

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE
AMBIENTES AQUÁTICOS CONTINENTAIS

FERNANDO MIRANDA LANSAC-TOHA

**Conectividade hidrológica determinando a estrutura da metacomunidade
de protozoários flagelados planctônicos em um sistema rio-planície de
inundação Neotropical**

Maringá
2015

FERNANDO MIRANDA LANSAC-TOHA

Conectividade hidrológica determinando a estrutura da metacomunidade de protozoários flagelados planctônicos em um sistema rio-planície de inundação Neotropical

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Área de concentração: Ciências Ambientais

Orientador: Dr. Luiz Felipe Machado Velho

Maringá
2015

"Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)"
(Biblioteca Setorial - UEM. Nupélia, Maringá, PR, Brasil)

L294c

Lansac-Toha, Fernando Miranda, 1990-

Conectividade hidrológica determinando a estrutura da metacomunidade de protozoários flagelados planctônicos em um sistema rio-planície de inundação Neotropical / Fernando Miranda Lansac-Toha. -- Maringá, 2015.
43 f. : il.

Dissertação (mestrado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais)--
Universidade Estadual de Maringá, Dep. de Biologia, 2015.

Orientador: Dr. Luiz Felipe Machado Velho.

1. Protozoa (Zoomastigophorea) "flagelados" - Metacomunidades - Dispersão - Planície de inundação - Alto rio Paraná. 2. Protozoários flagelados planctônicos - Conectividade hidrológica. I. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Biologia. Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais.

CDD 23. ed. -579.42178209816
NBR/CIP - 12899 AACR/2

FERNANDO MIRANDA LANSAC-TOHA

**Conectividade hidrológica determinando a estrutura da metacomunidade
de protozoários flagelados planctônicos em um sistema rio-planície de
inundação Neotropical**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Dr. Luiz Felipe Machado Velho
Nupélia/Universidade Estadual de Maringá (UEM) (Presidente)

Dr.^a Juliana Déo Dias
PEA/Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Prof.^a Dr.^a Geziele Mucio Alves
Faculdade Ingá (Uningá)

Aprovado em: 11 de agosto de 2015

Local de defesa: Anfiteatro Prof. “Keshiyu Nakatani”, Nupélia, Bloco G-90, *campus* da Universidade Estadual de Maringá.

Dedico este trabalho aos meus pais, Fábio e Iris, familiares e amigos, pessoas especiais que fizeram a diferença em mais essa etapa de minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao meu pai, pelo infinito apoio, ensinamentos e por toda ajuda na elaboração desse trabalho

À toda minha família, por sempre me apoiarem e acreditarem em mim

Ao meu orientador Luiz Felipe Machado Velho (Fê) pela orientação, incentivo e confiança depositada em mim durante todos esses anos, que me acolheu em seu laboratório desde o primeiro ano da graduação e é um exemplo tanto de pessoa como de profissional

À minha namorada Bianca pela exaustiva ajuda, paciência, compreensão e carinho

À Bia Trevizan (Biazona) pela grande amizade e por toda ajuda prestada nesse trabalho

Ao pessoal do laboratório (Biazinha, Biazona, Paulão, Orlando, Gisa, Helô e Riane) por todo companheirismo e os infinitos momentos divertidos que passamos juntos, além de todo auxílio prestado

Ao Paulão, Orlandinho, Biazinha, Herick e Matheus por toda ajuda nas coletas de dados, onde passaram perrengues, principalmente nas lagoas isoladas

Aos amigos da turma PEA 2013 parceiros desde as disciplinas às cachaaças da vida.

Às meninas Claudinha, Susi e Luzia, pela amizade e apoio e por sempre me receberem de braços abertos no laboratório de zooplâncton e fitoplâncton

À Dani Petsch, Lou e Ju Dias, por sempre estarem disponíveis para tirar dúvidas e todas as sugestões feitas para elaboração desse trabalho

Ao Tião e Alfredo por todo suporte prestado nas coletas, que muitas vezes foi bem complicada. Ao Celsão e Seu Ní, por proporcionarem viagens tão agradáveis sempre com bom humor

Ao Programa de Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais (PEA-UEM), pela oportunidade de participar de um curso renomado, onde encontrei tanta alegria ao integrá-lo

Aos professores do PEA, pelos conselhos e conhecimentos transmitidos

Aos amigos do Nupélia (cujos nomes ocupariam muito espaço e não foram especificados pra não ter o risco de alguém ser esquecido)

À todas as pessoas, que ajudaram direta ou indiretamente na realização deste trabalho, tornando-o possível

À Aldenir, Jocemara, Salete e João, pela paciência e disposição

À CAPES e ao CNPq, pela bolsa concedida e pelo financiamento do projeto de pesquisa.

Conectividade hidrológica determinando a estrutura da metacomunidade de protozoários flagelados planctônicos em um sistema rio-planície de inundação Neotropical

RESUMO

Os padrões de distribuição das espécies são normalmente regulados por uma combinação de fatores abióticos, interações bióticas e processos de dispersão. Em ambientes aquáticos, o potencial de dispersão dos organismos está diretamente relacionado com a conectividade hidrológica entre os *habitats*. Foram estudados três tipos de ambientes que compõem o sistema rio-planície de inundação do alto rio Paraná, que se diferem exatamente no que diz respeito à conectividade entre os *habitats* (ambientes lóticos, lagoas conectadas ao rio principal e lagoas isoladas). Investigou-se o papel relativo das variáveis ambientais e espaciais na estruturação da metacomunidade de protozoários flagelados heterotróficos se depende do grau de conectividade hidrológica, prevendo que as comunidades em lagoas isoladas seriam mais limitadas por dispersão, ao passo que os ambientes lóticos e lagoas conectadas seriam reguladas principalmente por fatores ambientais, ou seja, *species sorting*. O estudo foi conduzido na região pelágica de 23 ambientes durante o período de águas baixas, quando os *habitats* da várzea encontram-se mais isolados, no ano de 2014. Investigou-se em que medida a metacomunidade foi estruturada por diferentes mecanismos de montagem utilizando a análise de partição de variância e foram avaliadas ainda as mudanças na diversidade beta e heterogeneidade ambiental em todos os tipos de ambiente. A grande contribuição das variáveis ambientais para a estruturação da metacomunidade dos flagelados heterotróficos, registrada neste estudo, independente do nível de conectividade hidrológica, está certamente relacionada com a elevada capacidade de dispersão desses microrganismos. No entanto, embora em menor grau, as variáveis espaciais também foram significativas para a estruturação da metacomunidade nas lagoas isoladas. Estes resultados confirmam que as metacomunidades de microrganismos são predominantemente estruturadas por fatores ambientais, mesmo ao longo de ambientes com distintos níveis de conectividade.

Palavras-Chave: Heterogeneidade ambiental. Dispersão. *Species sorting*. Limitação de Dispersão. Lagoas. Ambientes lóticos.

Hydrological connectivity determining metacommunity structure of planktonic heterotrophic flagellates

ABSTRACT

Species distribution patterns are regulated by a combination of abiotic factors, biotic interactions and dispersal processes. In aquatic environments, the dispersal potential of the organisms is directly related to the hydrological connectivity among habitats. In this study, we approach three types of environments of the Upper Paraná River-floodplain system, which differ in their degree of connectivity: lotic environments, connected lakes and isolated lakes. We aimed to investigate if the relative role of the environmental and spatial components in structuring the heterotrophic flagellates depends on the degree of hydrological connectivity. We expect that communities in isolated lakes would be more subject to dispersal limitation, while in connected lakes and lotic environments the communities would be regulated mainly by environmental variables (species sorting). We sampled in the planktonic region of 23 environments during the low water period in 2014. We determined the relative importance of the assembly mechanisms using variance partitioning and evaluated changes in beta diversity and environmental heterogeneity in each type of environment. The greater contribution of the environmental variables in structuring the heterotrophic flagellates metacommunity, regardless of the hydrological connectivity, may be related to the elevated dispersal capacity of those microorganisms. The spatial component was also significant, however only in the isolated lakes, a species sorting mechanism partially constrained by dispersal limitation. In summary, our results support the idea that microorganism communities are mainly structured by environmental factors, even considering environments with distinct connectivity degree.

Keywords: Environmental heterogeneity. Dispersal. Species sorting. Limiting dispersal. Lakes. Lotic.

Dissertação elaborada e formatada de acordo com as normas da revista *Hydrobiologia*. Disponível em:

http://www.springer.com/life+sciences/ecology/journal/10750?detailsPage=pltc_i_911058

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	MÉTODOS.....	14
2.1	ÁREA DE ESTUDO.....	14
2.2	AMOSTRAGEM.....	16
2.3	ANÁLISE LABORATORIAL.....	16
2.4	ANÁLISE DE DADOS	17
3	RESULTADOS.....	19
4	DISCUSSÃO	25
5	CONCLUSÃO	32
	REFERÊNCIAS.....	34
	APÊNDICE A - Média, mínimo (Min) e máximo (Max) valores... ..	42
	APÊNDICE B - Mapas interativos que representam as variáveis espaciais... ..	42

1 INTRODUÇÃO

Compreender os padrões de distribuição das espécies e os mecanismos que regulam a estrutura das comunidades biológicas são objetivos fundamentais em estudos ecológicos (Heino et al., 2015a; Souffreau et al., 2015). A variação na composição de espécies entre *habitats* (diversidade beta) normalmente é regulada por uma combinação de fatores abióticos, interações bióticas e processos de dispersão (Anderson et al., 2006), cuja importância relativa pode diferir espacial e temporalmente. Assim, o papel dos processos ambientais e espaciais que operam em múltiplas escalas para moldar a composição de uma comunidade local é explícito no âmbito da metacomunidade (Leibold et al., 2004; Cottenie, 2005; Meynard et al., 2013).

Uma metacomunidade é definida como “um conjunto de comunidades locais ligadas por dispersão de espécies que potencialmente interagem entre si” (Leibold et al., 2004). Sua dinâmica pode ser explicada por quatro paradigmas teóricos. Na perspectiva *Neutral* a montagem da comunidade é estocástica e regulamentada por eventos aleatórios de dispersão, colonização, especiação e extinção, que operam entre espécies funcionalmente equivalentes (Hubbell, 2001). A perspectiva de *Patch-dynamic* assume que a limitação de dispersão explica os padrões de estrutura da comunidade, sendo esta um resultado da dinâmica de extinção e colonização entre *habitats* homogêneos. Por outro lado, na perspectiva *Species sorting* os diferentes *habitats* formam um gradiente de heterogeneidade ambiental, onde em taxas intermediárias de dispersão ocorre um controle ambiental baseado nas diferenças de nicho entre as espécies. Por fim, no caso da perspectiva de *Mass effects*, os possíveis efeitos das condições ambientais são superados pelas elevadas taxas de dispersão, de modo que espécies pouco adaptadas podem persistir em ambientes desfavoráveis devido a frequente pressão de propágulos. No entanto, recentemente alguns autores têm defendido a ideia de simplificar essas perspectivas, a fim de avaliar a organização das metacomunidades somente pelos efeitos ambientais e de dispersão (Winegardner et al., 2012; Heino et al., 2015a), sugerindo que *patch-dynamic* e *mass effects* são casos especiais de *species sorting*, com efeitos limitantes e homogeneizadores da dispersão, respectivamente (Winegardner et al., 2012).

Ambientes aquáticos são considerados adequados para abordar questões relacionadas com a organização de metacomunidades (Heino et al., 2015b). Nesses ambientes, o potencial

de dispersão dos organismos está diretamente relacionado com a conectividade hidrológica entre os *habitats* (Padial et al., 2014). Com altos níveis de conectividade ocorre um aumento na semelhança das condições ambientais entre os ambientes (Lopes et al., 2014; Bozelli et al., 2015) e, além disso, facilita o intercâmbio de organismos através de dispersão passiva, aumentando a semelhança na composição de espécies da metacomunidade (Nabout et al., 2009; Warfe et al., 2013).

Em planícies de inundação, mais especificamente, a conectividade é essencialmente influenciada por seu regime hidrológico. As inundações tendem a reduzir a variabilidade espacial de fatores biológicos e ambientais, a chamada “hipótese da homogeneização” (Thomaz et al., 2007). De acordo com esta hipótese, durante o período de águas baixas, quando os *habitats* aquáticos da planície estão mais isolados uns dos outros e desligados do canal principal do rio, fatores locais, como as flutuações de recursos, competição e alterações dos aspectos limnológicos, agem com diferentes intensidades em cada tipo de ambiente, criando *habitats* com diferentes características.

Portanto, em tais sistemas este período propicia um sistema modelo para avaliar de que maneira a conectividade afeta a organização das metacomunidades aquáticas. Neste estudo, foram categorizados três tipos de ambientes que compõem a planície de inundação do alto rio Paraná, que se diferem exatamente no que diz respeito à conectividade (ambientes lóticos, lagoas conectadas ao rio principal e lagoas isoladas).

Pode-se prever que as taxas de dispersão entre as localidades são maiores nos ambientes lóticos, com menores valores nas lagoas conectadas e isoladas, respectivamente (Shurin et al., 2009; Heino et al., 2015a). Assim, muitos estudos realizados em ambientes lóticos têm evidenciado que o controle ambiental (*species sorting*) é o principal regulador das comunidades (Astorga et al., 2012; Göthe et al., 2013), mas também o paradigma *mass effect* pode ser importante quando as taxas de dispersão superam a força dos filtros ambientais (Milesi & Melo, 2014). Por outro lado, em lagoas, a organização das metacomunidades é mais atribuível às influências combinadas da limitação de dispersão e *species sorting* (Olden et al., 2001; Heino et al., 2015a), sendo que este último ocorre preferencialmente em lagoas constantemente conectadas, ao passo que a limitação de dispersão deve ser mais importante para as metacomunidades ecológicas que vivem em lagoas isoladas (De Bie et al., 2012; Warfe et al., 2013). No entanto, a validade dessas previsões deve depender da capacidade de

dispersão de organismos, escalas espaciais e tipos de sistemas investigados (Van der Gucht et al., 2007; Declerck et al., 2011; Lindstrom & Langenheder, 2012).

Em ecossistemas de água doce a capacidade de dispersão é geralmente inversamente relacionada ao tamanho do corpo (Soininen et al., 2011; De Bie et al., 2012; Padial et al., 2014). Por exemplo, comparados com organismos de grande porte, os microrganismos, tais como bactérias e protozoários, possuem elevadas densidades populacionais, que os tornam menos propensos a eventos de extinção local (Blackburn et al., 1999) e permite a produção de um maior número de propágulos, aumentando seu potencial para eventos de dispersão (Fenchel & Finlay, 2004; Martiny et al., 2006). Portanto, a visão predominante de que a distribuição geográfica das metacomunidades de microrganismos não é afetada pela limitação de dispersão condiz com a teoria de que “*Everything is everywhere, but, the environment selects*” (Finlay, 2002). De fato, muitos estudos mostraram que o mecanismo de *species sorting* é o principal responsável pela estruturação destas comunidades (Langenheder et al., 2012; Souffreau et al., 2015). No entanto, outros trabalhos constataram que as comunidades microbianas são, até certo grau, limitadas por dispersão em grandes escalas espaciais (Van der Gucht et al., 2007; Declerck et al., 2013) e em *habitats* que apresentam condições extremas (Edwards et al., 1999).

Assim, assumindo um papel predominante do mecanismo de *species sorting* na montagem das metacomunidades microbianas, a dissimilaridade na composição entre os ambientes deve aumentar com o incremento da heterogeneidade ambiental (Lopes et al., 2014; Bozelli et al., 2015). De acordo com a “hipótese da heterogeneidade do ambiente” (MacArthur & Wilson, 1967), condições ambientais mais heterogêneas fornecem um maior número de nichos e variedade de recursos alimentares, diminuindo a exclusão competitiva e, assim, proporcionando a coexistência de espécies (Cardinale, 2011). Além disso, níveis elevados de heterogeneidade ambiental promovem uma maior variação na composição das espécies em diferentes *habitats* dentro de uma região (Leibold et al., 2004; Anderson et al., 2006; Heino et al., 2015b). Contudo, quando as espécies são limitadas por dispersão entre os ambientes, as variações nas condições ambientais deixam de ter importância, e o que irá governar a montagem das metacomunidades será a capacidade de uma determinada espécie em dispersar entre as localidades (Heino et al., 2015a). Neste caso, a limitação de dispersão é quem irá promover as variações na metacomunidade.

Dentre os microrganismos aquáticos, os protozoários flagelados heterotróficos (HF) são reconhecidos como importantes componentes das comunidades planctônicas, pois possuem várias ligações tróficas, são muito abundantes (Finlay et al., 1988) e desempenham um papel significativo na teia alimentar microbiana (Azam et al., 1983). Suas principais fontes de recursos são as bactérias (Simek & Chrzanowski, 1992; Sanders et al., 1992; Fermani et al., 2014; Segovia et al., 2014), podendo ser os principais consumidores de biomassa bacteriana em muitos ecossistemas de água doce e marinhos (Patterson & Larsen, 1991), mas cada vez mais vem sendo reconhecida também a importância do picofitoplâncton na dieta desses microrganismos (Callieri et al., 2002; Tarbe et al., 2011; Sarmento, 2012). Portanto, apesar do relevante papel ecológico dos HF, pouco se sabe sobre os papéis relativos dos componentes ambientais e espaciais para a estruturação de sua metacomunidade.

Assim, este estudo objetivou investigar as alterações da heterogeneidade ambiental e diversidade beta em ambientes com distintas conectividades hidrológicas, bem como avaliar as diferenças nos mecanismos de montagem da metacomunidade de flagelados heterotróficos, em um sistema rio-planície de inundação. Desta forma foi predito que (i) as lagoas isoladas serão mais heterogêneas em suas condições ambientais, cujos valores decairão gradativamente com o aumento da conectividade, ou seja, nas lagoas conectadas e nos ambientes lóticos, respectivamente (Fig. 1). Em relação aos mecanismos de montagem da metacomunidade, foi previsto que (ii) as lagoas isoladas serão mais fortemente influenciadas pela limitação de dispersão, devido à ausência de conectividade, já nas lagoas conectadas, com taxas intermediárias de dispersão, espera-se que a comunidade seja estruturada pelas condições ambientais (*species sorting*), enquanto que nos ambientes lóticos, as elevadas taxas de dispersão farão da perspectiva *mass effect* o principal estruturador da comunidade (Fig. 1). Assim, pode-se supor ainda que (iii) a diversidade beta será maior nas lagoas isoladas e conectadas, acompanhando a limitação de dispersão e *species sorting*, respectivamente, enquanto que menores valores serão registrados nos ambientes lóticos devido às altas taxas de dispersão e maior homogeneização da comunidade.

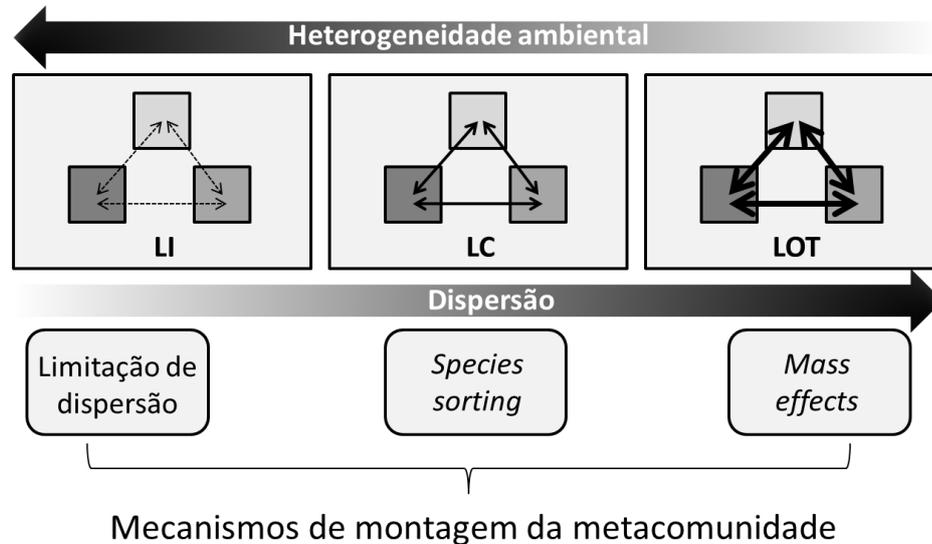


Fig. 1. Ilustração das principais hipóteses esperadas neste estudo. Os quadrados em escalas de cinza representam os distintos *habitats* em cada tipo de ambiente com diferentes graus de conectividade. As setas mais grossas representam uma maior dispersão, setas finas representam dispersão intermediária e setas pontilhadas representam dispersão limitada. LI= lagoas isoladas; LC= lagoas conectadas e LOT= ambientes lóticos.

2 MÉTODOS

2.1 ÁREA DE ESTUDO

O projeto foi realizado no terço inferior da planície de inundação do alto rio Paraná (22°40' - 22°50' S e 53°10' - 53°40' O), que estabelece os limites entre os estados do Paraná e do Mato Grosso do Sul, situado dentro de uma unidade de conservação chamada "APA das Ilhas e Várzeas do Rio Paraná" e que se constitui no último trecho não represado em território brasileiro, localizado entre os reservatórios de Porto Primavera (SP) e Itaipu (PR) (Fig. 2A). Esse trecho é uma área de grande importância ecológica, pois contém grande heterogeneidade de *habitats* (Thomaz et al., 2007) e alta biodiversidade de organismos aquáticos e terrestres (Agostinho et al., 2004). Embora o rio Paraná seja bastante regulado por inúmeras hidroelétricas a montante, um regime hidrológico caracterizado por uma estação de águas baixas e uma de águas altas é ainda evidenciado na área de estudo. As amostragens foram realizadas no período de águas baixas, no mês de setembro de 2014, no qual os ambientes se encontram mais isolados, favorecendo o aumento da dissimilaridade entre os *habitats* ao longo de toda planície (Thomaz et al., 2007).

Foram estudados 23 *habitats* com diferentes graus de conectividades, classificados em três tipos de ambientes (LOT: ambientes lóticos, incluindo rios e canais com fluxo permanente (Fig. 2A, B e C); LC: lagoas conectadas ao rio principal (Fig. 2A e B); LI: lagoas isoladas, sem vias de conectividade hidrológica no período de águas baixas (Fig. 2A e C)). Estes diferentes tipos de ambientes propiciam um mosaico ambiental, diferindo-se no que diz respeito às características físicas, químicas e biológicas (para mais detalhes, ver Apêndice 1 – Materiais suplementares).

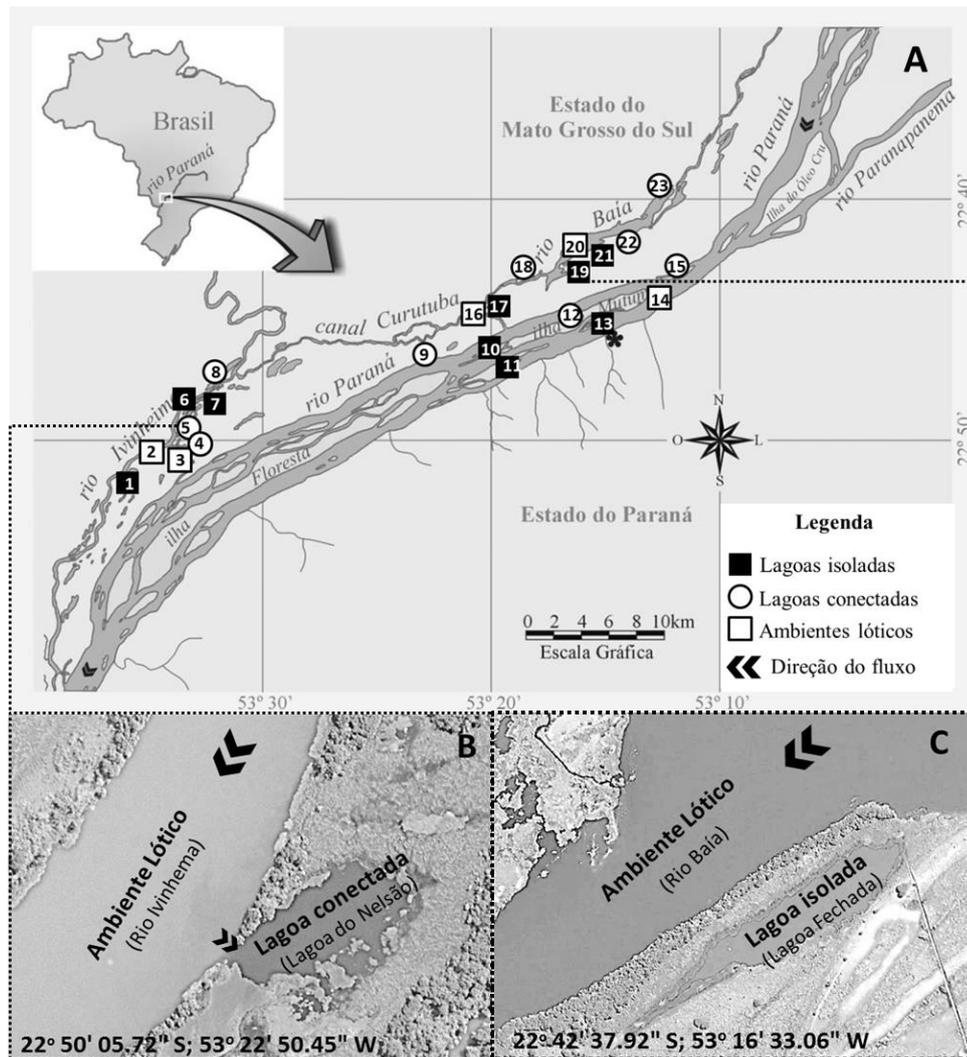


Fig. 2. Mapa da planície de inundação do alto rio Paraná com a localização das estações de amostragem. Os símbolos diferenciam os ambientes com distintos graus de conectividade (A). Ilustração exemplificando uma lagoa conectada ao rio principal (B) e ilustração exemplificando uma lagoa isolada próxima ao rio principal (C).

2.2 AMOSTRAGEM

A comunidade de protozoários flagelados heterotróficos foi amostrada com auxílio de frascos plásticos de polietileno de 5 litros à subsuperfície da região limnética (10-20 cm abaixo da interface água-ar) de cada ambiente. Para reduzir o efeito da distribuição irregular dos indivíduos na coluna de água, foram tomadas amostras compostas a partir de 5 sub amostragens em diferentes pontos, que foram combinadas, totalizando 5 litros.

A fim de estimar a densidade dos principais recursos alimentares dos HF, amostras de bactérias heterotróficas (HB) e picofitoplâncton (PPP) foram obtidas. Para tal, 4 mL de água foram coletados e fixados com formaldeído a 1% de concentração final, congelados em nitrogênio líquido e posteriormente armazenados em freezer à -80 °C.

Uma matriz de dados limnológicos foi obtida a fim de caracterizar os ambientes amostrados, constituída pela temperatura da água (°C), concentração de oxigênio dissolvido (mg/L), pH, condutividade elétrica da água ($\mu\text{S}/\text{cm}$), turbidez (NTU) que foram medidas com equipamento portátil (modelo HORIBA U-21) e profundidade (cm), utilizando um disco de secchi.

2.3 ANÁLISE LABORATORIAL

Para investigar a composição de espécies de HF, foram realizadas identificações *in vivo* (Gasol, 1993; Arndt et al., 2000; Jeuck & Arndt, 2013). Este método é viável para detectar as principais características morfológicas e comportamentais até mesmo dos HF que apresentam tamanhos muito reduzidos (menores que 5 μm), em contraste com amostras fixadas, onde ocorrem alterações nos caracteres morfológicos dos indivíduos (Jeuck & Arndt, 2013).

Os HF foram analisados em até 5 horas após a amostragem, através de lâminas cobertas com lamínulas que continham 10 μL de amostra não diluída. As observações foram realizadas com o auxílio de um microscópio óptico comum (Olympus BX51), utilizando-se o sistema de contraste de interferência diferencial (DIC), em aumento de 400x e/ou 1000x. Esse sistema de contraste é indispensável para analisar a posição e o movimento dos flagelos,

presença de lorica, além de estruturas internas como o aparelho de ingestão e os vacúolos contráteis, que são fundamentais na identificação morfológica dos distintos grupos taxonômicos (Jeuck & Arndt, 2013). O microscópio é equipado, ainda, com uma câmera de vídeo, com o sistema de análise de imagem *Optcam* (câmera modelo OPT10.0MP), que permite a digitalização e a captura de vídeos AVI, que facilitam a identificação mais precisa dos HF. A identificação das espécies foi baseada em um guia de flagelados heterotróficos de água doce que utiliza a morfologia de organismos vivos, proposto por Jeuck & Arndt (2013). Além deste guia, foram utilizadas ainda outras bibliografias especializadas.

O número de células de HB e PPP foram obtidos por citometria de fluxo (Citômetro modelo FACSCalibur), seguindo a metodologia proposta por Gasol et al. (1999). Para contagem de HB, uma alíquota 200 μL da amostra foi descongelada e corada com SYTO-13 (Molecular Probes Inc., Eugene, OR, EUA) em concentração final de 2,5 $\mu\text{mol.L}^{-1}$. Em baixa velocidade de fluxo as bactérias foram detectados em um sinal de dispersão de luz em 90° (SSC) *versus* luz de fluorescência verde (FL1). Já em relação ao PPP, foi utilizada a mesma metodologia, entretanto, devido à presença de pigmentação, não é necessária a utilização de corantes, sendo esta pigmentação detectada através de luz de fluorescência verde (FL1) *versus* luz de fluorescência vermelha (FL3).

2.4 ANÁLISE DE DADOS

A fim de estimar as diferenças de heterogeneidade ambiental e diversidade beta (Predição i e iii) foi realizado um teste de Dispersão Permutacional Multivariado (PERMIDISP, Anderson et al. 2006) entre cada tipo de ambiente estudado (lagoas isoladas, lagoas conectadas e ambientes lóticos). Esse teste é baseado na distância entre as variáveis e o seu grupo centroide. Neste estudo, a heterogeneidade ambiental foi definida a partir das distâncias euclidianas padronizadas das variáveis ambientais (temperatura da água, concentração de oxigênio dissolvido, pH, condutividade elétrica da água, turbidez e profundidade) e dos recursos alimentares (bactérias heterotróficas e picofitoplâncton). Para o cálculo da diversidade beta, uma matriz biológica com dados de presença e ausência da comunidade de HF foi transformada em uma matriz de distância baseada na transformação de Jaccard.

Usando as matrizes de distância derivadas dos conjuntos de dados ambientais e biológicos, foi calculado o centroide dos grupos definidos a “priori” (tipos de ambientes) através de uma Análise de Coordenadas Principais (PCoA; Legendre & Legendre, 1998). Assim, quanto maior for a distância média dos pontos de amostragem para o seu grupo centroide, mais elevada será a heterogeneidade ambiental e a variação na estrutura da comunidade (diversidade beta). Finalmente, a fim de estimar diferenças estatísticas ($p < 0,05$), a PERMIDISP usa uma ANOVA através de 999 permutações. Testes a “posteriori” foram realizados após a detecção de diferenças significativas no teste de Dispersão Permutacional Multivariado.

Para estimar o papel relativo dos preditores ambientais e espaciais na estrutura da metacomunidade de HF (Predição ii), foi realizada uma análise de redundância parcial (pRDA) separadamente para cada tipo de ambiente. A variação da estrutura da metacomunidade de HF foi decomposta em um componente puramente espacial (E), um componente puramente ambiental (A), um componente explicado pelas variáveis ambientais e espaciais em conjunto ($A \cap E$) e a variação inexplicada restante (R). A magnitude de um componente ambiental significativo pode ser utilizada como um indicador conservador para o grau em que a variação comunidade está estruturada de forma única pelo ambiente (*species sorting*, Cottenie, 2005). Ao contrário, se os fatores espaciais são exclusivamente significativos, é um indicativo de que a variação espacial é impulsionada por processos de limitação de dispersão ou *mass effects* (Legendre & Legendre, 1998; Heino et al. 2015a).

A matriz de presença e ausência dos HF foi submetida à transformação de Hellinger (Peres-Neto et al., 2006), pois este é um método adequado para matrizes que apresentam muitos zeros (Legendre & Gallagher, 2001). As variáveis espaciais foram derivadas de uma matriz de coordenadas geográficas, submetida ao método PCNM (“*Principal Coordinates of Neighbor Matrices*”) no qual os eixos (autovetores) foram usados como variáveis explicativas espaciais (Borcard & Legendre, 2002). Os parâmetros ambientais que foram incluídos na análise são os mesmos utilizados no cálculo da heterogeneidade ambiental descritos acima, contudo todos os dados foram logaritimizados, com exceção do pH. Ambos os fatores espaciais e ambientais foram submetidos a um processo de seleção (*step forward*) para identificar as principais variáveis relacionadas aos HF a serem incluídas na análise (Blanchet et al., 2008). Os resultados analisados foram os valores de R^2 ajustado e os componentes

foram considerados significantes quando $p < 0,05$. Estas análises foram realizadas com o pacote *Vegan* do software R.

3 RESULTADOS

Composição e riqueza de espécies da comunidade de flagelados heterotróficos

Neste estudo foram registradas 49 espécies de HF, pertencentes a 14 ordens, dentre as quais euglenídeos (19 espécies) e coanoflagelídeos (7 espécies) foram as mais especiosas, sendo o primeiro mais importante para os ambientes lênticos e o segundo para os ambientes lóticos (Tabela 1).

Dentre as espécies registradas, 25 ocorreram em todos os ambientes, 10 espécies ocorreram somente em ambos ambientes lênticos (lagoas isoladas e conectadas), sendo que 7 espécies foram exclusivas de lagoas isoladas, somente 3 espécies ocorreram exclusivamente em lagoas conectadas e 4 apenas em ambientes lóticos (Tabela 1).

Tabela 1. Lista de espécies encontradas em cada tipo de ambiente. LI= lagoas isoladas; LC= lagoas conectadas.

Espécies	Lênticos		Lóticos
	LI	LC	
ANCYROMONADIDA			
<i>Ancyromonas sigmoides</i> Kent, 1880	*	*	*
APUSOMONADIDA			
<i>Amastigomonas debruynei</i> de Saedeleer, 1931		*	
<i>Apusomonas sp1</i>	*	*	
<i>Apusomonas sp2</i>	*		
BICOSOECIDA			
<i>Bicosoeca conica</i> Lemmermann, 1914			*
<i>Bicosoeca lacustris</i> James-Clark, 1867	*	*	*
<i>Bicosoeca planctonica</i> Kisselev, 1931			*
CERCOMONADIDA			
<i>Cercomonas sp1</i>	*	*	*
<i>Cercomonas sp2</i>	*	*	
CHOANOFLAGELIDA			
<i>Codonosiga botrytis</i> (Ehrenberg, 1838) Kent, 1880	*	*	*
<i>Diplosiga socialis</i> Frenzel, 1892			*
<i>Monosiga sp.</i>	*	*	*
<i>Monosiga ovata</i> Kent, 1880	*	*	*
<i>Salpingoeca amphoridium</i> James-Clark, 1868	*	*	*
<i>Salpingoeca urceolata</i> Kent, 1880			*
<i>Salpingoeca variabilis</i> Skuja, 1956	*	*	*

CHRYSOMONADIDA			
<i>Spumella sp.</i>	*	*	*
<i>Paraphysomonas sp.</i>	*	*	*
COLLODICTYONIDA			
<i>Collodictyon triciliatum</i> Carter 1865	*	*	*
CRYOMONADIDA			
<i>Protaspis simplex</i> Vørs, 1992	*	*	
CRYPTOPHYCEA			
<i>Chilomonas paramecium</i> Ehrenberg, 1832	*	*	*
<i>Goniomonas truncata</i> (Fresenius, 1858) Stein, 1887	*	*	*
EUGLENIDA			
<i>Anisonema acinus</i> Dujardin, 1841	*	*	*
<i>Astasia granulata</i> Pringsheim, 1942	*	*	
<i>Cyclidiopsis acus</i> Korchikow, 1917	*		
<i>Entosiphon sulcatum</i> (Dujardin, 1841) Stein, 1878	*	*	*
<i>Entosiphon sp.</i>	*	*	
<i>Heteronema acus</i> (Ehrenberg, 1840) Stein, 1878	*		
<i>Jenningsia fusiforme</i> (Larsen, 1987) Lee & Patterson, 1999	*		
<i>Menoidium obtusum</i> Pringsheim, 1942	*		
<i>Notosolenus apocampatus</i> Stokes, 1884	*		
<i>Notosolenus ostium</i> Larsen & Patterson, 1990	*	*	
<i>Peranema inflexum</i> Skuja, 1939	*	*	
<i>Peranema trichophorum</i> (Ehrenberg, 1838) Stein, 1859	*	*	*
<i>Petalomonas mediocanellata</i> Stein, 1878	*	*	
<i>Petalomonas minuta</i> Hollande, 1942	*	*	*
<i>Petalomonas platyrhyncha</i> Skuja 1948	*		
<i>Petalomona pusilla</i> Skuja 1948	*	*	
<i>Ploeotia obliqua</i> (Klebs, 1893)	*	*	*
<i>Urceolus cornutus</i> Larsen and Patterson, 1990	*	*	
<i>Rhabdomonas mirabilis</i> Playfair, 1921		*	
GLISSOMONADIDA			
<i>Allantion tachyploon</i> Sandon, 1924	*	*	*
KATHABLEPHARIDA			
<i>Kathablepharis ovalis</i> Skuja, 1948		*	
KINETOPLASTIDA			
<i>Parabodo caudatum</i> (Dujardin, 1841) Moreira, López-García et Vickerman, 2004	*	*	*
<i>Bodo saltans</i> Ehrenberg, 1832	*	*	*
<i>Neobodo designis</i> (Skuja, 1948) Moreira, López-García et Vickerman, 2004	*	*	*
<i>Neobodo saliens</i> (Larsen and Patterson, 1990) Moreira, López-García et Vickerman, 2004	*	*	*
<i>Rhynchomonas nasuta</i> (Stokes, 1888) Klebs, 1892	*	*	*
METROMONADIDA			
<i>Metromonas simplex</i> (Griessmann, 1913) Larsen and Patterson, 1990	*	*	*

A diversidade α (riqueza de espécies por amostra) diferiu significativamente entre os ambientes lênticos e lóticos (ANOVA one-way, $p= 0,01$), com maiores valores nas lagoas isoladas e conectadas em comparação com os ambientes lóticos (teste de Tukey HSD, $p= 0,0001$ e $p= 0,003$, respectivamente) (Fig. 3).

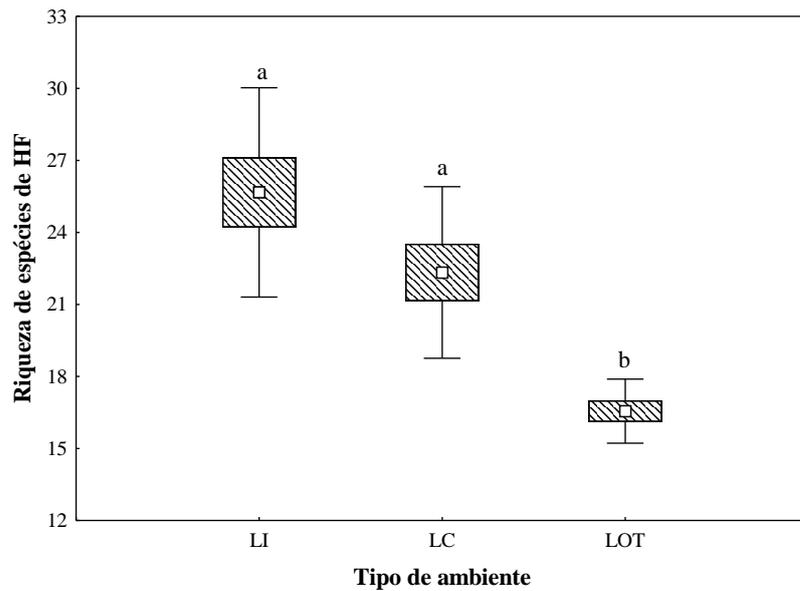


Fig. 3. Diversidade α nos diferentes tipos de ambiente. Lagoas Isoladas (LI, n= 9), lagoas conectadas (LC, n= 9), ambientes lóticos (LOT, n= 5). Caixas representam \pm erro padrão, as barras representam \pm desvio padrão. Códigos em letras representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os ambientes.

Variações da heterogeneidade ambiental e diversidade Beta

Os resultados obtidos para o conjunto de variáveis ambientais (características limnológicas e recursos alimentares) que foram utilizadas neste estudo, com o intuito de inferir sobre a heterogeneidade ambiental em ambientes com distintas conectividades, estão sintetizadas na figura 4. De maneira geral, as variáveis mostraram um nítido gradiente, onde as maiores diferenças são observadas entre as lagoas isoladas e ambientes lóticos, enquanto que as lagoas conectadas apresentam características intermediárias entre ambos (Fig. 4). Especificamente, os coeficientes da correlação de Pearson entre o primeiro eixo derivado da PCoA e as variáveis originais indicam aumento significativo na temperatura da água ($p = 0,01$; $r = 0,65$) e profundidade ($p = 0,00$; $r = 0,7718$) em direção aos ambientes lóticos. Por outro lado, para turbidez ($p = 0,016$; $r = -0,4962$) e densidade de PPP ($p = 0,043$; $r = -0,4247$), as correlações negativas indicam maiores valores dessas variáveis nas lagoas isoladas.

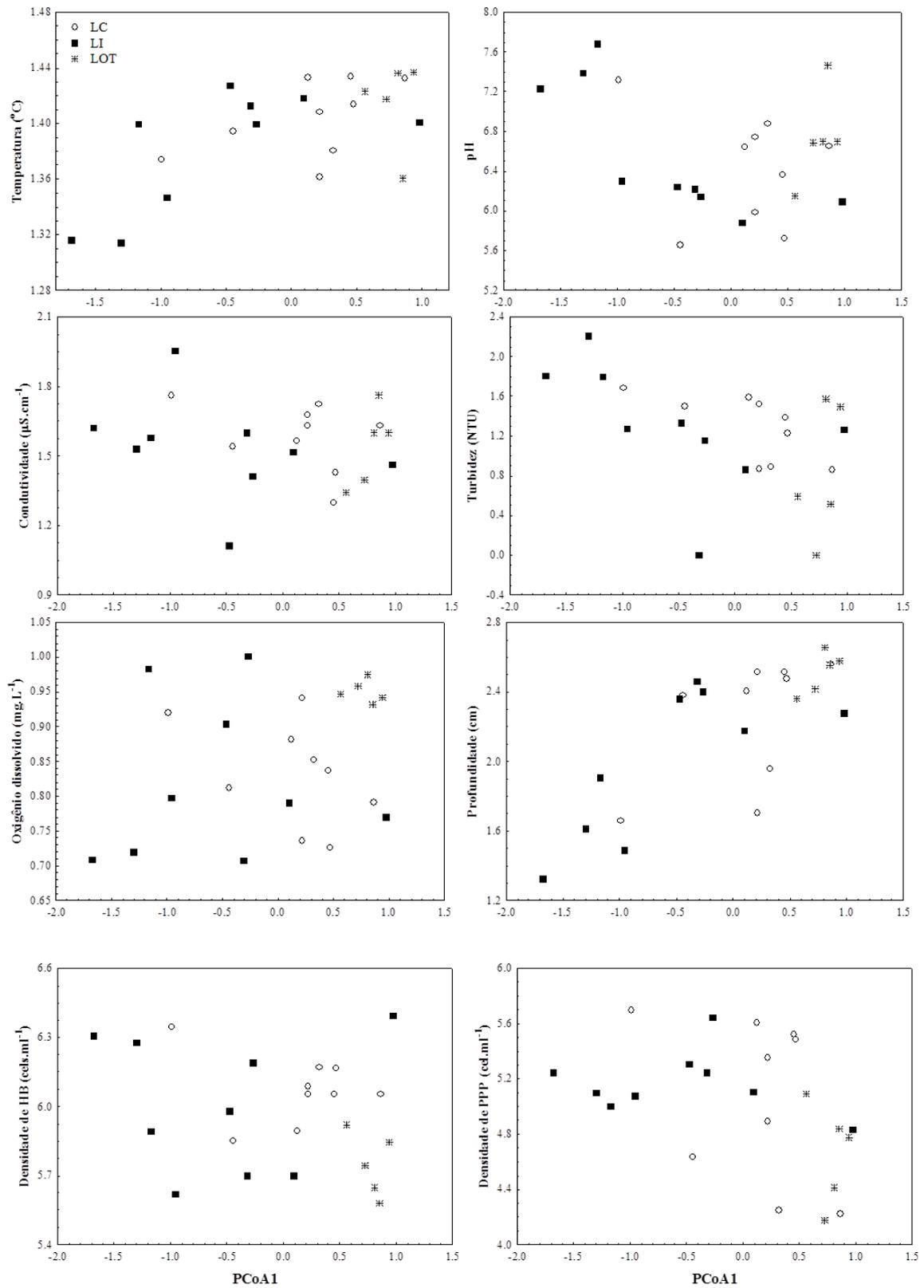


Fig. 4. Relações entre o primeiro eixo de uma PCoA aplicada ao conjunto de dados ambientais e as variáveis originais (logaritimizadas, exceto pH). HB= bactérias heterotróficas; PPP= picofitoplâncton.

Ainda em relação aos resultados exibidos na figura 4, pode-se observar uma maior dispersão das variáveis ambientais nas lagoas isoladas, diminuindo em relação aos ambientes de maior conectividade (lagoas conectadas e ambientes lóticos, respectivamente). Isto corrobora os resultados da PERMIDISP, que revelaram que a magnitude da heterogeneidade ambiental diferiu significativamente entre os tipos de ambiente ($p= 0,01$; Fig. 5A), sendo a dissimilaridade ambiental maior nas lagoas isoladas do que nas lagoas conectadas e os ambientes lóticos (teste Tukey HSD, $p= 0,001$ e $p= 0,04$, respectivamente) que, por sua vez, não diferiram significativamente entre si. Os padrões de diversidade beta dos HF, por outro lado, não foram significativamente diferentes entre os tipos de ambiente ($p> 0,05$; Fig. 5B).

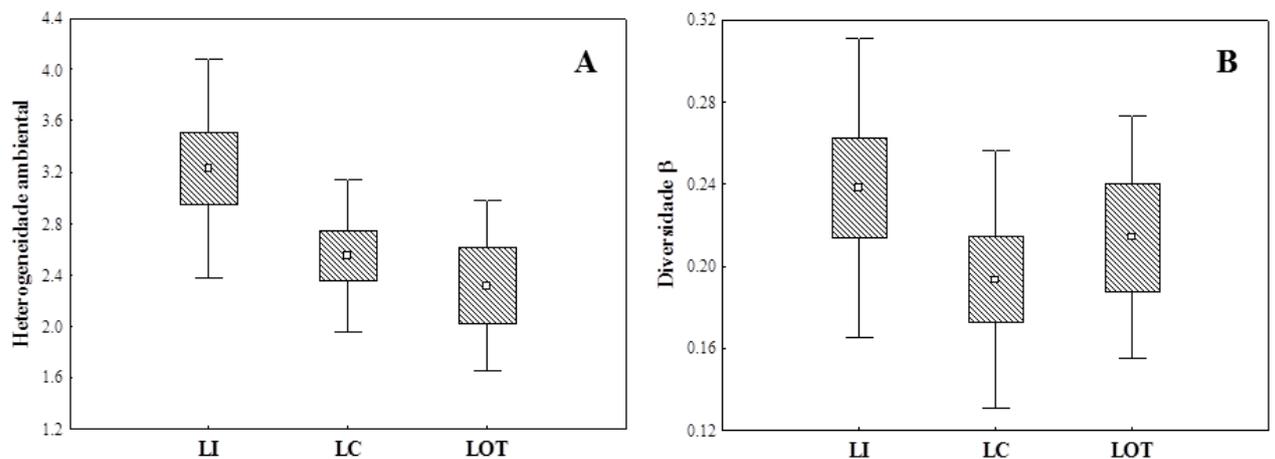


Fig. 5. Heterogeneidade ambiental (A) e diversidade beta (B) para cada tipo de ambiente. LI= lagoas isoladas; LC= lagoas conectadas; LOT= ambientes lóticos.

Importância relativa dos fatores ambientais e espaciais

Os resultados da pRDA revelaram que as contribuições dos fatores ambientais e espaciais diferiram na explicação da estrutura da metacomunidade de HF (Fig. 6). O componente ambiental foi mais elevado e significativo nas lagoas isoladas (9%) e conectadas (5%). Por outro lado, o componente espacial foi significativo e explicou a variação na composição da comunidade somente nas lagoas isoladas (4%). Nos ambientes lóticos nenhum componente foi significativo. Uma grande quantidade da variação (até 97%) permaneceu incerta.

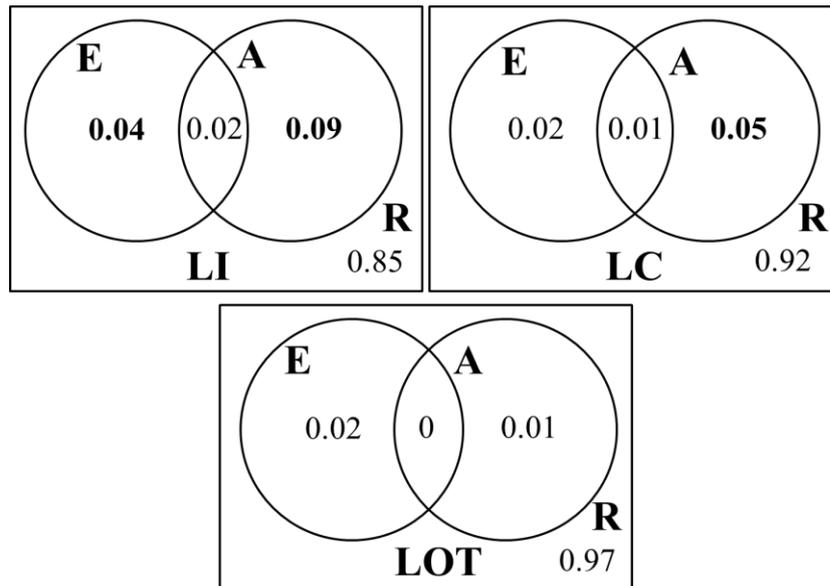


Fig. 6. Resultados da Análise de Redundância Parcial (pRDA) através de Diagramas de Venn. São mostradas as contribuições relativas (% de explicação) do componente espacial (E), componente ambiental (A), assim como o componente compartilhado e os resíduos (R), que explicam a variação da composição da metacomunidade de HF nos diferentes tipos de ambientes da planície. Números em negrito indicam valores significativos. LI-lagoas isoladas; LC= lagoas conectadas; LOT= ambientes lóticos.

As variáveis ambientais selecionadas (por seleção *step forward*) para explicar os padrões de distribuição dos HF variaram de acordo com o tipo de ambiente. Foram selecionadas as variáveis temperatura da água, profundidade e densidade de HB nas lagoas isoladas, e turbidez, condutividade e densidade de PPP nas lagoas conectadas. Somente a turbidez foi selecionada nos ambientes lóticos (Tabela 2). Além disso, também é possível destacar que das 6 variáveis PCNM geradas (Apêndice 2 – Materiais suplementares), as de elevados autovetores (PCNM 1 e 3), que representam uma escala mais grosseira, foram selecionadas para compor o componente espacial nas lagoas isoladas (Tabela 2).

Tabela 2. Fatores ambientais e espaciais selecionados na pRDA nos diferentes tipos de ambiente da planície de inundação do alto rio Paraná. Temp= temperatura; prof= profundidade; HB= bactérias heterotróficas; turb= turbidez; cond= condutividade; PPP= picofitoplâncton.

Tipo de ambiente	Variáveis ambientais	Variáveis espaciais
Lagoas isoladas	temp, prof, HB	pcnm 1, 3
Lagoas conectadas	turb, cond, PPP	pcnm 4, 5
Ambientes lóticos	turb	pcnm 1

4 DISCUSSÃO

Este estudo permitiu abordar especificamente a influência dos diferentes níveis de conectividade entre os ambientes em um sistema rio-planície de inundação sobre os mecanismos de montagem da metacomunidade de flagelados heterotróficos. Como foi previsto, os resultados evidenciaram que a magnitude da heterogeneidade ambiental variou entre os ambientes de diferentes hidrodinâmicas, sendo maior nas lagoas isoladas. Esta relação era esperada, pois baixos níveis de conectividade reduzem o fluxo hídrico entre os ambientes, tornando as condições ambientais mais heterogêneas entre eles (Thomaz et al., 2007; Lopes et al., 2014; Bozelli et al., 2015).

A riqueza de espécies dos HF por local amostrado (diversidade alfa) foi significativamente maior nos ambientes lênticos (lagoas isoladas e conectadas) quando comparada com os ambientes lóticos. Nas lagoas isoladas, por exemplo, a média da diversidade alfa correspondeu a aproximadamente 52% da riqueza total encontrada em todo estudo. A estabilidade dos ambientes lênticos proporciona condições ideais para o desenvolvimento dos organismos planctônicos, primeiramente, devido à elevada disponibilidade de recursos alimentares (Vaqué & Pace, 1992; Segovia et al., 2015) e ainda pela baixa velocidade de corrente que permite o estabelecimento desses organismos na coluna de água. Por outro lado, existem várias possíveis razões para o não estabelecimento de espécies planctônicas em ambientes lóticos, especialmente o transporte dos organismos rio abaixo, pela elevada velocidade de corrente, além de outros efeitos determinados pelas forças mecânicas provocadas pela correnteza (Horvath & Lamberti, 1999) e, ainda, a predação por organismos bentônicos filtradores (Weitere & Arndt, 2002), como por exemplo, *Lymnoperma fortunei*, que é muito comum no rio Paraná (Michelan et al., 2014).

De maneira geral, o mecanismo *species sorting* foi o mais importante para explicar a variação da metacomunidade de HF. Vários outros estudos encontraram que microrganismos podem ser fortemente controlados por fatores ambientais em uma variedade de *habitats* aquáticos com diferentes níveis de conectividade e em uma ampla gama de escalas espaciais (Beisner et al., 2006; De Bie et al., 2012; Langenheder et al., 2012). Souffreau et al. (2015), por exemplo, estudando a metacomunidade bacteriana em 48 lagos na América do Sul, em distintas regiões climáticas, encontraram o predomínio de *species sorting* mesmo em um gradiente latitudinal de mais de 6.000 Km de extensão. Este padrão não é necessariamente

apenas o resultado das elevadas taxas de dispersão, mas provavelmente também mediado por outras características, como pequenos tamanhos corporais, rápido ciclo de vida e elevadas densidades populacionais, que permitem respostas rápidas aos gradientes ambientais (Van der Gucht et al., 2007).

No entanto, recentemente, há uma quantidade crescente de evidências que indicam que os microrganismos exibem padrões biogeográficos de distribuição (De Bie et al., 2012; Segovia, em preparação). Van der Gucht et al. (2007) encontraram uma limitação de dispersão de metacomunidades bacterianas apenas em escalas continentais ou intercontinentais. Na mesma linha, Declerck et al. (2011) sugeriram que a metacomunidade de cladóceros, em lagoas temporárias na região montanhosa dos Andes, somente foi limitada por dispersão quando a escala espacial abrangia diferentes vales. Mais especificamente em sistemas rio-planície de inundação, Nabout et al. (2009) testaram sem sucesso a hipótese de que a metacomunidade de fitoplâncton seria regulada por processos de limitação de dispersão nos períodos de águas baixas da planície do rio Araguaia. Portanto, o este é um dos poucos estudos em que o componente espacial explicou de maneira significativa a estruturação de uma metacomunidade microbiana em uma escala geográfica moderada, porém, esse fato foi constatado somente em lagoas isoladas.

Isso está de acordo com a segunda predição, a qual previa que a importância relativa dos processos de montagem das comunidades de HF iria variar dependendo do tipo de ambiente analisado, com limitação de dispersão nos ambientes isolados. Contudo, nossos resultados indicaram que nesses ambientes, tanto os processos ambientais quanto os espaciais explicaram a estrutura da metacomunidade. Embora a interação entre estes dois componentes possa ser interpretado como mecanismo de *mass effects* (Cottenie, 2005), neste estudo, a explicação mais plausível é que esteja ocorrendo um mecanismo de *species sorting* parcialmente limitado por dispersão (Ng et al., 2009). Em primeiro lugar, o estudo analisou um gradiente de conectividade, e o componente espacial somente foi significativo nos ambientes de maior isolamento, sugerindo o aumento da limitação de dispersão com a diminuição da conectividade (Warfe et al., 2013). Além disso, os autovetores selecionados para compor o componente espacial para esses ambientes representam elevada escala espacial, pois delimitam grandes regiões (Apêndice 2 – materiais suplementares), podendo ser

utilizados então como um indicativo de limitação de dispersão (De Bie et al., 2012; Heino et al., 2015a).

O fato de o mecanismo de *species sorting* ser mais importante nas lagoas isoladas faz sentido, já que este deve ser mais importante quanto maiores forem as diferenças nas condições ambientais entre as localidades dentro de uma região (Leibold et al., 2004). Mas isso também indica que de alguma forma esteja ocorrendo dispersão e entrada de novos indivíduos nesses ambientes. Os organismos que habitam os ecossistemas aquáticos continentais, sobretudo ambientes com ausência de conectividade hídrica, têm desenvolvido diversas estratégias ativas e passivas para romper a barreira representada pelo terreno circundante, conseguindo se dispersar e colonizar novos *habitats* (Incagnone et al., 2015). Os microrganismos, devido aos seus tamanhos reduzidos e a capacidade de formar fases de resistência (Foissner, 2006), são bastante propensos para dispersão aérea, dispersão através de vetores, ou até mesmo pelas águas subterrâneas (Incagnone et al., 2015). Esse elevado potencial para dispersão é apoiado por estudos de caso, que mostraram uma rápida colonização de microrganismos em massas de água recém-formadas (De Meester et al., 2002). Buosi et al. (2015), por exemplo, mostraram que espécies de ciliados comuns à fauna registrada no rio Paraná possuem a capacidade de se dispersarem a ecossistemas peculiares como tanques de bromélias presentes em paredões rochosos ao longo desse rio, sendo a composição dessas essencialmente formada por espécies tipicamente planctônicas. Portanto, se as taxas de dispersão não são limitantes nas lagoas isoladas, o paradigma *species sorting* deve levar a fortes associações entre a composição de espécies e as condições ambientais.

Outra possibilidade para explicar o mecanismo de *species sorting* nas lagoas isoladas está relacionada à dinâmica temporal dos sistemas rio-planície de inundação (Bozelli et al., 2015). Estes sistemas sofrem inundações periódicas (Junk et al., 1989; Neiff et al., 1990), que podem conectar todos os ambientes da várzea e ser um momento-chave para dispersão da biota aquática (Thomaz et al., 2007; Warfe et al., 2011). Por exemplo, Fernandes et al. (2014) foram capazes de detectar alterações significativas na estrutura da metacomunidade de peixes, onde as espécies estavam limitadas por dispersão durante o início do enchimento e este mecanismo foi ausente ao término da estação chuvosa. Contudo, alterações no ciclo hidrológico, com longos períodos de isolamento, podem provocar uma diminuição da diversidade regional e aumento da abundância provocada por algumas espécies dominantes,

como foi mostrado recentemente para a comunidade fitoplanctônica (Bortolini et al., 2015). Assim, a reconexão anual das lagoas isoladas é fundamental para a manutenção da riqueza de espécies e pode oferecer oportunidades suficientes para a dispersão dos HF e sustentar o mecanismo de *species sorting*.

Ao contrário das expectativas, o maior poder explicativo dos componentes ambientais e espaciais nas lagoas isoladas não refletiu em uma maior diversidade beta nesses ambientes. Isso sugere que outros fatores e processos podem estar afetando a substituição de espécies de HF entre os *habitats*. De fato, muitos estudos mostraram que não necessariamente uma alta heterogeneidade ambiental promove elevados valores de diversidade beta. A produtividade dos ecossistemas (Langenheder et al., 2012; Bini et al., 2014) e até mesmo a exclusão competitiva (Segre et al., 2014) têm sido apontadas como candidatas a influenciar as alterações da diversidade beta. No entanto, para os resultados encontrados, uma provável explicação vem desde os primeiros conceitos de diversidade beta, sugerido por Whittaker (1960), onde esta é propícia a aumentar quanto maior for a razão entre a diversidade total de uma região (diversidade gama) e a riqueza encontrada em uma única localidade (diversidade alfa). Neste estudo, como já discutido anteriormente, a diversidade alfa foi bastante elevada nas lagoas isoladas, indicando que a maior parte das espécies foi comum entre a maioria desses ambientes, o que pode colaborar para uma diminuição da diversidade beta.

Em relação às lagoas conectadas, a predição (ii) de que os HF seriam regulados pelos fatores ambientais foi confirmada. Nesses ambientes, diversos estudos sugerem uma importância conjunta de processos espaciais e fatores ambientais locais como determinantes da estrutura das comunidades (Heino et al., 2015a). Pelo fato de elas serem conectadas à calha do rio principal, é provável que o efeito destes dois preditores dependa da capacidade de dispersão dos grupos biológicos analisados (Heino et al., 2015a). Por exemplo, Beisner et al. (2006) examinaram peixes, zooplâncton, fitoplâncton e bactérias em um conjunto de lagoas da região sudoeste do Canadá e verificaram que os fatores espaciais explicaram alguma variação na assembleia de peixes, porém para os outros três grupos as distâncias entre os locais não foram importantes. Da mesma forma, Padial et al. (2014), na mesma área de estudo do presente trabalho, verificaram uma forte estruturação espacial para as assembleias de peixes sedentários e macrófitas aquáticas, enquanto que para o zooplâncton e fitoplâncton os fatores ambientais foram mais importantes, porém com maior poder explicativo para o último.

Portanto, de maneira geral, organismos com baixa capacidade de dispersão tendem a ser menos controlados ambientalmente e mais estruturados pela escala espacial, enquanto que o oposto deve ser observado para grupos com elevada capacidade de dispersão. Como os HF são considerados ótimos dispersores (Fenchel & Finlay, 2004), faz sentido serem principalmente estruturados pelos fatores ambientais nesses ambientes.

Contudo, a porcentagem de explicação das variáveis ambientais, apesar de significativa, foi consideravelmente baixa (5%). O mecanismo de *species sorting* prevê que as condições ambientais bióticas e abióticas “filtram” o conjunto de espécies que coexistem em cada região, desde que haja dispersão suficiente para que as espécies possam acompanhar a variação ambiental (Leibold et al., 2004). Surpreendentemente, a heterogeneidade ambiental não foi tão elevada nas lagoas conectadas, o que pode explicar os baixos valores de explicação do componente ambiental. Também não pode deixar de ser considerado que, devido a permanente conectividade hídrica, elevadas taxas de dispersão dos HF possam estar amortecendo a influência das condições ambientais (Mouquet & Loreau, 2003). Assim, conseqüentemente, a união desses dois possíveis fatores pode estar contribuindo para os menores valores observados de diversidade beta.

Em relação aos ambientes lóticos, a importância das altas taxas de dispersão ainda é incerta, mas o seu papel pode estar relacionado com as características específicas de cada sistema (Heino et al., 2015c). Por exemplo, em grandes rios bem conectados, o mecanismo de *mass effects* pode ser mais importante do que em riachos mais isolados (Brown & Swan, 2010; Milesi & Melo, 2014). Levando-se em conta a escala espacial deste estudo e a elevada conectividade proporcionada por diferentes vias hídricas entre os ambientes (ver detalhes em Padial et al., 2014), era esperado que ocorresse o predomínio do mecanismo de *mass effects*, presente quando a elevada dispersão supera a força dos “filtros” ambientais (Leibold et al., 2004). Além disso, a baixa heterogeneidade ambiental entre esses ambientes não favorece o mecanismo de *species sorting*. A falta de evidência para que nenhum dos componentes analisados explique a variação da metacomunidade dos HF pode ser considerado inesperado, mas não surpreendente, quando se trata de microrganismos (Nabout et al., 2009), pois esses apresentam comumente padrões mais estocásticos do que organismos de grande porte (Soininen et al., 2013; Souffreau et al., 2015).

Como já discutido anteriormente, pequenas espécies planctônicas de sistemas lóticos, caracterizados por sua instabilidade da coluna de água, podem mostrar um grau relativamente elevado de aleatoriedade, em comparação com ambientes lênticos mais estáveis (Heino et al., 2015b). Como prevê a “teoria do rio contínuo”, a presença de afluentes e lagoas conectadas a montante de grandes rios, permite a chegada constante de novos imigrantes (Vannote et al., 1980), fazendo com que muitas espécies estejam presentes nesses ambientes mesmo que as condições ambientais não sejam favoráveis (Milesi & Melo, 2014). Neste estudo, foram frequentemente encontradas espécies de euglenídeos e cercomonadídeos, que são mais comumente registradas na região bentônica ou litorânea dos ambientes (Arndt et al., 2000). Assim, como a ocorrência de uma determinada espécie pode ser ao acaso, isso contribui para uma maior rotatividade de espécies e, conseqüentemente, um aumento da diversidade beta nos ambientes lóticos.

Nesses ambientes, os coanoflagelados e os bicosoecídeos foram os mais frequentes nas amostras, com destaque para *Monosiga ovata*, *Bicosoeca lacustris* e *Salpingoeca amphoridium*, presentes em mais de 50% dos ambientes lóticos estudados. As espécies desses dois grupos geralmente prevalecem em ambientes de água corrente (Kiss et al., 2009). Provavelmente, a união de dois fatores contribui para que estas espécies se desenvolvam nesses ambientes. A carapaça que envolve esses microrganismos pode servir de proteção contra a ação mecânica causada pela velocidade de corrente e o pastoreio de predadores (Carrias et al., 1998). Além disso, a capacidade de formar fases perifíticas, podendo-se aderir a uma variedade de substratos (Karpov & Mylnikov, 1993), pode ajudar a aumentar a estabilidade das espécies na coluna de água. Neste estudo, os coanoflagelados e bicosoecídeos foram geralmente encontrados aderidos a cianobactérias do gênero *Microcysts*, o que pode torná-los mais propícios a permanecerem na coluna de água.

Um aspecto interessante nesse estudo foi que as variáveis bióticas (HB e PPP) explicaram a variação dos HF de maneira diferente entre os tipos de ambientes. Embora HB e PPP ocupem posições tróficas diferentes, ambos estão no intervalo de tamanho do picoplâncton (0,2 a 2 μm) e constituem uma importante fonte de recurso alimentar para os protistas (Callieri et al., 2008; Tarbe et al., 2011; Palijan, 2012). A importância desses recursos para os HF tem sido bem documentada, sendo que em ambientes lênticos mecanismos ascendentes (*bottom up*) podem prevalecer (Gasol et al., 1995; Simek et al.,

2003), enquanto que em condições lóxicas a ação mecânica parece ser o principal fator de controle desses microrganismos (Tockner et al., 1999; Hein et al., 2003).

As lagoas isoladas apresentaram grandes variações na profundidade, sendo que alguns ambientes tinham apenas cerca de 20 cm da superfície até o fundo. Em ambientes rasos, é comum a presença de espécies de sedimento, que podem preencher a região limnética como resultado, principalmente, da ressuspensão do sedimento devido a ação do vento, processos de bioturbação, e/ou migração ativa (Arndt et al., 2000). Nesses locais foi frequente a presença das ordens Euglenida, Cercomonadida e Apusomonadida, cujas espécies são consideradas em sua maioria como tipicamente bentônicas (Arndt et al., 2000), por apresentarem células achadas dorso-ventralmente ou formas ameboides, que favorecem esse modo de vida. Grande parte das espécies bentônicas se alimentam principalmente de HB (Tikhonenkov et al., 2012), já que estas podem apresentar elevadas abundâncias no fundo dos ambientes aquáticos, devido aos processos de decomposição (Kalf, 2002). Neste estudo, o maior valor de densidade de HB ($2,5 \times 10^6$ cels.mL⁻¹) foi registrado em uma lagoa isolada com menos de 30 cm de profundidade, o que sugere um maior acoplamento entre este recurso e os HF.

Nas lagoas conectadas, por sua vez, a variável PPP conjuntamente com a turbidez e condutividade foram importantes. Esses resultados suportam a ideia de que a herbivoria por protistas também é um processo relevante em ecossistemas aquáticos continentais de regiões tropicais (Sarmiento, 2012). Nessas regiões, são registradas grandes abundâncias de PPP durante todo ano, que podem ser atribuídas à radiação solar constante e grande transparência da água (Sarmiento et al., 2008). Assim, embora um gradiente de turbidez tenha sido observado nas lagoas conectadas, devido a presença de compostos húmicos em algumas delas, a maioria apresentou uma elevada transparência, em comparação com as lagoas isoladas. Isso pode favorecer o crescimento picofitoplânctônico e aumentar a sua disponibilidade como recurso para os HF. Essa relação foi documentada em alguns estudos, por exemplo, Tarbe et al. (2011) estudaram as relações tróficas microbianas em um lago oligotrófico da Zâmbia, e relataram que em condições de baixa turbidez, até 83% do total de carbono orgânico obtido pelos HF no epilímnio, era proveniente do picofitoplâncton.

É interessante notar que mesmo que uma parte significativa da variação dos HF poderia ser explicada por variáveis ambientais e/ou espaciais, a maior proporção da variação permaneceu incerta. Este é um padrão recorrentemente observado em estudos de

metacomunidades de microrganismos (Nabout et al., 2009; Langenheder et al., 2012; Soininen et al., 2013; Souffreau et al., 2015). Neste estudo foi utilizada uma combinação de variáveis abióticas e bióticas, que são conhecidas por exercer forte influência sobre a comunidade de HF, portanto é improvável que isso seja uma consequência de que alguns fatores tenham sido negligenciados, mas provavelmente reflita a importância de processos estocásticos, como prevê a perspectiva *neutral*, durante a montagem da metacomunidade (Nabout et al., 2009).

Finalmente, devem-se ressaltar algumas características da área de estudo deste trabalho, o sistema rio-planície de inundação do alto rio Paraná. Estudos ecológicos que visam detectar padrões ambientais e/ou espaciais na estrutura de comunidades devem considerar como de crucial importância a escolha da escala espacial (Heino et al., 2015a). O aumento da extensão espacial é suscetível de aumentar a heterogeneidade ambiental em uma determinada região (Jackson et al., 2001), no entanto, em estudos que compreendem escalas reduzidas, as alterações ambientais podem não ser perceptíveis para as comunidades aquáticas (Heino et al., 2015b).

Desta forma, uma característica típica de sistemas rio-planície de inundação é o fato de que esses são compostos por subsistemas, que diferem em suas propriedades limnológicas e geomorfológicas (Junk et al., 1989). A abrangência espacial deste estudo, apesar de ser relativamente reduzida (aproximadamente 60 km de diâmetro), contempla três subsistemas bem delimitados (Ivinhema, Baía e Paraná), que possuem um acentuado gradiente ambiental (Padial et al., 2012; Simões et al., 2013), e como já foi mostrado, influencia os padrões de distribuição de espécies não apenas de comunidades com elevada capacidade de dispersão, como zooplâncton e fitoplâncton, mas também organismos com capacidade de dispersão limitada, como macroinvertebrados bentônicos e macrófitas aquáticas (Velho et al., 2004; Alves et al., 2010; Simões et al., 2013; Padial et al., 2014; Rodrigues et al., 2015; Petsch et al., 2015).

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que a comparação entre distintos tipos de ambientes, que diferem em relação ao nível de conectividade, foi eficaz para avaliar se

diferentes taxas de dispersão influenciam o papel relativo dos processos ambientais e espaciais na estruturação das metacomunidades de flagelados heterotróficos. Assim, a predição (i) foi corroborada, já que as lagoas isoladas foram mais heterogêneas em suas condições ambientais. A predição (ii) foi parcialmente corroborada, uma vez que, como era previsto, o componente espacial foi importante somente nas lagoas isoladas, indicando alguma limitação de dispersão nesse tipo de ambiente. Contudo, o componente ambiental explicou a variação na comunidade tanto nas lagoas isoladas quanto nas lagoas conectadas, confirmando a elevada capacidade de dispersão dos HF e o predomínio do mecanismo *species sorting* na formação das metacomunidades microbianas. Nos ambientes lóticos nenhum componente explicou a variação da metacomunidade, indicando que processos estocásticos podem predominar nestes ambientes. A predição (iii) foi refutada, pois não houve diferenças significativas na diversidade beta entre os tipos de ambientes estudados.

Por fim, seria interessante posteriormente avaliar com mais detalhes se ambos os componentes ambientais e espaciais se alteram temporalmente nas lagoas isoladas. Se no período de águas baixas o isolamento for um limitante para a dispersão, a reconexão anual causada pelos pulsos de inundação pode sustentar o mecanismo de *species sorting*. Como este estudo não contemplou uma série temporal, o momento da amostragem pode estar refletindo uma situação em que a variação na composição da metacomunidade é explicada por ambas as condições passadas e contemporâneas (Anderson et al., 2014), o que tornaria necessário um maior período de isolamento para avaliar se a magnitude do componente espacial aumenta com o tempo. Caso não houvesse alteração nessa razão, seria um indicativo de que a dispersão para as lagoas isoladas é constante.

REFERÊNCIAS

- Agostinho, A. A., S. M. Thomaz & L. C. Gomes, 2004. Threats for biodiversity in the floodplain of the Upper Paraná River: effects of hydrological regulation by dams. *Ecohydrology and Hydrobiology* 4: 255-256.
- Alves, G. M., L. F. M. Velho, N. R. Simões & F. A. Lansac-Tôha, 2010. Biodiversity of testate amoebae (Arcellinida and Euglyphida) in different habitats of a lake in the Upper Paraná River floodplain. *European Journal of Protistology* 46: 310-318.
- Anderson, M. J., K. E. Ellingsen & B. H. McArdle, 2006. Multivariate dispersion as a measure of beta diversity. *Ecology Letters* 9: 683-693.
- Anderson, M. G., M. Berga, E. S. Lindström & S. Langenheder, 2014. The spatial structure of bacterial communities is influenced by historical environmental conditions. *Ecology* 95: 1134-1140.
- Arndt, H., D. Dietrich, B. Auer, E.-J. Cleven, T. Gräfenhan, M. Weitere & A.P. Mylnikov, 2000. Functional Diversity of Heterotrophic Flagellates in Aquatic Ecosystems. In: *The Flagellates* (Leadbeater, B.S.C. & Green, J.C., Eds.) Taylor & Francis Ltd, London. 240-268.
- Astorga, A., J. Oksanen, M. Luoto, J. Soininen, R. Virtanen & T. Muotka, 2012. Distance decay of similarity in freshwater communities: do macro- and microorganisms follow the same rules? *Global Ecology and Biogeography* 21: 365-375.
- Azam, F., T. Fenchel, J. G. Field, J. S. Gray, L. A. Meyer-Reil & F. Thingstad, 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Estuaries* 50: 257-263.
- Beisner, B. E., P. R. Peres-Neto, E. S. Lindström, A. Barnett & M. L. Longhi, 2006. The role of environmental and spatial processes in structuring lake communities from bacteria to fish. *Ecology* 87: 2985-2991.
- Bini, L. M., V. L. Landeiro, A. A. Padial, T. Siqueira & J. Heino, 2014. Nutrient enrichment is related to two facets of beta diversity for stream invertebrates across the United States. *Ecology* 95: 1569-1578.
- Blackburn, T. M., K. J. Gaston & N. Loder, 1999. Geographic gradients in body size: a clarification of Bergmann's rule. *Diversity and Distributions* 5: 165-174.
- Blanchet, F. G., P. Legendre & B. Daniel, 2008. Forward selection of explanatory variables. *Ecology* 89: 2623-2632.
- Borcard, D. & P. Legendre, 2002. All-scale spatial analysis of ecological data by means of principal coordinates of neighbour matrices. *Ecological Modelling* 153: 51-68.

- Bortolini, J. C.; S. Train, L. C. Rodrigues, 2015. Extreme hydrological periods: effects on phytoplankton variability and persistence in a subtropical floodplain. *Hydrobiologia*, doi: 10.1007/s10750-015-2378-y.
- Bozelli, R. L., S. M. Thomaz, A. A. Padial, P. M. Lopes & L. M. Bini, 2015. Floods decrease zooplankton beta diversity and environmental heterogeneity in an Amazonian floodplain system. *Hydrobiologia* 753: 233-241.
- Brown, B. L. & C. M. Swan, 2010. Dendritic network structure constrains metacommunity properties in riverine ecosystems. *Journal of Animal Ecology* 79: 571-580.
- Buosi, P. R. B., A. F. Cabral, L. R. P. Utz, L. C. G. Vieira & L. F. M. Velho, 2015. Effects of seasonality and dispersal on the ciliate community inhabiting bromeliad phytotelmata in riparian vegetation of a large tropical river. *Journal of Eukaryotic Microbiology* doi: 10.1111/jeu.12232
- Callieri, C., S. M. Karjalainen & S. Passoni, 2002. Grazing by ciliates and heterotrophic nanoflagellates on picocyanobacteria in Lago Maggiore, Italy. *Journal of Plankton Research* 24: 785-796.
- Cardinale, B. J., 2011. Biodiversity improves water quality through niche partitioning. *Nature* 472: 86-89.
- Carrias, J. F., C. Amblard, C. Quiblier-Lloberas & G. Bourdier, 1998. Seasonal dynamics of free and attached heterotrophic nanoflagellates in an oligomesotrophic lake. *Freshwater Biology* 39: 91-101.
- Cottenie, K., 2005. Integrating environmental and spatial processes in ecological community dynamics. *Ecology Letters* 8: 1175-1182.
- De Bie, T., L. Meester, L. Brendonck, K. Martens, B. Goddeeris, D. Ercken, H. Hampel, L. Denys, L. Vanhecke, K. Van der Gucht, J. Van Wichelen, W. Vyverman & S. A. J. Declerck, 2012. Body size and dispersal mode as key traits determining metacommunity structure of aquatic organisms. *Ecology Letters* 15: 740-747.
- De Meester, L., A. Gómez, B. Okamura & K. Schwenk, 2002. The Monopolization Hypothesis and the dispersal-gene flow paradox in aquatic organisms. *Acta Oecologica* 23: 121-135.
- Declerck, S. A. J., J. S. Coronel, P. Legendre & L. Brendonck, 2011. Scale dependency of processes structuring metacommunities of cladocerans in temporary pools of High-Andes wetlands. *Ecography* 34: 296-305, 2011.

- Declerck, S. A. J., C. Winter, J. B. Shurin, C.A. Suttle & B. Matthews, 2013. Effects of patch connectivity and heterogeneity on metacommunity structure of planktonic bacteria and viruses. *The ISME Journal* 7: 533-542.
- Edwards, K. J., T. M. Gihring & J. F., 1999. Banfield. Seasonal variations in microbial populations and environmental conditions in an extreme acid mine drainage environment. *Applied And Environmental Microbiology* 65: 3627–3632.
- Fenchel, T. O. M. & B. J. Finlay, 2004. The ubiquity of small species: patterns of local and global diversity. *Bioscience* 54: 777-784.
- Fermani, P., A. Torremorell, L. Lagomarsino, R. Escaray, F. Unrein & G. Pérez, 2014. Microbial abundance patterns along a transparency gradient suggest a weak coupling between heterotrophic bacteria and flagellates in eutrophic shallow Pampean lakes. *Hydrobiologia* 752: 103-123.
- Fernandes, I. M., R. Henriques-Silva, J. Penha, J. Zuanon & P. R. Peres-Neto, 2014. Spatiotemporal dynamics in a seasonal metacommunity structure is predictable: the case of floodplain-fish communities. *Ecography* 37: 464-475.
- Finlay, B. J., 2002. Global dispersal of free-living microbial eukaryote species. *Science* 296: 1061-1063.
- Finlay, B. J., K. J. Clarke, A. J. Cowling, R. M. Hindle, A. Rogerson & U. G. Berninger, 1988. On the abundance and distribution of protozoa and their food in a productive freshwater pond. *European Journal of Protistology* 23: 205-217.
- Foissner, W., 2006. Biogeography and dispersal of micro-organisms: a review emphasizing protists. *Acta Protozoologica* 45: 111-136.
- Gasol, J. M., 1993. Benthic flagellates and ciliates in fine freshwater sediments: Calibration of a live counting procedure and estimation of their abundances. *Microbial Ecology* 25: 247-262.
- Gasol, J. M., A. M. Simons & J. Kalff, 1995. Patterns in the top-down versus bottom-up regulation of heterotrophic nanoflagellates in temperate lakes. *Journal Plankton Research* 17: 1879-1903.
- Gasol, J. M., U. L. Zweifel, F. Peters, J. A. Fuhrman & Å. Hagström, 1999. Significance of Size and Nucleic Acid Content Heterogeneity as Measured by Flow Cytometry in Natural Planktonic Bacteria. *Applied Environmental Microbiology* 65: 4475-4483.
- Göthe, E., D. G. Angeler, S. Gottschalk, S. Löfgren & L. Sandin, 2013. The influence of environmental, biotic and spatial factors on diatom metacommunity structure in Swedish headwater streams. *PloS ONE* 8: doi10.1371/journal.pone.0072237.

- Hein, T., C. Baranyi, G. J. Herndl, W. Wanek & F. Schiemer, 2003. Allochthonous and autochthonous particulate organic matter in floodplains of the River Danube: the importance of hydrological connectivity. *Freshwater Biology* 48: 220-232.
- Heino, J., A. S. Melo, S. Tadeu, J. Soininen, S. Valanko & L. M. Bini, 2015a. Metacommunity organisation, spatial extent and dispersal in aquatic systems: patterns, processes and prospects. *Freshwater Biology* 60: 845-869.
- Heino, J., J. Soininen, J. Alahuhta, J. Lappalainen & R. Virtanen, 2015b. A comparative analysis of metacommunity types in the freshwater realm. *Ecology and Evolution* 5: 1525-1537.
- Heino, J., A. S. Melo & L. M. Bini, 2015c. Reconceptualising the beta diversity-environmental heterogeneity relationship in running water systems. *Freshwater Biology* 60: 223-235.
- Horvath, T. G. & G. A. Lamberti, 1999. Mortality of zebra mussel, *Dreissena polymorpha*, veligers during downstream transport. *Freshwater Biology* 42: 69-76.
- Hubbell, S. J., 2001. *The Unified Neutral Theory of Biodiversity and Biogeography*, Princeton University Press, Princeton.
- Incagnone, Giulia, F. Marrone, R. Barone, L. Robba & L. Naselli-Flores, 2015. How do freshwater organisms cross the “dry ocean”? A review on passive dispersal and colonization processes with a special focus on temporary ponds. *Hydrobiologia* 750: 103-123.
- Jackson, D. A., P. R. Peres-Neto & J. D. Olden, 2001. What controls who is where in freshwater fish communities the roles of biotic, abiotic, and spatial factors. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 58: 157-170.
- Jeuck, A. & H. Arndt, 2013. A Short Guide to Common Heterotrophic Flagellates of Freshwater Habitats Based on the Morphology of Living Organisms. *Protist* 164: 842–860.
- Junk W. J., P. B. Bayley & R. E. Sparks, 1989. The flood pulse concept in river-floodplain systems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 106: 110–127.
- Kalff, J., 2002. *Limnology: inland water ecosystems*. Prentice Hall, New Jersey.
- Karpov, S. A. & A. P. Mylnikov, 1993. Preliminary observations on the ultrastructure of mitosis in choanoflagellates. *European Journal of Protistology* 29: 19-23.
- Kiss, Á. K., É. Ács, K. T. Kiss & J. K. Török, 2009. Structure and seasonal dynamics of the protozoan community (heterotrophic flagellates, ciliates, amoeboid protozoa) in the plankton of a large river (River Danube, Hungary). *European Journal of Protistology* 45: 121-138.

- Kueppers, G. C. & M. C. CLAPS, 2012. Spatiotemporal variations in abundance and biomass of planktonic ciliates related to environmental variables in a temporal pond. *Zoological Studies* 51: 298-313.
- Langenheder S., M. Berga1, O. Östman & A. J. Székely, 2012. Temporal variation of b-diversity and assembly mechanisms in a bacterial metacommunity. *The ISME Journal* 6: 1107-1114.
- Legendre P. & E. D. Gallagher, 2001. Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. *Oecologia* 129: 271–280.
- Legendre, P. & L. Legendre, 1998. *Numerical Ecology*. Elsevier, Amsterdam.
- Leibold, M. A., M. Holyoak, N. Mouquet, P. Amarasekare, J. M. Chase, M. F. Hoopes, R. D. Holt, J. B. Shurin, R. Law, D. Tilman, M. Loreau & A. Gonzalez, 2004. The metacommunity concept: a framework for multi-scale community ecology. *Ecology Letters* 7: 601-613.
- Lindström, E. S. & S. Langenheder, 2012. Local and regional factors influencing bacterial community assembly. *Environmental Microbiology Reports* 4: 1–9.
- Lopes, P. M., L. M. Bini, S. A. J. Declerck, V. F. Farjalla, L. C. G. Vieira, C. C. Bonecker, F. A. Lansac-Toha, F. A. Esteves & R. L. Bozelli, 2014. Correlates of zooplankton beta diversity in tropical lake systems. *PLoS ONE* 9: e109581. doi:10.1371/journal.pone.0109581.
- MacArthur, R. H., & E. O. Wilson, 1967. *The theory of island biogeography*. Princeton University Press, Princeton.
- Martiny, J. B. H., B. J. Bohannan, J. H. Brown, R. K. Colwell, J. A. Fuhrman, J. L. Green, M. C. Horner-Devine, M. Kane, J. A. Krumins, C. R. Kuske, P. J. Morin, S. Naeem, L. Øvreås, A.-L. Reysenbach, V. H. Smith & J. T. Staley, 2006. Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. *Nature Reviews Microbiology* 4: 102-112.
- Meynard, C. N., S. Lavergne, I. Boulangeat, L. Garraud, J. Es, N. Mouquet & W. Thuiller, 2013. Disentangling the drivers of metacommunity structure across spatial scales. *Journal of Biogeography* 40: 1560-1571.
- Michelan, T. S., M. J. Silveira, D. K. Petsch, G. D. Pinha, S. M. Thomaz, 2014. The invasive aquatic macrophyte *Hydrilla verticillata* facilitates the establishment of the invasive mussel *Limnoperna fortunei* in Neotropical reservoirs. *Journal of Limnology* 73: 598-602.
- Milesi S. V. & A. S. Melo, 2014. Conditional effects of aquatic insects of small tributaries on mainstream assemblages: position within drainage network matters. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 71:1-9.
- Mouquet, N. & M. Loreau, 2003. Community patterns in source-sink metacommunities. *The American Naturalist* 162: 544-557.

- Nabout, J. C., T. Siqueira, L. M. Bini & I. D. S. Nogueira, 2009. No evidence for environmental and spatial processes in structuring phytoplankton communities. *Acta Oecologica* 35: 720-726.
- Neiff, J. J., 1990. Ideas para la interpretacion ecológica del Parana. *Interciencia*, 15: 424-441.
- Ng, I. S. Y., C. M. Carr & K. Cottenie, 2009. Hierarchical zooplankton metacommunities: distinguishing between high and limiting dispersal mechanisms. *Hydrobiologia* 619: 133-143.
- Olden J., D. A. Jackson & P. R. Peres-Neto, 2001. Spatial isolation and fish communities in drainage lakes. *Oecologia* 127: 572-585.
- Padial, A. A., T. Siqueira, J. Heino, L. C. Vieira, C. C. Bonecker, F. A. Lansac-Tôha, L. C. Rodrigues, A. M. Takeda, S. Train, L. F. M. Velho & L. M. Bini, 2012. Relationships between multiple biological groups and classification schemes in a Neotropical floodplain. *Ecological Indicators* 13: 55-65.
- Padial, A. A., F. Ceschin, S. A. J. Declerck, L. De Meester, C. C. Bonecker, F. A. Lansac-Tôha, L. Rodrigues, L. C. Rodrigues, S. Train, L. F. M. Velho & L. M. Bini, 2014. Dispersal Ability Determines the Role of Environmental, Spatial and Temporal Drivers of Metacommunity Structure. *PLoS ONE* 9: e111227. doi:10.1371/journal.pone.0111227.
- Palijan, G., 2012. Abundance and biomass responses of microbial food web components to hydrology and environmental gradients within a floodplain of the river Danube. *Microbial Ecology*, 64: 39-53.
- Patterson, D. J., & J. Larsen, 1991. *Biology of free-living heterotrophic flagellates*. Clarendon Press/Oxford, Oxford University Press, Oxford.
- Peres-Neto, P. R., P. Legendre, S. Dray & D. Borcard, 2006. Variation partitioning of species data matrices: estimation and comparison of fractions. *Ecology* 87: 2614-2625.
- Petsch, D. K., G. D. Pinha, J. D. Dias & A. M. Takeda, 2015. Temporal nestedness in Chironomidae and the importance of environmental and spatial factors in species rarity. *Hydrobiologia* 745: 181-193.
- Rodrigues, L. C., N. R. Simões, V. M. Bovo-Scomparin, S. Jati, N. F. Santana, M. C. Roberto & S. Train, 2015. Phytoplankton alpha diversity as an indicator of environmental changes in a neotropical floodplain. *Ecological Indicators* 48: 334-341.
- Sanders, R. W., D. A. Caron & U. G. Berninger, 1992. Relationships between bacteria and heterotrophic nanoplankton in marine and fresh waters-an inter-ecosystem comparison. *Marine Ecology Progress Series* 86: 1-14.
- Sarmiento, H., 2012. New paradigms in tropical limnology: the importance of the microbial food web. *Hydrobiologia* 686: 1-14.

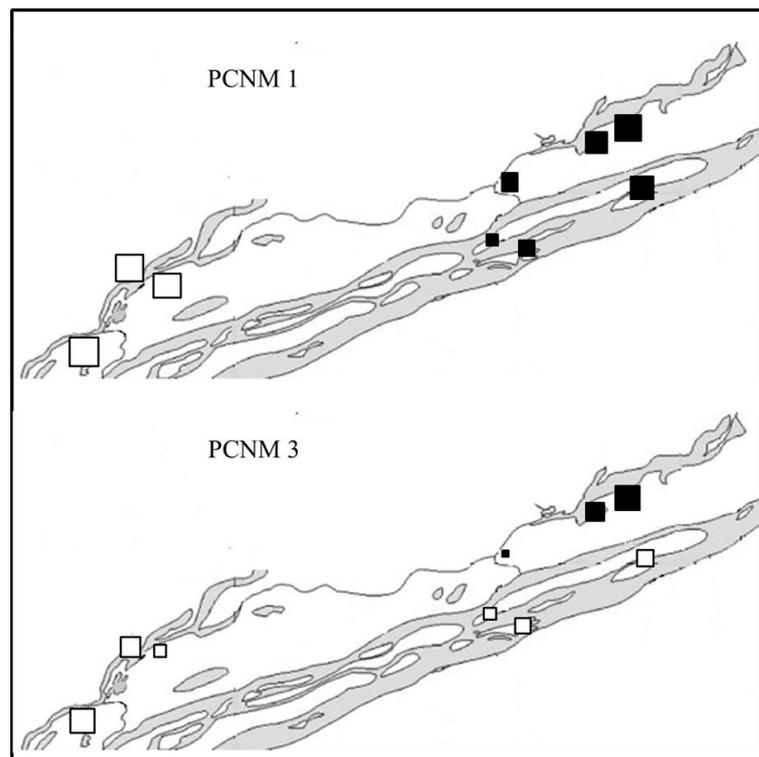
- Sarmiento, H., F. Unrein, M. Isumbisho, S. Stenuite, J. M. Gasol & J. P. Descy, 2008. Abundance and distribution of picoplankton in tropical, oligotrophic Lake Kivu, eastern Africa. *Freshwater Biology* 53: 756-771.
- Segovia, B. T., D. G. Pereira, L. M. Bini, B. R. Meira, V. S. Nishida, F. A. Lansac-Tôha & L. F. M. Velho, 2015. The role of microorganisms in a planktonic food web of a floodplain lake. *Microbial Ecology* 69: 225-233.
- Segovia, B. T., D. G. Pereira, L. M. Bini, L. F. M. Velho, 2014. Effects of bottom-up and top-down controls on the temporal distribution of planktonic heterotrophic nanoflagellates are dependent on water depth. *Hydrobiologia* 736:155-164.
- Segre H., R. Ron, N. De Malach, Z. Henkin, M. Mandel & R. Kadmon, 2014. Competitive exclusion, beta diversity, and deterministic vs. stochastic drivers of community assembly. *Ecology Letters* 17: 1400-1408.
- Shurin, J. B., K. Cottenie, & H. Hillebrand, 2009. Spatial autocorrelation and dispersal limitation in freshwater organisms. *Oecologia* 159: 151-159.
- Šimek, K., & T. H. Chrzanowski, 1992. Direct and indirect evidence of size-selective grazing on pelagic bacteria by freshwater nanoflagellates. *Applied and Environmental Microbiology* 58: 3715-3720.
- Simek, K., K. Hornak, M. Masin, U. Christak, J. Nedoma, M. G. Weinbauer & J. Dolan, 2003. Comparing the effects of resource enrichment and grazing on a bacterioplankton community. *Aquatic Microbial Ecology* 31: 123-135.
- Simões, N. R., J. D. Dias, C. M. Leal, L. D. S. M. Braghin, F. A. Lansac-Tôha & C. C. Bonecker, 2013. Floods control the influence of environmental gradients on the diversity of zooplankton communities in a neotropical floodplain. *Aquatic Sciences*, 75: 607-617.
- Soininen, J., J. J. Korhonen, J. Karhu & A. Vetterli, 2011. Disentangling the spatial patterns in community composition of prokaryotic and eukaryotic lake plankton. *Limnology and Oceanography* 56: 508-520.
- Soininen, J., J. J. Korhonen & M. Luoto, 2013. Stochastic species distributions are driven by organism size. *Ecology* 94: 660-670.
- Souffreau, C., K. Van der Gucht, I. Van Gremberghe, S. Kosten, G. Lacerot, L. M. Lobão, V. L. M. Huszar, F. Roland, E. Jeppesen, W. Vyverman & L. De Meester, 2015. Environmental rather than spatial factors structure bacterioplankton communities in shallow lakes along a > 6000 km latitudinal gradient in South America. *Environmental Microbiology* 17: 2336-2351.
- Tarbe, A. L., F. Unrein, S. Stenuite, S. Pirlot, H. Sarmiento, D. Sinyinza & J. P. Descy, 2011. Protist herbivory: a key pathway in the pelagic food web of Lake Tanganyika. *Microbial Ecology*, 62: 314-323.

- Thomaz, S.M., L.M. Bini & R.L. Bozelli, 2007. Floods increase similarity among aquatic habitats in river-floodplain systems. *Hydrobiologia* 579: 1-13.
- Tikhonenkov, D. V., A. P. Mylnikov, Y. C. Gong, W. S. Feng & Y. Mazei, 2012. Heterotrophic flagellates from freshwater and soil habitats in subtropical China (Wuhan Area, Hubei Province). *Acta Protozoologica* 51: 1-65.
- Tockner, K., D. Pennetzdorfer, N. Reiner, F. Schiemer & J. V. Ward, 1999. Hydrological connectivity, and the exchange of organic matter and nutrients in a dynamic river-floodplain system (Danube, Austria). *Freshwater Biology* 41: 521-535.
- Van der Gucht, K., K. Cottenie, K. Muylaert, N. Vloemans, S. Cousin, S. Declerck, E. Jeppesen, J. M. Conde-Porcuna, K. Schwenk, G. Zwart, H. Dega, W. Vyverman & L. De Meester, 2007. The power of species sorting: Local factors drive bacterial community composition over a wide range of spatial scales. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104: 20404-20409.
- 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 Sciences* 37: 130-137.
- Vaqué, D. & M. L. Pace, 1992. Grazing on bacteria by flagellates and cladocerans in lakes of contrasting food-web structure. *Journal of Plankton Research* 14: 307-321.
- Velho, L. F. M., L. M. Bini & F. A. Lansac-Tôha, 2004. Testate amoeba (Rhizopoda) diversity in plankton of the Upper Paraná River floodplain, Brazil. *Hydrobiologia* 523: 103-111.
- Warfe, D. M., N. E. Pettit, D. M. Warfe, P. M. Davies, B. J. Pusey, S. K. Hamilton, M. J. Kennard, S. A. Townsend, P. Bayliss, D. P. Ward, M. M. Douglas, M. A. Burford, M. Finn, Bunn S. E. & I. A. Halliday, 2011. The 'wet-dry' in the wet-dry tropics drives river ecosystem structure and processes in northern Australia. *Freshwater Biology* 56: 2169-2195.
- Warfe, D. M., N. E. Pettit, R. H. Magierowski, B.J. Pusey, P. M. Davies, M. M. Douglas & S. E. Bunn, 2013. Hydrological connectivity structures concordant plant and animal assemblages according to niche rather than dispersal processes. *Freshwater Biology* 58: 292-305.
- Weitere, M. & H. Arndt, 2002. Water discharge-regulated bacteria-heterotrophic nanoflagellate (HNF) interactions in the water column of the River Rhine. *Microbial Ecology* 44: 19-29.
- Whittaker, R. H., 1960. Vegetation of the Siskiyou mountains, Oregon and California. *Ecological Monographs* 30: 279-338.
- Winegardner, A. K., B. K. Jones, I. S. Ng, T. Siqueira & K. Cottenie, 2012. The terminology of metacommunity ecology. *Trends in Ecology and Evolution* 27: 253-254.

MATERIAIS SUPLEMENTARES

Apêndice A: Média, mínimo (Min) e máximo (Max) valores das variáveis ambientais do sistema rio-planície de inundação do alto rio Paraná em cada tipo de ambiente.

Variáveis ambientais	Lagoas isoladas			Lagoas conectadas			Ambientes lóticos		
	Média	Min	Max	Média	Min	Max	Média	Min	Max
Temperatura (°C)	23,2	19,6	25,7	24,4	22,1	26,2	25,1	22,0	26,4
pH	6,6	5,9	7,7	6,4	5,7	7,3	6,7	6,2	7,5
Condutividade (µS/cm)	37,3	12,4	89,1	39,4	19,2	57,6	36,4	21,2	57,1
Turbidez (NTU)	39,8	6,3	159,2	23,4	6,6	48,0	14,5	0	36,6
Oxigênio dissolvido (mg/L)	5,7	3,5	7,1	5,9	4,3	7,8	6,8	6,1	7,9
Profundidade (cm)	142	20	290	222,8	45,0	365,0	336	230	450
Densidade de HB (cels/mL)	$1,2 \times 10^6$	$4,2 \times 10^5$	$2,5 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6$	$7,1 \times 10^5$	$2,2 \times 10^6$	$5,8 \times 10^5$	$3,8 \times 10^5$	$8,3 \times 10^5$
Densidade de PPP (cels/mL)	$1,7 \times 10^5$	$6,7 \times 10^4$	$4,4 \times 10^5$	$2,2 \times 10^5$	$1,7 \times 10^4$	$5,1 \times 10^5$	$5,9 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$	$1,2 \times 10^5$



Apêndice B. Mapas interativos que representam as variáveis espaciais (PCNM) de larga escala selecionadas nas lagoas isoladas, como indicativo de limitação de dispersão. Quadrados indicam a localização das lagoas amostradas. Quadrados preenchidos: valores positivos; quadrados vazios representa valores negativos. O tamanho dos símbolos representam os valores absolutos.