1781–1785.
- Gessner, M.O., Chauvet, E., Dobson, M., 1999. A perspective on leaf litter breakdown in streams. *Oikos* 85, 377–384.
- Gessner, M.O. 2005. Proximate Lignin and Cellulose. In: Graça, M.A.S.; Bärlocher, F. & Gessner, M.O. (eds), *Methods to Study Litter Decomposition: A Practical Guide*, 115-120. Springer. The Netherlands.
- Gomes, P. P., Ferreira, V., Tonin, A. M., Medeiros, A. O., & Júnior, J. F. G. 2017. Combined Effects of Dissolved Nutrients and Oxygen on Plant Litter Decomposition and Associated Fungal Communities. *Microbial ecology*, 1-9.
- Gonçalves Jr, J. F., Graça, M. A. S., & Callisto, M. 2007. Litter decomposition in a Cerrado savannah stream is retarded by leaf toughness, low dissolved nutrients and a low density of shredders. *Freshwater Biology*, 52(8), 1440-1451.

- Gonçalves, J..F.; Callisto, M. 2013. Organic-matter dynamics in the riparian zone of a tropical headwater stream in Southern Brasil. *Aquatic Botany*, v.109, n.1, p.8-13.
- Graça, M. A. 2001. The role of invertebrates on leaf litter decomposition in streams—a review. *International Review of Hydrobiology*, 86(4-5), 383-393.
- Graça, M. A., and Zimmer, M. 2005. Leaf toughness. In *Methods to Study Litter Decomposition*. 121-125. Springer, Dordrecht.
- Graça, M. A., Ferreira, V., Canhoto, C., Encalada, A. C., Guerrero-Bolaño, F., Wantzen, K. M., & Boyero, L. 2015. A conceptual model of litter breakdown in low order streams. *International Review of Hydrobiology*, 100(1), 1-12.
- Hieber, M., & Gessner, M. O. 2002. Contribution of stream detritivores, fungi, and bacteria to leaf breakdown based on biomass estimates. *Ecology*, 83(4), 1026-1038.
- Manning, D. W., Rosemond, A. D., Kominoski, J. S., Gulis, V., Benstead, J. P., & Maerz, J. C. 2015. Detrital stoichiometry as a critical nexus for the effects of streamwater nutrients on leaf litter breakdown rates. *Ecology*, 96(8), 2214-2224.
- Merritt, RW. & Cummins KW., 1996. An introduction to the aquatic insects of North America. 3th ed. Dubuque, Iowa: Kendall/Hunt Publishing Company, 361 p.
- Moretti, M., J. F. Gonçalves, and M. Callisto. 2007. Leaf breakdown in two tropical streams: differences between single and mixed species packs. *Limnologica* 37: 250–258.
- Moretti, M.S., Loyola, R.D., Becker, B., and Callisto, M. 2009, Leaf Abundance and Phenolic Concentrations codetermine the Selection of Case-Building Materials by *Phylloicus* sp. (Tri- choptera, Calamoceratidae), *Hydrobiologia*, 630, 199?206.

- Navarro, F.K.S.P., Rezende, R.d.S., Goncalves Junior, J.F., 2013. Experimental assessment of temperature increase and presence of predator carcass changing the response of invertebrate shredders. *Biota Neotropica* 13, 28-33.
- Navarro, F.K.S. 2014. Avaliação experimental do efeito do controle Top-Down e Bottom-Up sobre a cadeia de detritos em ambiente aquático. Brasília: Universidade de Brasília, 122 p. Tese de Doutorado.
- Navarro, F. K., & Gonçalves Júnior, J. F. 2017. Effect of leaf decomposition stage and water temperature on fragmentation activity of a shredder invertebrate species in lotic ecosystems. *Iheringia. Série Zoologia*, 107.
- Prater, C., Norman, E. J., & Evans-White, M. A. 2015. Relationships among nutrient enrichment, detritus quality and quantity, and large-bodied shredding insect community structure. *Hydrobiologia*, 753(1), 219-232.
- Rezende, R.d.S., Graça, S., Manuel, A., Santos, A.M., Medeiros, A.O., Santos, P.F., Nunes, Y.R., Gonçalves Júnior, J.F., 2016. Organic Matter Dynamics in a Tropical Gallery Forest in a Grassland Landscape. *Biotropica*.
- Rincón, J. and Martínez, I. 2006. Food quality and feeding preferences of *Phylloicus* sp. (Trichoptera: Calamoceratidae). *Journal of the North American Benthological Society* 25:209-215.
- Rosemond, A. D., Benstead, J. P., Bumpers, P. M., Gulis, V., Kominoski, J. S., Manning, D. W., ... & Wallace, J. B. 2015. Experimental nutrient additions accelerate terrestrial carbon loss from stream ecosystems. *Science*, **347**(6226), 1142-1145.
- Sturner, R.W. & Elser, J.J. 2002. *Ecological Stoichiometry: The Biology of Elements from Molecules to the Biosphere*. Princeton University Press, Princeton, NJ, p. 439.

- Steffen, W., Richardson, K., Rockström, J., Cornell, S. E., Fetzer, I., Bennett, E. M., ... & Folke, C. 2015. Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet. *Science*, 347(6223), 1259855.
- Smith, M., Kay, W., Edward, D., Papas, P., Richardson, K.S.J., Simpson, J., Pinder, A., Cale, D., Horwitz, P., Davis, J., 1999. AusRivAS: using macroinvertebrates to assess ecological condition of rivers in Western Australia. *Freshwater Biology* 41, 269-282.
- Tant, C. J., Amy D. Rosemond, Ashley M. Helton, and Matthew R. First, 2015. "Nutrient enrichment alters the magnitude and timing of fungal, bacterial, and detritivore contributions to litter breakdown," *Freshwater Science* 34, no. 4
- Tonello G, Naziloski LA, Tonin AM, Restello RM, Hepp LU. 2016. Effect of *Phylloicus* on leaf breakdown in a subtropical stream. *Limnetica* 35:243–52.
- Tonin, A. M., Hepp, L. U., Restello, R. M., & Gonçalves, J. F. 2014. Understanding of colonization and breakdown of leaves by invertebrates in a tropical stream is enhanced by using biomass as well as count data. *Hydrobiologia*, 740(1), 79-88.
- Vannote, R.L.; G.W. Minshall; K.W. Cummins; J.R. Sedell & C.E. Cushing. 1980. The River Continuum Concept. *Canadian Journal Of Fisheries And Aquatic Science* 37: 130-137
- Wallace, J. B., Eggert, S. L., Meyer, J. L., & Webster, J. R. 1997. Multiple trophic levels of a forest stream linked to terrestrial litter inputs. *Science*, 277(5322), 102-104.
- Wantzen, K. M. & R. Wagner. 2006. Detritus processing by invertebrate shredders: a neotropical-temperate comparison. *Journal of North American*
- Withers, P. J. A., & Jarvie, H. P. 2008. Delivery and cycling of phosphorus in rivers: a review. *Science of the total environment*, 400(1-3), 379-395.

Woodward, G., Gessner, M. O., Giller, P. S., Gulis, V., Hladyz, S., Lecerf, A., ... & Dobson, M. 2012. Continental-scale effects of nutrient pollution on stream ecosystem functioning. *Science*, 336(6087), 1438-1440.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

No Capítulo 1, o principal resultado obtido foi que as características foliares determinam a preferência do consumo de detritos foliares pelas larvas de *Phylloicus* sp. tanto em riachos do Cerrado quanto os da Amazônia. Além disso, pôde-se verificar como a disponibilidade de recursos, advindas de mudanças sazonais na entrada de matéria orgânica, tendem a ser mais marcantes em riachos do Cerrado. Finalmente, o estudo realizado neste capítulo demonstra que uma possível mudança na composição das plantas pode ter um efeito direto sobre o funcionamento dos ecossistemas lóticos desses biomas.

No Capítulo 2, como resposta do enriquecimento nutricional realizado nos detritos foliares foi verificado a tendência no consumo do detrito de melhor qualidade pelo invertebrado. Porém houve um baixo consumo nos tratamentos mais enriquecidos, demonstrando que o enriquecimento de N e P em ecossistemas lóticos pode afetar a atividade de invertebrados fragmentadores. Ademais, no segundo experimento realizado neste capítulo, não houve preferência alimentar quando os detritos enriquecidos foram ofertados, o que pode levar a ter consequências no fluxo elementar nos ambientes lóticos. Assim, foi possível concluir que o enriquecimento de N e P pode afetar o processamento de matéria orgânica por larvas de *Phylloicus* sp.

Este estudo indicou a necessidade de (i) avaliar como as características das plantas localizadas em zonas ripárias afetam a qualidade, a quantidade de detritos foliares e o posterior processamento, em ambientes lóticos de outros biomas brasileiros; (ii) compreender como a composição da comunidade de macroinvertebrados bentônicos relaciona-se com a razão estequiométrica de detritos foliares disponíveis nos leitos dos riachos tropicais; (iii) aprofundar os estudos sobre como diversos impactos antrópicos (urbanos, rurais e industriais) sobre os corpos hídricos podem alterar a razão

estequiométrica e afetar o processamento de matéria orgânica por macroinvertebrados bentônicos em riachos tropicais.