

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

FELIPE RAFAEL DE OLIVEIRA

**Efeito do rotífero exótico *Kellicottia bostoniensis* (Rousselet, 1908) sobre os componentes da teia alimentar microbiana**

Maringá  
2018

FELIPE RAFAEL DE OLIVEIRA

**Efeito do rotífero exótico *Kellicottia bostoniensis* (Rousselet, 1908) sobre os componentes da teia alimentar microbiana**

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  
Área de concentração: Ciências Ambientais

Orientador: Dr. Luiz Felipe Machado Velho

Maringá  
2018

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

O48e Oliveira, Felipe Rafael de, 1991-  
Efeito do rotífero exótico *Kellicottia bostoniensis* (Rousselet, 1908) sobre os componentes da teia alimentar microbiana / Felipe Rafael de Oliveira. -- Maringá, 2018. 36 f. : il.

Dissertação (mestrado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais)-- Universidade Estadual de Maringá, Dep. de Biologia, 2018.  
Orientador: Dr. Luiz Felipe Machado Velho.

1. *Kellicottia bostoniensis* (Rousselet, 1908) - Comportamento alimentar. 2. Rotíferos exóticos. 3. Invasão de espécies - Teia alimentar microbiana. 4. Predação, Efeito de. 5. Interações tróficas. I. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Biologia. Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais.

CDD 23. ed. -592.52153  
NBR/CIP - 12899 AACR/2

FELIPE RAFAEL DE OLIVEIRA

**Efeito do rotífero exótico *Kellicottia bostoniensis* (Rousselet, 1908) sobre os componentes da teia alimentar microbiana**

Dissertação apresentado 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 (Presidente)

Dr.<sup>a</sup> Janet Higuti  
Nupélia/Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Prof. Dr. Nadson Ressayé Simões da Silva  
Universidade Federal do Sul da Bahia (UFSB)

Aprovado em: 05 de março de 2018.

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

*A minha família que sempre acreditou em mim...*

## AGRADECIMENTOS

- ✓ Agradeço primeiramente a Deus, por me proporcionar tantos momentos maravilhosos durante meu Mestrado e por sempre se fazer presente nos momentos mais desesperadores;
- ✓ A minha família pelo apoio e, em especial a minha mãe, que não mediu esforços em ajudar-me durante esses dois anos em que me dediquei aos estudos;
- ✓ Ao meu orientador, grande amigo e xará Fe! Pelo carinho, atenção, conselhos e preocupação, por sua ética profissional, pelos “puxões de orelha”, pelo incentivo, pelas dicas e especialmente por sua paciência... Enfim, muito obrigado por tudo Professor;
- ✓ Aos colegas e amigos do Laboratório de Ecologia de Protozooplâncton, em especial ao Nando e a Bia (Biazinha), duas pessoas incríveis, que não sei como agradecer por toda a ajuda e paciência prestada a mim. Vocês são demais!
- ✓ A Bia Trevizan (Biazona), por todo apoio, ajuda e incentivo e, por sempre estar por perto, mesmo estando longe. Agradeço imensamente a você!
- ✓ A Luciane por sempre estar junto nos momentos de desespero, por toda a ajuda e atenção dedicada a mim e, pela agilidade em cortar minhas vírgulas excessivas durante a escrita desta dissertação. A Cláudia, que mesmo tendo tantos afazeres, não negou auxílio durante a análise laboratorial;
- ✓ A todos meus amigos e companheiros de jornada, da turma de Mestrado 2015/2018 do PEA, pela união e pelo trabalho conjunto. Aos amigos dos “Campos Gerais” pelo companheirismo e por tornarem meus dias em Maringá sempre mais agradáveis e a todos os demais amigos que conheci durante esse período;
- ✓ Aos professores do Programa de Pós Graduação do PEA por toda a atenção e conhecimento transmitido;
- ✓ As secretárias do PEA e do Nupélia, Aldenir, Beti, Jocemara e Marlize e aos bibliotecários Salete e João pela paciência e simpatia;
- ✓ A UEM, ao PEA e ao Nupélia pela disponibilidade de infraestrutura e por abrirem suas portas, proporcionando tantos momentos agradáveis;
- ✓ Ao Tião, Alfredo e João Dirço pelo auxílio na coleta da água em Porto Rico;
- ✓ A Capes pelo apoio e financiamento de minha pesquisa;
- ✓ Enfim, a todas as pessoas que de uma maneira ou de outra, direta ou indiretamente, participaram na construção deste grande sonho que agora se realiza.

*“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”*

**José de Alencar**

## **Efeito do rotífero exótico *Kellicottia bostoniensis* (Rousselet, 1908) sobre os componentes da teia alimentar microbiana**

### **RESUMO**

A introdução de espécies pode alterar a estrutura e dinâmica das comunidades biológicas com as quais elas interagem e, assim, é de relevante interesse conhecer o seu comportamento alimentar e os efeitos que uma espécie exótica pode causar na configuração das teias alimentares. O objetivo desse estudo foi investigar, por meio da realização de um experimento, os efeitos do potencial invasor *Kellicottia bostoniensis* sobre diferentes componentes na teia alimentar microbiana, e averiguar se as preferências alimentares da espécie se alteram em distintas condições de disponibilidade de recursos e interações interespecíficas. A hipótese testada foi que a presença de *K. bostoniensis* causará efeitos diretos e indiretos sobre os distintos componentes da teia alimentar planctônica. Para tal, foram designados 3 diferentes ensaios por fracionamento de tamanho dos organismos, onde cada um foi composto por um controle na ausência de *K. bostoniensis* e um tratamento com a presença da espécie. Os resultados mostraram que *K. bostoniensis* causou efeitos diretos sobre seus principais itens alimentares, que foram os protozoários flagelados heterotróficos e autotróficos, mas não foram observados efeitos indiretos sobre a base da teia microbiana, como bactérias heterotróficas e picofitoplâncton. Além disso, foi verificado um efeito negativo da espécie exótica sobre os ciliados. Finalmente, destaca-se que o impacto de *K. bostoniensis* no ecossistema aquático pode ser consideravelmente maior, uma vez que a espécie pode atuar como um sumidouro de matéria e energia para níveis tróficos superiores.

**Palavras-chave:** Invasão de espécies. Elo microbiano. Água doce. Protistas. Cascata trófica. Predação. Interações ecológicas.

## **Effect of the exotic rotifer *Kellicottia bostoniensis* (Rousselet, 1908) on the microbial food web components**

### ***ABSTRACT***

Species introduction can alter the structure and dynamics of biological communities and, therefore, understanding their feeding behavior and the effects that an exotic species can cause in the food webs configuration is pivotal. We aimed to experimentally investigate the effects of the potential invasive species *Kellicottia bostoniensis* on different components of the microbial food web, and to evaluate if the food preferences of this species change under different conditions of resource availability and interspecific interactions. We tested the hypothesis that the presence of *K. bostoniensis* would have direct and indirect effects on the different components of the planktonic food web. We designed three different experiments using prey size fractionation, each one composed of a control in the absence of *K. bostoniensis* and a treatment with the presence of this species. Results showed that *K. bostoniensis* caused direct effects on its main food items, the heterotrophic and autotrophic flagellates, whereas no evidence of indirect effects was observed on the base components of the microbial web food, such as heterotrophic bacteria and picophytoplankton. In addition, a negative effect of the exotic rotifer on ciliates was observed. Finally, we emphasize that the impact of *K. bostoniensis* on aquatic ecosystem may be quite harmful, since this specie can act as a sink of matter and energy to higher trophic levels.

**Keywords:** Species invasion. Microbial loop. Freshwater. Protist. Trophic cascade. Grazing. Ecological interactions.

Dissertação elaborada e formatada conforme as normas da publicação científica *Aquatic Microbial Ecology*. Disponível em: <http://www.int-res.com/journals/guidelines-for-authors/author-guidelines/>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>12</b>
2.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	12
2.2 AMOSTRAGEM E ANÁLISE LABORATORIAL .....	14
2.2.1 <i>Bactérias e picofitoplâncton</i> .....	14
2.2.2 <i>Flagelados autotróficos e heterotróficos</i> .....	15
2.2.3 <i>Ciliados e zooplâncton</i> .....	15
2.2.4 <i>Kellicottia bostoniensis</i> .....	16
2.3 ANÁLISE DE DADOS .....	16
<b>3 RESULTADOS .....</b>	<b>17</b>
<b>4 DISCUSSÃO .....</b>	<b>22</b>
<b>5 CONCLUSÃO.....</b>	<b>26</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>28</b>
APÊNDICE A - Análises de variância unifatoriais ( <i>One-Way ANOVA</i> ) para as mudanças... ..	34
APÊNDICE B - Análises de variância unifatoriais ( <i>One-Way ANOVA</i> ) e teste <i>post-hoc</i> ... ..	35
APÊNDICE C - Análises de variância unifatoriais ( <i>One-Way ANOVA</i> ) e teste <i>post-hoc</i> ... ..	36

## 1 INTRODUÇÃO

Devido à crescente globalização e consequente aumento do comércio internacional, espécies exóticas são introduzidas, intencional ou não intencionalmente, em locais onde não encontram predadores e competidores naturais, tornando-se, muitas vezes, mais eficientes no uso dos recursos do que as espécies nativas (Meyerson & Mooney 2007). Desse modo, representam uma das ameaças mais significativas para a perda de biodiversidade do planeta (Elton 1958, Vitousek et al. 1996), para a conservação das comunidades e ecossistemas naturais (DiCatri 1990, Rocha et al. 2005), além de causarem expressivos prejuízos econômicos (Vitousek et al. 1996, Hall & Mills 2000).

A introdução de espécies exóticas em águas continentais é bastante documentada na literatura (Darrigran & Ezcurra de Drago 2000, Zambrano et al. 2006, Sousa 2011, Jati et al. 2014) e os meios pelos quais estas espécies alcançam novos ambientes são os mais variados (Padilla & Williams 2004). Em ambientes aquáticos a atividade pesqueira é considerada um importante meio de dispersão e um dos principais responsáveis pela introdução de novas espécies incluindo microrganismos (Delariva & Agostinho 1999). Por exemplo, em tanques de aquicultura, o escape durante o manejo e principalmente o rompimento ou transbordamento em épocas de elevada precipitação, contribuem para que as espécies alcancem outros ambientes (Orsi & Agostinho 1999). Além disso, o aquarismo, que tem comércio aberto para compra de espécies ornamentais em muitos países (Padilla & Williams 2004), bem como a modificação de ciclos naturais pela atividade antrópica, como o represamento de rios (Vitousek et al. 1996), representam uma potencial ameaça às comunidades aquáticas (Padilla & Williams 2004). No caso de barragens, o represamento pode beneficiar a colonização de espécies invasoras, muitas vezes favorecendo sua permanência no ambiente (Havel et al. 2005).

Entretanto, dentre as vias acidentais de introdução de espécies, o mecanismo mais conhecido é por meio da água de lastro dos navios, responsável pela transferência de espécies não nativas, entre os ecossistemas aquáticos intercontinentais (Williams et al. 1988, Lavoie et al. 1999, Padilla & Williams 2004, Strayer 2010). Por exemplo, existem evidências de que a espécie de rotífero *Kellicottia bostoniensis* (Rousselet 1908), nativa da América do Norte, tenha chegado a novos ambientes, principalmente na Europa, a partir de descargas de água de lastro nos portos e se dispersado entre os ambientes por meio de atividades pesqueiras (Arnemo et al. 1968), ou até mesmo pela dispersão de seus ovos de resistência por aves migratórias (Lopes et al. 1997).

O primeiro registro de *K. bostoniensis* fora de seu local de origem foram relatados por Carlin (1943), em um lago na Suécia (Armeno et al. 1968) e a partir de então, a espécie tem sido registrada em vários outros países (Leentvaar 1961, Eloranta 1988, Balvay 1994, José de Paggi 2002, Zhdanova & Dobrynin 2011, Vezhnavets & Litvinova 2015). No Brasil, sua primeira ocorrência foi registrada por Lopes et al., (1997), no reservatório de Segredo, no estado do Paraná. Mais tarde, a espécie foi registrada em outros estados e em diferentes tipos ambientes aquáticos (Lucinda et al. 2004, Landa et al. 2008, Peixoto et al. 2010, Bomfim et al. 2015). Apesar de vários registros dessa espécie no Brasil e no mundo (Landa et al. 2008), seu impacto sobre comunidades naturais de ecossistemas aquáticos de água doce ainda é pouco conhecido (Josefsson & Andersson 2001).

Levando em conta que todas as possíveis interações de *K. bostoniensis* com outros componentes da teia alimentar planctônica podem afetar a utilização dos seus recursos alimentares, é possível que esse efeito seja variável dependendo da configuração da teia alimentar em que essa espécie estará inserida, uma vez que o limite de alcance trófico de uma espécie é normalmente regulado pela intensidade de interações, como competição intra e interespecíficas (Gillespie 2009, Godsoe et al. 2017). Por exemplo, a expansão do nicho devido à “liberação ecológica” pode acontecer quando uma espécie proveniente de um ambiente com elevada competição coloniza novos *habitats* com menos competidores e, desse modo, a espécie pode adotar um hábito mais generalista, e ampliar sua gama de itens alimentares (Gillespie 2009, Bolnick et al. 2010). Por outro lado, se a invasão ocorre em um ambiente com presença de competidores, a espécie poderá apresentar maior seletividade por algum tipo de recurso, adotando um hábito alimentar mais especialista, o que provavelmente ocorrerá devido à sobreposição de nicho (Pianka 1974, Roughgarden 1974). No último caso, se a competição por alimento ocorre de forma muito intensa, a baixa abundância de recursos alimentares pode levar as espécies a se tornarem menos seletivas, de forma que para suprir suas necessidades energéticas, consomem os itens alimentares em maior abundância e mais disponíveis a seu consumo (Bolnick et al. 2010).

O comportamento de uma nova espécie introduzida pode criar mudanças no uso dos recursos que rapidamente reestruturam as teias alimentares e a estrutura das comunidades biológicas (Kondoh 2003), além de desequilibrar a dinâmica da comunidade zooplânctônica. (José de Paggi 2002, Bayanov 2014, Bomfim et al. 2016). Nos ecossistemas aquáticos, desde que surgiram os conceitos de teia alimentar microbiana (Pomeroy 1974) e do loop microbiano (Azam

et al. 1983), o estudo das interações entre seus componentes foram reconhecidos como de fundamental importância para compreender as teias alimentares, dada a sua importância para a ciclagem de nutrientes, acúmulo de biomassa e fluxo de carbono (Weisse 2002). Assim, visto que tem sido demonstrado que *K. bostoniensis* pode estar mais intimamente ligada à teia alimentar microbiana, por meio do consumo de bactérias heterotróficas, picofitoplâncton e nanoflagelados heterotróficos e autotróficos (Bogdan et al. 1980, Jenkins & Buikema 1990), torna-se relevante conhecer o seu comportamento alimentar para o entendimento dos efeitos que essa espécie exótica pode causar na configuração das teias alimentares planctônicas (Moyle & Light 1996).

O objetivo desse estudo foi avaliar, por meio da realização de um experimento, os efeitos do potencial invasor *K. bostoniensis* sobre os diferentes componentes na teia alimentar microbiana de água doce, e investigar se as preferências alimentares da espécie se alteram em distintas condições de disponibilidade de recursos e interações interespecíficas. A hipótese testada foi que a presença de *K. bostoniensis* causará efeitos diretos e indiretos sobre os distintos componentes da teia alimentar planctônica. Mas especificamente, foram testadas as seguintes predições: i) *K. bostoniensis* causará um efeito negativo na abundância de bactérias heterotróficas e picofitoplâncton, quando apenas estes microrganismos estiverem disponíveis como seu recurso alimentar; ii) Com a inclusão dos flagelados heterotróficos e autotróficos, haverá uma preferência alimentar de *K. bostoniensis* por esses protistas, impactando negativamente suas abundâncias. Esse declínio de flagelados, por meio de efeito indireto, acarretará em um aumento nas abundâncias de bactérias e picofitoplâncton, devido a liberação de predação; iii) Com a adição de ciliados, rotíferos e microcrustáceos, todos potenciais consumidores de bactérias, picofitoplâncton e flagelados, causará um aumento na pressão de predação sobre esses componentes microbianos, reduzindo as suas abundâncias, independentemente da presença ou ausência da espécie exótica. No entanto, com a inclusão de *K. bostoniensis*, esse efeito negativo será intensificado devido ao aumento na exploração de recursos.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL**

A água utilizada na elaboração do experimento foi coletada na lagoa Osmar, localizada na Planície de inundação do alto rio Paraná (22°46'27,9"S; 53°9'58,4"W), Brasil. Esta lagoa foi escolhida por apresentar abundâncias elevadas de *K. bostoniensis*. Foram coletados dois galões

de 20L de água que imediatamente foram transportados até o laboratório de Ecologia de Protozooplâncton, localizado no *campus* sede da Universidade Estadual de Maringá – UEM.

No laboratório, a fim de separar *K. bostoniensis* dos outros organismos zooplancetônicos, toda a água coletada foi filtrada em rede de malha de 40 $\mu$ m. A água filtrada foi reservada para compor os tratamentos do experimento e, o concentrado obtido foi triado manualmente sob microscópio óptico, separando as *K. bostoniensis* do restante da comunidade zooplancetônica. Desse processo de triagem, 2 concentrados distintos foram obtidos: 1 de *K. bostoniensis* e outro de organismos zooplancetônicos. A triagem seguiu até que a abundância de *K. bostoniensis* estivesse entre 12 a 15 indivíduos por mL do concentrado.

Para a realização do experimento alinhado, foram designados 3 diferentes ensaios, onde cada um foi composto por dois tratamentos; um controle na ausência de *K. bostoniensis* e um tratamento com a presença da espécie, todos com 5 réplicas, totalizando 30 frascos (Fig. 1). Os frascos de polietileno foram preenchidos com 600mL de água, que foi filtrada e fracionada através de malhas de diferentes tamanhos de abertura de poro.

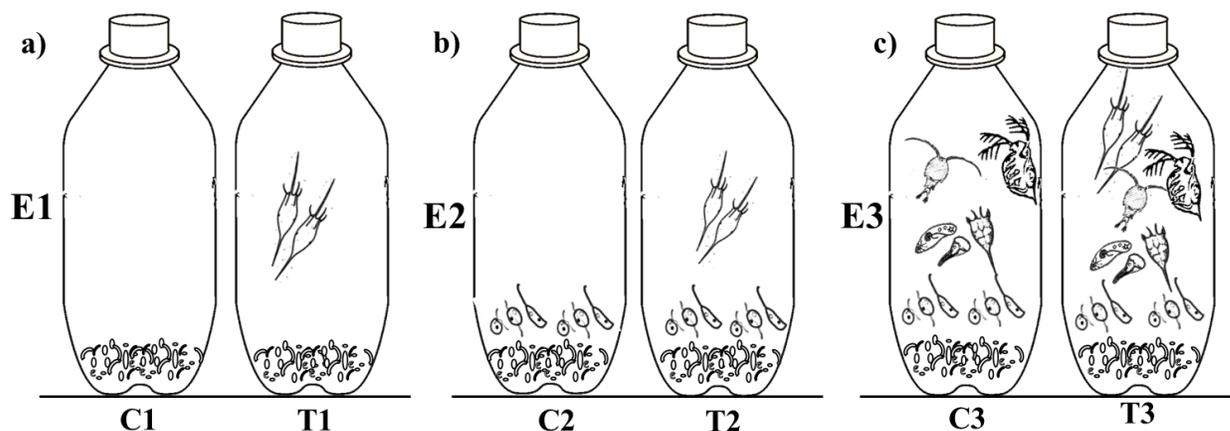


Fig. 1: Esquema da montagem do experimento. Cada ensaio (1, 2 e 3) foi composto por 5 réplicas de um tratamento controle (C) com ausência de *K. bostoniensis* e 5 réplicas de um tratamento (T) com presença do rotífero exótico, totalizando 30 frascos.

- a) No ensaio 1, o tratamento controle (C1) foi preenchido com água filtrada em filtro de fibra de vidro de 3 $\mu$ m, permitindo que apenas bactérias e picofitoplâncton estivessem presentes. O tratamento T1 seguiu o mesmo método de filtragem de C1, no entanto, indivíduos de *K. bostoniensis* foram adicionados aos frascos (Fig. 1 a).
- b) Para o ensaio 2, foi feito um controle (C2), no qual a água foi filtrada com malha de 15 $\mu$ m. Esse ensaio foi composto por organismos menores que 15 $\mu$ m, principalmente

de flagelados autotróficos e heterotróficos, além dos componentes picoplanctônicos (bactérias heterotróficas e picofitoplâncton). Para o tratamento T2, o mesmo procedimento foi adotado, porém com a presença de *K. bostoniensis* (Fig. 1 b).

- c) No ensaio 3, o controle (C3) continha todos os organismos planctônicos, incluindo ciliados, copépodes, cladóceros e rotíferos. Para o tratamento T3, foi incluído ainda *K. bostoniensis* (Fig. 1 c).

Depois de montado cada ensaio, com auxílio de uma pipeta volumétrica, indivíduos de *K. bostoniensis* (6mL do concentrado) foram adicionadas igualmente aos tratamentos experimentais (T1, T2 e T3). O mesmo procedimento foi realizado com o zooplâncton para os tratamentos C3 e T3.

O experimento foi realizado em sala climatizada com temperatura constante de 25 °C e teve duração de 24 horas, sendo 14 horas na presença de luz e 10 horas no escuro. Os frascos foram cuidadosamente homogeneizados a cada duas horas para evitar a sedimentação dos organismos.

## 2.2 AMOSTRAGEM E ANÁLISE LABORATORIAL

A fim de verificar as taxas de crescimento de cada componente das comunidades planctônicas, as amostras foram tomadas em dois tempos distintos; no tempo inicial ( $T_0$ ), logo após a montagem do experimento e no tempo final ( $T_F$ ), depois de transcorrido às 24 horas do experimento.

### 2.2.1 Bactérias e picofitoplâncton

Para estimativas de bactérias e picofitoplâncton, as amostras (5mL) foram coletadas em eppendorf com auxílio de pipeta plástica de Pasteur diretamente de cada frasco, depois de homogeneizados manualmente. As amostras foram imediatamente fixadas com formol tamponado com borato (1% concentração final) e armazenadas em freezer -80°C até a quantificação dos organismos.

A abundância de bactérias e picofitoplâncton ( $\text{cels.mL}^{-1}$ ) foram estimadas em um citômetro de fluxo FACSCalibur, corando 200 $\mu\text{L}$  de amostra com SYTO-13 (2 $\mu\text{L}$ ) (Molecular Probes; 2.5 $\mu\text{mol L}^{-1}$  concentração final) no escuro. As bactérias foram detectadas plotando o *side*

*scatter* (SSC) contra FL1 (fluorescência verde), e o picofitoplâncton plotando o *side scatter* (SSC) contra FL3 (fluorescência vermelha), de acordo com Gasol & Del Giorgio (2000). Os dados foram processados com o programa FlowJo V.10.

### 2.2.2 *Flagelados autotróficos e heterotróficos*

Amostras de flagelados (autotróficos e heterotróficos) (15mL) foram coletas em tubos falcon e fixadas com glutaraldeído (2% concentração final). Após a coleta, as amostras foram armazenadas em freezer.

Para estimativas de abundância de protozoários flagelados autotróficos e heterotróficos, (cels.mL<sup>-1</sup>) as amostras foram descongeladas e filtradas através de um filtro Nuclepore de polycarbonato preto de 0,8µm de abertura de poro e diâmetro de 25 mm e coradas com DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol) a 0,1% durante 15 minutos no escuro (Porter & Feig 1980). Os filtros foram montados em lâminas e armazenados no congelador. A abundância de flagelados foi determinada simultaneamente sob luz UV e os flagelados autotróficos foram separados dos heterotróficos pela cor avermelhada refletida por estes organismos quando expostos a luz verde, devido à presença de clorofila. Foram contados 50 campos por amostra com auxílio de um microscópio de epifluorescência (Olympus BX51) em aumento de 1000×.

### 2.2.3 *Ciliados e zooplâncton*

Amostras de água (600mL) para estimar a abundância de ciliados (cels.L<sup>-1</sup>) e zooplâncton (ind.L<sup>-1</sup>) foram filtradas em rede de malha de 10µm, até uma concentração 100 mL. Posteriormente as amostras foram fixadas com lugol alcalino e armazenadas no escuro até a contagem dos organismos.

Os ciliados foram contados usando câmaras de Utermöhl (10mL) sob um microscópio invertido (Olympus CK40) a uma ampliação de 400× e identificados no menor nível taxonômico possível de acordo com literatura especializada (Foissner & Berger 1996, Foissner et al. 1999)

O zooplâncton foi contado em um microscópio óptico comum (Olympus CX31), em câmaras de Sedgewick-Rafter e identificado até nível de espécie (Koste 1978, Reid 1985, El-moor Loureiro 1997).

#### 2.2.4 *Kellicottia bostoniensis*

A abundância de *K. bostoniensis* foi quantificada concomitantemente a contagem de zooplâncton, seguindo a mesma metodologia.

### 2.3 ANÁLISE DE DADOS

As mudanças líquidas na abundância (MLA) foram calculadas para as bactérias heterotróficas (HB), picofitoplâncton (PPP), nanoflagelados autotróficos (ANF) e heterotróficos (HNF), ciliados e zooplâncton de acordo com a seguinte equação, assumindo um crescimento exponencial:

$$\mu = (\ln N_F - \ln N_0)/t$$

Onde  $t$  é o tempo de incubação (24 h),  $\ln N_F$  é logaritmo natural da abundância dos organismos no final do experimento (após 24 horas),  $\ln N_0$  é o logaritmo natural da abundância dos organismos no início do experimento (0h).

Análises de variância unifatoriais (*one-way* ANOVAs) foram usadas para testar diferenças nas MLA de cada componente da teia alimentar microbiana. Assim, essa análise foi utilizada para comparar as MLA dentro de cada ensaio entre os distintos tratamentos (controle (C) na ausência de *K. bostoniensis* e tratamento (T) na presença da espécie exótica). Além disso, para verificar diferenças na MLA dentro de cada tipo de tratamentos (C e T) nos diferentes ensaios (E1, E2 e E3), também foram utilizadas análises de variância unifatoriais, aplicando o teste *post hoc* de Tukey, para todas essas análises, foram verificados os pressupostos de normalidade e homocedasticidade e foram considerados valores significativos quando  $p < 0,05$ . As análises estatísticas foram realizadas no programa STATISTICA versão 7.1 (StatSoft 2005).

Por fim, foi calculado o tamanho do efeito causado por *K. bostoniensis* em cada componente da teia alimentar planctônica em seus respectivos ensaios, de acordo com a equação.

$$\bar{x}MLA_{com}(T) - \bar{x}MLA_{com}(C)$$

Onde  $\bar{x}MLA_{com}$  representa a média líquida de abundância do componente planctônico analisado, **T** é o Tratamento na presença de *K. bostoniensis* e **C**, o controle, na ausência desta espécie.

### 3 RESULTADOS

A densidade de *K. bostoniensis* se manteve praticamente inalterada entre o tempo inicial e final nos respectivos tratamentos, com valores médios de 125 ind.L<sup>-1</sup>. Os valores médios de abundância para cada comunidade analisada ao início (0 hora) e ao final do experimento (24 horas) estão sumarizados nas tabelas 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1 – Abundâncias médias das comunidades microbianas e de zooplâncton em cada tratamento em seus respectivos ensaios, no início dos experimentos (0 hora). SD= desvio padrão; HB= bactérias heterotróficas; PPP= picofitoplâncton; HNF= nanoflagelados heterotróficos, ANF=nanoflagelados autotróficos.

	Ensaio											
	E1 (< 3 µm)				E2 (<10 µm)				E3 (total)			
	Controle		Tratamento		Controle		Tratamento		Controle		Tratamento	
	Média	SD	Média	SD	Média	SD	Média	SD	Média	SD	Média	SD
HB (cels.mL <sup>-1</sup> )	6,59x10 <sup>6</sup>	278922	6,84x10 <sup>6</sup>	530939,3038	4,23x10 <sup>6</sup>	163194	5,04x10 <sup>6</sup>	576271	3,62x10 <sup>6</sup>	269691	3,85x10 <sup>6</sup>	267803
PPP (cels.mL <sup>-1</sup> )	1,23x10 <sup>4</sup>	3686	1,29x10 <sup>4</sup>	1200	2,51x10 <sup>4</sup>	1248	2,24x10 <sup>4</sup>	1152	2,30x10 <sup>4</sup>	2151	2,12x10 <sup>4</sup>	240
HNF (cels.mL <sup>-1</sup> )	-	-	-	-	3,27x10 <sup>2</sup>	48	3,75x10 <sup>2</sup>	54	3,21x10 <sup>2</sup>	133	4,11x10 <sup>2</sup>	56
ANF (cels.mL <sup>-1</sup> )	-	-	-	-	1,66x10 <sup>2</sup>	35	1,82x10 <sup>2</sup>	40	1,67x10 <sup>2</sup>	101	2,32x10 <sup>2</sup>	31
CILIADOS (ind.L <sup>-1</sup> )	-	-	-	-	-	-	-	-	9,50x10 <sup>2</sup>	0	1,05x10 <sup>3</sup>	230
ZOOPLÂNCTON (ind.L <sup>-1</sup> )	-	-	-	-	-	-	-	-	1,75x10 <sup>3</sup>	456	2,25x10 <sup>3</sup>	405

Tabela 2 – Abundâncias médias das comunidades microbianas e de zooplâncton em cada tratamento em seus respectivos ensaios, no final dos experimentos (24 horas). SD= desvio padrão; HB= bactérias heterotróficas; PPP= picofitoplâncton; HNF= nanoflagelados heterotróficos, ANF=nanoflagelados autotróficos.

	Ensaio											
	E1 (< 3 µm)				E2 (<10 µm)				E3 (total)			
	Controle		Tratamento		Controle		Tratamento		Controle		Tratamento	
	Média	SD	Média	SD	Média	SD	Média	SD	Média	SD	Média	SD
HB (cels.mL <sup>-1</sup> )	1,07x10 <sup>7</sup>	2381462	1,09x10 <sup>7</sup>	1250504	3,17x10 <sup>6</sup>	651646	3,84x10 <sup>6</sup>	440136	1,55x10 <sup>6</sup>	148298	1,65x10 <sup>6</sup>	248542
PPP (cels.mL <sup>-1</sup> )	7,67x10 <sup>3</sup>	1006	7,98x10 <sup>3</sup>	595	1,16x10 <sup>4</sup>	980	9,64x10 <sup>3</sup>	1024	9,62x10 <sup>3</sup>	243	8,55x10 <sup>3</sup>	2456
HNF (cels.mL <sup>-1</sup> )	-	-	-	-	3,70x10 <sup>2</sup>	88	3,05x10 <sup>2</sup>	49	9,82x10 <sup>1</sup>	41	1,07x10 <sup>2</sup>	42
ANF (cels.mL <sup>-1</sup> )	-	-	-	-	1,61x10 <sup>2</sup>	31	8,57x10 <sup>1</sup>	22	5,36x10 <sup>1</sup>	27	5,89x10 <sup>1</sup>	22
CILIADOS (ind.L <sup>-1</sup> )	-	-	-	-	-	-	-	-	1,45x10 <sup>3</sup>	732	1,03x10 <sup>3</sup>	190
ZOOPLÂNCTON (ind.L <sup>-1</sup> )	-	-	-	-	-	-	-	-	1,40x10 <sup>3</sup>	535	1,90x10 <sup>3</sup>	271

Em relação às HB, não foram observadas diferenças significativas em suas MLAs entre os tratamentos na presença e ausência de *K. bostoniensis* dentro de cada ensaio (Fig. 2; APÊNDICE A). Por outro lado, entre os ensaios, foram verificadas diferenças significativas tanto para os controles quanto para os tratamentos, que seguiram o mesmo padrão (Fig. 2; APÊNDICES B e C), sendo os maiores valores de MLA de HB registrados no E1, apresentando valores positivos na ausência de qualquer predador. Na presença dos protistas flagelados (E2) os valores foram significativamente menores e levemente negativos, enquanto que valores ainda mais negativos

foram registrados no E3, quando todos os componentes planctônicos estavam presentes (Fig. 2; APÊNDICES B e C).

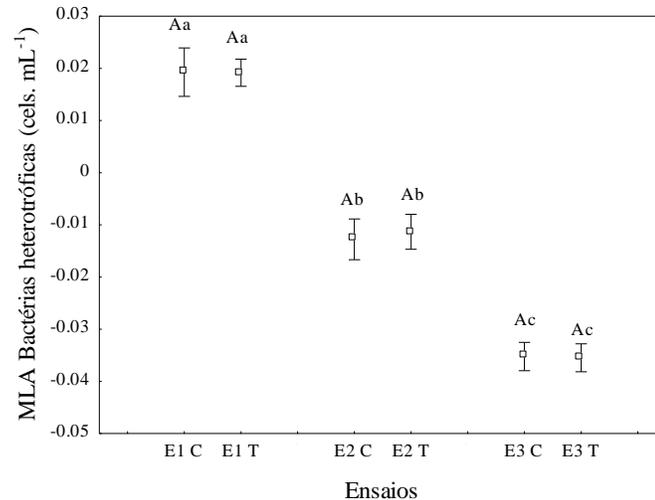


Fig. 2. Valores médios das Mudanças Líquidas na Abundância (MLA) para as HB no controle (C) e tratamento (T) em cada ensaio. As barras representam o erro padrão e as letras nas colunas indicam significância estatística. Letras maiúsculas indicam comparações entre os tratamentos dentro de cada ensaio. Letras minúsculas indicam comparações dentro de cada tratamento (C e T separadamente) entre os ensaios. Diferenças nas letras indicam significância em  $P < 0,05$ . C=controle, T=tratamento.

Da mesma forma, não foram observadas diferenças significativas nas MLAs de PPP entre os tratamentos C e T, na presença e ausência de *K. bostoniensis*, dentro de cada ensaio (Fig. 3; APÊNDICE A). Entre os ensaios, todas as MLAs apresentaram valores negativos e diferenças significativas foram observadas entre os controles nos ensaios E1 e E3, em que maiores valores foram registrados no ensaio E1. Em relação aos tratamentos com presença de *K. bostoniensis*, diferenças significativas foram verificadas entre o ensaio E1 e E2 e entre E1 e E3, sempre com maiores valores de MLA registrados no E1. Enquanto que entre o ensaio E2, quando na presença de protistas flagelados e E3 quando na presença de todos os componentes planctônicos não foram registrados diferenças significativas (Fig. 3; APÊNDICES B e C).

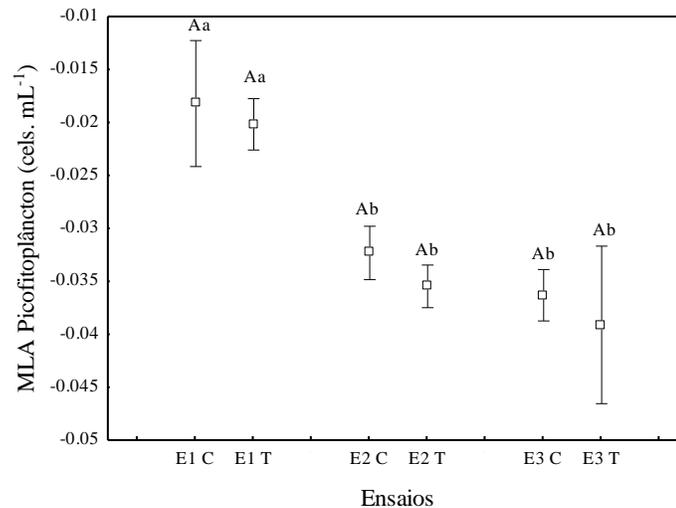


Fig. 3. Valores médios das Mudanças Líquidas na Abundância (MLA) para as PPP no controle e no tratamento, em cada ensaio. As barras representam o erro padrão e as letras nas colunas indicam significância estatística. Letras maiúsculas indicam comparações entre os tratamentos dentro de cada ensaio. Letras minúsculas indicam comparações dentro de cada tratamento (C e T separadamente) entre os ensaios. Diferenças nas letras indicam significância em  $P < 0,05$ . C=controle, T=tratamento.

Considerando as MLAs de protistas flagelados, HNF e ANF, foram observados valores significativos para ambos os componentes flagelados entre os tratamentos C e T, no ensaio E2. (Fig. 4 A e B; APÊNDICE A). Ambos os flagelados apresentaram valores de MLA positivos na ausência de *K. bostoniensis*, enquanto que, na presença desta espécie, os valores foram negativos. Neste sentido, a presença da espécie exótica ocasionou uma redução significativa nestes dois componentes, diferentemente do observado no E3, no qual a presença da espécie não ocasionou uma depleção dos componentes flagelados. Quando o controle e o tratamento foram analisados separadamente, ambos componentes flagelados apresentaram diferenças significativas nas MLAs entre os ensaios, com maiores valores registrados para E2 (Fig. 4 A e B; APÊNDICES B e C).

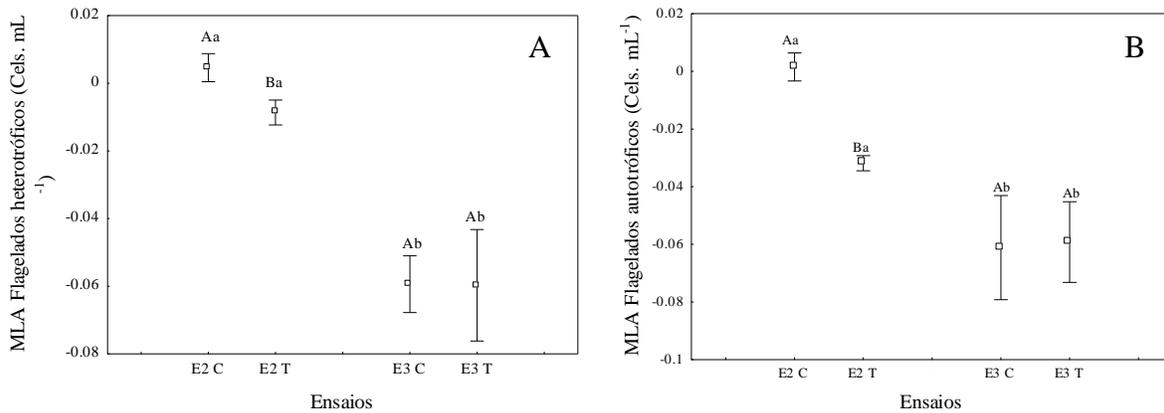


Fig. 4. Valores médios das Mudanças Líquidas na Abundância (MLA) para as HNF (A) e ANF (B) no controle e no tratamento, em cada ensaio. As barras representam o erro padrão e as letras nas colunas indicam significância estatística. Letras maiúsculas indicam comparações entre os tratamentos dentro de cada ensaio. Letras minúsculas indicam comparações dentro de cada tratamento (C e T separadamente) entre os ensaios. Diferenças nas letras indicam significância em  $P < 0,05$ . C=controle, T=tratamento.

Considerando a MLA de protistas ciliados, foi observada uma alta tendência negativa para o tratamento onde a espécie exótica esteve inserida, em relação ao controle, no entanto, esta tendência não apresentou significância estatística. Assim, maiores valores foram observados na ausência de *K. bostoniensis* (Figura 5; APÊNDICE A).

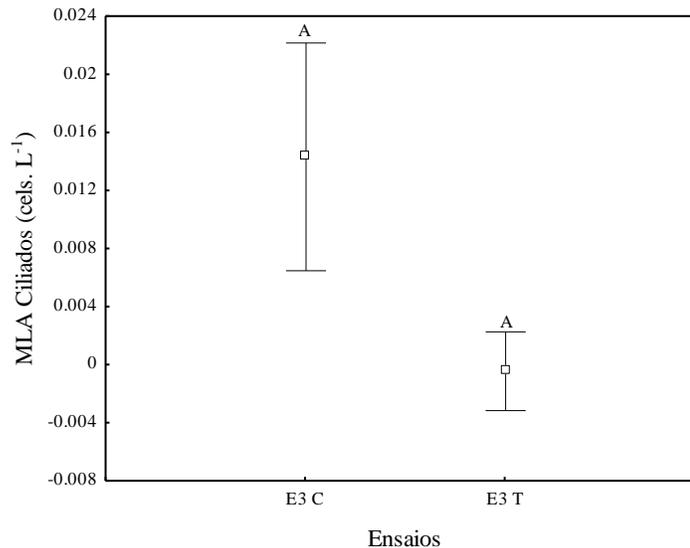


Fig. 5. Valores médios das Mudanças Líquidas na Abundância (MLA) para ciliados no controle e no tratamento, no ensaio 3. As barras representam o erro padrão e as letras nas colunas indicam significância estatística. Diferenças nas letras indicam significância em  $P < 0,05$ . C=controle, T=tratamento.

Quanto a MLA da comunidade zooplancônica não foram observadas diferenças significativas (Fig. 6; APÊNDICE A).

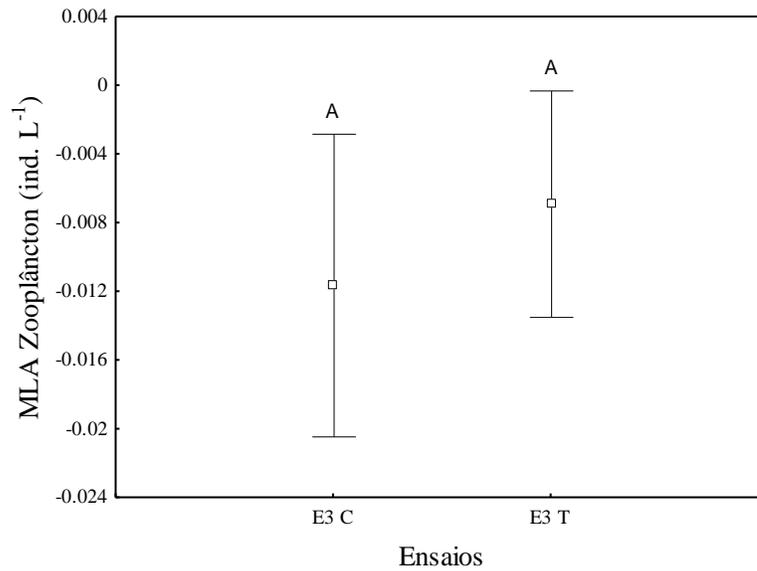


Fig. 6. Valores médios das Mudanças Líquidas na Abundância (MLA) para zooplâncton no controle e no tratamento, no ensaio 3. As barras representam o erro padrão e as letras nas colunas indicam significância. Diferenças nas letras indicam significância em  $P < 0,05$ . C=controle, T=tratamento.

Em relação ao tamanho do efeito causado por *K. bostoniensis* sobre os componentes planctônicos, foi observado que para HB e PPP, o efeito causado pela espécie estudada foi praticamente nulo nos distintos ensaios. Por outro lado, no ensaio E2, um grande efeito negativo foi observado sobre protistas flagelados, especialmente para ANF. No entanto, o efeito sobre esses componentes foi aparentemente nulo no ensaio E3. Por fim, no ensaio E3, protistas ciliados apresentaram um grande efeito negativo na presença *K. bostoniensis* e a comunidade zooplanctônica permaneceu praticamente inalterada (Fig. 7).

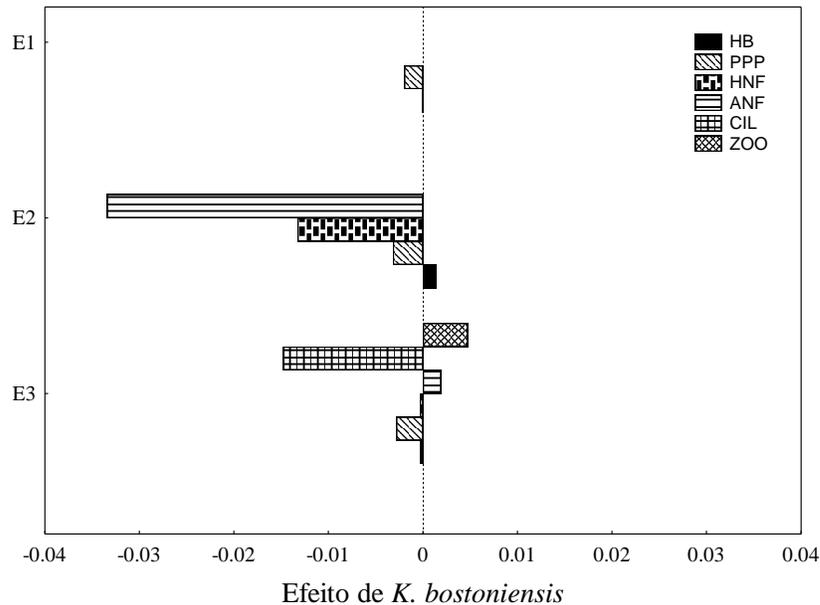


Fig. 7: Tamanho do efeito causado pela espécie *K. bostoniensis* nos diferentes componentes planctônicos em cada ensaio do experimento. Barras à esquerda (negativas) representam efeito negativo causado pela espécie. Barras à direita (positivas) representam efeito positivo da espécie. HB=bactérias heterotróficas; PPP= picofitoplâncton e HNF=nanoflagelados heterotróficos; ANF=nanoflagelados autotróficos; CIL=ciliados; ZOO=zooplâncton.

#### 4 DISCUSSÃO

A preferência alimentar de *K. bostoniensis* não se alterou nos diferentes ensaios do experimento, como era esperado. Neste estudo, foram observadas preferências em consumir protistas flagelados, especialmente os autotróficos. Apesar de *K. bostoniensis* ser reconhecida por apresentar hábito alimentar generalista (Gilbert 1980, Starkweather & Bogdan 1980, Jenkins & Buikema 1990, Arndt 1993).

Os resultados obtidos no ensaio E1, quando somente HB e PPP estavam disponíveis como recursos alimentar, sem qualquer competidor foi encontrado que, aparentemente nenhum desses dois componentes planctônicos se constitui como item preferencial na dieta de *K. bostoniensis*. Os rotíferos, de forma geral, apresentam comportamento generalista, consomem variados recursos alimentares e apresentam taxas de consumo e habilidades de assimilação bastante distintas (Bogdan & Gilbert 1984, Arndt 1993). Nesse sentido, embora a presença de *K. bostoniensis* não tenha causado um efeito negativo na abundância de HB e PPP, não é possível afirmar que a referida espécie não se alimente desses componentes picoplânctônicos, uma vez que alguns estudos apontaram eficiência de *K. bostoniensis* em consumir bactérias (Bogdan et al. 1980, Arndt 1993). Sanders et al. (1989) ao verificarem padrões de bacterivoria em espécies de

rotíferos com a utilização de microesferas de  $0,57\mu\text{m}$  de tamanho, observaram que as taxas de ingestão de *K. bostoniensis* foram bastante baixas quando comparadas ao estudo de Bogdan et al. (1980), que utilizaram microesferas de maior tamanho ( $1,8$  a  $3,1\mu\text{m}$ ). Tal diferença evidencia uma preferência da espécie em preda partículas maiores (Sanders et al. 1989). De fato, partículas de até  $9\mu\text{m}$  são consideradas as mais consumidas por esses organismos (Jenkins & Buikema 1990). Além disso, as altas taxas de crescimento, características de HB e PPP, podem ter compensado um possível efeito de predação sobre esses componentes (Agasild et al. 2013), pelo menos nas abundâncias de *K. bostoniensis* utilizadas neste experimento.

Quando, além dos componentes picoplanctônicos, HNF e ANF estavam disponíveis como recurso alimentar, foi verificado uma forte redução nas MLA desses flagelados, especialmente de ANF, enquanto que HB e PPP, mais uma vez, permaneceram inalterados na presença da espécie. Os flagelados autotróficos são reconhecidos como fonte adequada de alimento para rotíferos (Porriout 1977). Por exemplo, Bogdan, Gilbert e Starkweather (1980), observaram que quando *K. bostoniensis* era exposta, a três tipos de itens alimentares (separadamente), sendo uma espécie de bactéria, uma de levedura e uma de alga flagelada, embora *K. bostoniensis* tenha consumido eficientemente todos o itens analisados, as maiores taxas de ingestão aconteceram sobre o flagelado autotrófico. Essa preferência por ANF pode implicar em uma vantagem energética para a espécie uma vez que, ao se alimentar de células com capacidade de autotrofia, ou seja, de um produtor primário, pode-se reduzir o caminho de transferência e conseqüentemente reduzir perda de matéria e energia (Jones 2000).

Ainda em relação ao ensaio E2, essa preferência de *K. bostoniensis* pelos protistas flagelados, que causou decréscimo em suas abundâncias, permitiu verificar possíveis efeitos indiretos sobre as abundâncias dos componentes picoplanctônicos, devido a diminuição da predação dos flagelados sobre estes componentes. Os HNF são considerados os principais predadores de HB e PPP nos ecossistemas aquáticos (Fenchel 1982, Callieri et al. 2002, Palijan 2012, Segovia et al. 2016) e podem possuir um papel fundamental nas teias alimentares microbianas, com fortes impactos na estrutura e função das comunidades bacterianas e nos fluxos de energia e nutrientes (Jürgens et al. 1996). Além disso, uma grande parte dos flagelados autotróficos são mixotróficos, ou seja, além de fagotrofia de células bacterianas, também obtêm energia através da luz solar (Sanders 1991, Jones 2000) e mesmo com tais características, foram

observados como sendo os principais predadores bacterianos em certos períodos do ano em um lago no Norte Americano (Sanders et al. 1989).

De fato, neste experimento foi possível verificar que a presença de protistas flagelados aos tratamentos, essencialmente naqueles onde *K. bostoniensis* não estava presente, ocasionou uma forte redução dos componentes picoplanctônicos. Nesse sentido, era esperado que no tratamento com a presença de *K. bostoniensis*, a redução dos flagelados, ocasionada pelo consumo da espécie sobre este componente pudesse resultar em um aumento na abundância de picoplâncton (Dolan & Gallegos 1991). Por exemplo, no estudo realizado por Fermani et al. (2013), foi observado que um forte controle sobre os flagelados, ocasionado por uma alta dominância de rotíferos, levou a um aumento substancial na abundância bacteriana. Resultado este similar ao trabalho de Jürgens et al. (1994), os quais observaram experimentalmente, que um aumento na abundância de daphnias resultava em um decréscimo de HNF e uma maior abundância bacteriana. No entanto, neste estudo, apenas uma leve tendência de aumento da abundância bacteriana foi observada na presença de *K. bostoniensis*.

Existem numerosos mecanismos compensatórios que amortecem ou eliminam efeitos em cascata nas teias alimentares e, portanto, uma mudança em um componente trófico superior não necessariamente se propaga para baixo na teia alimentar (Pace et al. 1999). Alguns estudos mostraram que alterações na abundância zooplanctônica podem provocar efeitos sobre suas presas, mas raramente esses efeitos resultam em alterações consideráveis na base da teia microbiana (Adrian et al. 2001, Modenutti et al. 2003, Zöllner et al. 2003, Berga et al. 2015).

Quando *K. bostoniensis* estava inserida em uma teia alimentar planctônica, contendo todos os componentes, inclusive seus potenciais competidores (ensaio E3), foi verificado um efeito negativo sobre a comunidade de ciliados. Esse resultado é inesperado, uma vez que, pelos dados obtidos na literatura, este componente planctônico não se encaixa no espectro de tamanho alimentar consumido pela referida espécie (Jenkins & Buikema 1990). Dos rotíferos com capacidade em se alimentar de ciliados, a maioria provêm de espécies bentônicas, geralmente especialistas no consumo de peritríqueos, embora existam também espécies planctônicas eficientes na alimentação de ciliados como do gênero *Brachionus* e *Asplanchna* (Arndt 1993).

Uma possível explicação para esse efeito negativo sobre ciliados seria por meio de competição por exploração de recurso entre *K. bostoniensis* com os protistas ciliados, uma vez que, ambos podem compartilhar um mesmo nível trófico e recursos alimentares (Li et al. 2016).

De fato, a relação de interações entre rotíferos e ciliados em ambientes aquáticos é bastante complexa e envolve tanto competição por recursos (Reguera 1984, Li et al. 2016) quanto uma relação de predador - presa (Arndt 1993, Burian et al. 2013). Outra justificativa plausível para explicar esse efeito negativo sobre ciliados pode estar relacionada com a competição entre *K. bostoniensis* com outros organismos da comunidade zooplânctônica, que indiretamente podem ter afetado os ciliados. O zooplâncton neste estudo foi representado em sua grande maioria por rotíferos, alguns com grande potencial de predação sobre flagelados e ciliados. O gênero *Brachionus*, por exemplo, apresentou abundâncias consistentes e, mesmo possuindo preferência por protistas flagelados (Arndt 1993) são predadores efetivos de pequenos ciliados (Arndt 1993, Gilbert & Jack 1993), mas, com capacidade de se alimentar de ciliados de até 80µm (Gilbert & Jack 1993). Interações indiretas em teias tróficas surgem quando o efeito de uma espécie em outra é mediada pela ação de uma terceira espécie (Wootton 1994). Nesse sentido, é provável que esteja ocorrendo um efeito indireto de *K. bostoniensis* sobre a comunidade de ciliados, uma vez que, um aumento da predação da espécie sobre os flagelados, pode ter desencadeado uma maior competição por recursos com outros rotíferos, como os *Brachionus*, que por sua vez, passaram a se alimentar dos ciliados. No entanto, reduções e até mesmo exclusões de espécies impulsionadas pela competição, levam muito mais tempo para ocorrer quando comparadas as causadas pela predação (Davis 2003) e, ainda, os predadores podem em médio prazo, inibir o efeito negativo da população de consumo, reduzindo, por exemplo, suas próprias taxas de crescimento (Bolnick & Preisser 2005).

Além do efeito negativo em ciliados, foi possível observar que a presença de *K. bostoniensis* não causou quaisquer mudanças na MLA de sua potenciais presas, nem mesmo sobre ANF, que constituíram uma importante fonte de recurso, contrariando assim, os resultados obtidos no ensaio E2 deste experimento. É importante lembrar, que as cascatas tróficas podem se estender dos organismos superiores para os mais basais, mas geralmente podem ocorrer truncamentos em algum nível por interações compensatórias que podem atenuar os efeitos predador-presa (Hunter & Price 1992, Strong 1992, Pace et al. 1998). Sabe-se, que a compensação indireta por meio dos mecanismos de predadores alternativos é uma característica comum das teias alimentares e podem ser especialmente importante para os microrganismos (Pace et al. 1998). Ciliados são consumidores efetivos de flagelados (Weisse 1991, Sanders et al. 1994, Agasild et al. 2013), e a ausência de qualquer efeito sobre estes componentes planctônicos

sugere que *K. bostoniensis* pode estar substituindo um papel que antes era desempenhado pelos ciliados, causando dessa forma, uma estabilização dos recursos alimentares. Ou seja, a não observação de efeito em HNF e ANF, não significa que *K. bostoniensis* tenha deixado de predar estes componentes, mas sim que esse efeito esteja sendo atenuado pela queda da abundância dos ciliados. Por exemplo, Pace et al. (1998) verificaram que as respostas líquidas de flagelados em um lago nos Estados Unidos foram provavelmente estabilizadas por predadores alternativos, como ciliados e rotíferos, quando as abundâncias de cladóceros se encontravam em baixas abundâncias no ambiente. Contudo, o potencial de mudança em nível de comunidade pode não ser integralmente avaliado em experimentos de curto prazo (Pace et al. 1998). Então, com os dados obtidos neste estudo não é possível afirmar categoricamente que estes pressupostos sejam verdadeiros em sua totalidade, uma vez que, muitos fatores podem alterar essa dinâmica, como a própria variabilidade na teia alimentar e a capacidade de responder a essa variação ao longo de um gradiente temporal (McCann & Rooney 2009). Todavia, experimentos futuros, que considerem um maior período de tempo certamente poderão confirmar tais processos.

Uma vez introduzidas no ambiente, espécies exóticas podem atingir picos de abundância em períodos específicos e se tornarem muitas vezes a espécie dominante do sistema (Suriani et al. 2007, Olenina et al. 2010). Arelado a isso, o fato de *K. bostoniensis* não apresentar predadores conhecidos (Zhdanova & Dobrynin 2011) e ainda, o hábito da espécie em se alimentar de protistas flagelados, considerados um importante link de transferência de matéria e energia da teia microbiana a teia tradicional (Azam et al. 1983), levanta-se uma importante questão em relação a presença da espécie nos ambientes em que se encontram introduzidas e até mesmo naqueles em que a espécie tem potencial de alcançar. Nesse sentido, mesmo que o impacto de *K. bostoniensis* sobre os componentes microbianos das teias alimentares planctônicas não sejam diferentes daqueles exercidos por espécies nativas, seu impacto no ecossistema pode ser consideravelmente maior, uma vez que ela pode atuar como um *sink*, ou seja, um sumidouro de matéria e energia para níveis tróficos superiores.

## 5 CONCLUSÃO

A primeira predição de que *K. bostoniensis* causaria um efeito negativo na abundância de bactérias heterotróficas e picofitoplâncton, quando apenas estes microrganismos estivessem disponíveis como seu recurso alimentar foi refutada, uma vez que não foram observadas

alterações nas abundâncias dos componentes picoplanctônicos, como era esperado. Por outro lado, a segunda predição foi parcialmente corroborada, uma vez que foi verificado um forte efeito negativo sobre seus principais itens alimentares, neste caso os flagelados. Porém, efeitos indiretos da presença de *K. bostoniensis* nas MLAs dos componentes picoplanctônicos não foram observados. Em relação a terceira predição, foi observado que a adição de ciliados, rotíferos e microcrustáceos, ocasionaram uma maior pressão de predação sobre bactérias, picofitoplâncton e flagelados. Entretanto, era esperado que a adição *K. bostoniensis*, intensificasse ainda mais o efeito negativo sobre estes componentes, o que não foi observado, fazendo com esta predição fosse apenas parcialmente corroborada. Além disso, um forte efeito negativo da espécie exótica sobre os ciliados foi evidenciado, porém, como a maior parte do zooplâncton foi composto por espécies de rotíferos, não foi possível isolar o efeito exclusivo de *K. bostoniensis* sobre ciliados. Assim, seria interessante verificar em estudos futuros, a existência de um efeito direto da espécie sobre ciliados, ou se este efeito poderá ser consequência de uma maior pressão de predação exercida pelos outros componentes zooplanctônicos, quando expostos a competição com *K. bostoniensis*.

## REFERÊNCIAS

- Adrian R, Wickham S, Butler N (2001) Trophic interactions between zooplankton and the microbial community in contrasting food webs: the epilimnion and deep chlorophyll maximum of a mesotrophic lake. *Aquatic Microbial Ecology* 24:83–97
- Agasild H, Zingel P, Karus K, Kangro K, Salujõe J, Nõges T (2013) Does metazooplankton regulate the ciliate community in a shallow eutrophic lake? *Freshwater Biology* 58:183–191
- Arndt H (1993) Rotifers as predators on components of the microbial web (bacteria, heterotrophic flagellates, ciliates)? A review. *Hydrobiologia* 255–256:231–246
- Arnemo R, Berzins B, Grönberg B, Mellgren I, Gronberg B (1968) The Dispersal in Swedish Waters of *Kellicottia bostoniensis* (Rousselet) (Rotatoria). *Oikos* 19:351
- Azam F, Fenchel T, Field J, Gray J, Meyer-Reil L, Thingstad F (1983) The Ecological Role of Water-Column Microbes in the Sea. *Marine Ecology Progress Series* 10:257–263
- Balvay G (1994) First record of the rotifer *Kellicottia bostoniensis* (Rousselet, 1908) in France. *Journal of Plankton Research* 16:1071–1074
- Bayanov NG (2014) Occurrence and abundance level of *Kellicottia bostoniensis* (Rousselet, 1908) in lakes of the Nizhniy Novgorod region. *Russian Journal of Biological Invasions* 5:111–114
- Berga M, Östman Ö, Lindström ES, Langenheder S (2015) Combined effects of zooplankton grazing and dispersal on the diversity and assembly mechanisms of bacterial metacommunities. *Environmental Microbiology* 17:2275–2287
- Bogdan KG, Gilbert JJ (1984) Body size and food size in freshwater zooplankton. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 81:6427–31
- Bogdan KG, Gilbert JJ, Starkweather PL (1980) In situ clearance rates of planktonic rotifers. *Hydrobiologia* 73:73–77
- Bolnick DI, Ingram T, Stutz WE, Snowberg LK, Lau OL, Paull JS (2010) Ecological release from interspecific competition leads to decoupled changes in population and individual niche width. *Proceedings of The Royal Society B: Biological sciences* 277:1789–97
- Bolnick DI, Preisser EL (2005) Resource competition modifies the strength of trait mediated predator–prey interactions: a meta-analysis. *Ecology* 86:2771–2779
- Bomfim FDF, Mantovano T, Schwind LTF, Palazzo F, Bonecker CC, Lansac-Tôha FA (2016) Geographical spread of the invasive species *Kellicottia longispina* (Kellicott, 1879) and *K. bostoniensis* (Rousselet, 1908): A scientometric approach. *Acta Scientiarum* 38:29
- Bomfim FF, Schwind LTF, Bonecker CC, Lansac-Tôha FA (2015) Variação espacial de Rotíferos planctônicos : diversidade e riqueza de espécies. *Arquivos MUDI* 19:45–56
- Burian A, Schagerl M, Yasindi A (2013) Microzooplankton feeding behaviour: grazing on the microbial and the classical food web of African soda lakes. *Hydrobiologia* 710:61–72

- Callieri C, Karjalainen SM, Passoni S (2002) Grazing by ciliates and heterotrophic nanoflagellates on picocyanobacteria in Lago Maggiore, Italy. *Journal of Plankton Research* 24:785–796
- Darrigran G, Ezcurra de Drago I (2000) Invasion of the exotic freshwater mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia, Mytilidae) in South America. *The Nautilus* 114:69–73
- Davis MA (2003) Biotic Globalization: Does Competition from Introduced Species Threaten Biodiversity? *BioScience* 53:481
- Delariva RL, Agostinho AA (1999) Introdução de espécies: uma síntese comentada. *Acta Scientiarum* 21:255–262
- DiCatri F (1990) On invading species and invaded ecosystems: the interplay of historical chance and biological necessity. In: Castri F Di, Hansen A, Debussche M (eds) *Biological invasions in Europe and the Mediterranean Basin*, 1st edn. Springer Netherlands, Dordrecht, p 3–16
- Dolan J, Gallegos C (1991) Trophic coupling of rotifers, microflagellates, and bacteria during fall months in the Rhode River Estuary. *Marine Ecology Progress Series* 77:147–156
- El-moor Loureiro LMA (1997) *Manual de Identificação de Cladóceros Límnicos do Brasil*. Editora Universa - UCB, Brasília
- Eloranta P (1988) *Kellicottia bostoniensis* (Rousselet), a planktonic rotifer species new to Finland. *Annales Zoologici Fennici* 25:249–252
- Elton CS (1958) *The Ecology of Invasions by Animals and Plants*. Springer US, Boston, MA
- Fenchel T (1982) Ecology of Heterotrophic Microflagellates. IV Quantitative Occurrence and Importance as Bacterial Consumers. *Marine Ecology Progress Series* 9:35–42
- Fermani P, Diovisalvi N, Torremorell A, Lagomarsino L, Zagarese HE, Unrein F (2013) The microbial food web structure of a hypertrophic warm-temperate shallow lake, as affected by contrasting zooplankton assemblages. *Hydrobiologia* 714:115–130
- Foissner W, Berger H (1996) A user-friendly guide to the ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologists as bioindicators in rivers, lakes, and waste waters, with notes on their ecology. *Freshwater Biology* 35:375–482
- Foissner W, Berger H, Schaumburg J (1999) Identification and ecology of limnetic plankton ciliates. *Informations berichte des Bayerisches Landesamtes für Wasserwirtschaft, Heft 3/99*, Munich
- Gasol JM, Giorgio PA Del (2000) Using flow cytometry for counting natural planktonic bacteria and understanding the structure of planktonic bacterial communities. *Scientia Marina* 64:197–224
- Gilbert JJ (1980) Observations on the susceptibility of some protists and rotifers to predation by *Asplanchna girodi*. *Hydrobiologia* 73:87–91

- Gilbert JJ, Jack JD (1993) Rotifers as predators on small ciliates. *Hydrobiologia* 255–256:247–253
- Gillespie RG (2009) Ecological release. In: Gillespie RG, Clague DA (eds) *Encyclopedia of Islands*, 2nd edn. University of California Press, California, p 251–253
- Godsoe W, Jankowski J, Holt RD, Gravel D (2017) Integrating Biogeography with Contemporary Niche Theory. *Trends in Ecology & Evolution* 32:488–499
- Hall S, Mills EL (2000) Exotic species in large lakes of the world. *Aquatic Ecosystem Health and Management* 3:105–135
- Havel JE, Lee CE, Zanden MJ Vander (2005) Do Reservoirs Facilitate Invasions into Landscapes? *BioScience* 55:518
- Hunter MD, Price PW (1992) Playing Chutes and Ladders : Heterogeneity and the Relative Roles of Bottom-Up and Top- Down Forces in Natural Communities. *73:724–732*
- Jati S, Rodrigues L, Bortolini J, Paula A, Moresco G, Reis L, Zanco B, Train S (2014) First record of the occurrence of *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans (Dinophyceae) in the Upper Paraná River Floodplain (PR/MS), Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 74:S235–S236
- Jenkins DG, Buikema AL (1990) Response of a winter plankton food web to simazine. *Environmental Toxicology and Chemistry* 9:693
- Jones RI (2000) Mixotrophy in planktonic protists: an overview. *Freshwater Biology* 45:219–226
- José de Paggi S (2002) New Data on the Distribution of *Kellicottia bostoniensis* (Rousselet, 1908) (Rotifera: Monogononta: Brachionidae): Its Presence in Argentina. *Zoologischer Anzeiger - A Journal of Comparative Zoology* 241:363–368
- Josefsson M, Andersson B (2001) The environmental consequences of alien species in the Swedish lakes Mälaren, Hjälmaren, Vänern and Vättern. *Ambio* 30:514–21
- Jürgens K, Arndt H, Rothhaupt KO (1994) Zooplankton-mediated changes of bacterial community structure. *Microbial Ecology* 27:76–80
- Jürgens K, Wickham SA, Rothhaupt KO, Santer B (1996) Feeding Rates of Macro- and Microzooplankton on Heterotrophic Nanoflagellates. *Limnology and Oceanography* 41:1833–1839
- Kondoh M (2003) Foraging Adaptation and the Relationship Between Food-Web Complexity and Stability. *Science* 299:1388–1391
- Koste W (1978) *Rotatoria Die Rädertiere Mitteleuropas begründet von Max Voigt-monogononta*. Borntraeger, Gebrüder, Berlin
- Landa GG, Aguila LMR, Pinto-Coelho RM (2008) Distribuição espacial e temporal de *Kellicottia bostoniensis* (Rousselet, 1908) (Rotifera) em um grande reservatório tropical (reservatório de Furnas), Estado de Minas Gerais, Brasil. *Acta Scientiarum Biological*

Sciences 24:313–319

- Lavoie DM, Smith LD, Ruiz GM (1999) The Potential for Intracoastal Transfer of Non-indigenous Species in the Ballast Water of Ships. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 48:551–564
- Leentvaar P (1961) Quelques rotateurs rares observés en Hollande. *Hydrobiologia* 18:245–251
- Li J, Chen F, Liu Z, Zhao X, Yang K, Lu W, Cui K (2016) Bottom-up versus top-down effects on ciliate community composition in four eutrophic lakes (China). *European Journal of Protistology* 53:20–30
- Lopes RM, Lansac-Tôha FA, Vale R, Serafim Jr. M (1997) Comunidade zooplancônica do reservatório de segredo. In: Agostinho AA, Gomes LC (eds) *Reservatório de segredo: Bases ecológicas para o manejo*. Eduem, Maringá, p 39–54
- Lucinda I, Moreno IH, Melão MGG, Matsumura-Tundisi T (2004) Rotifers in freshwater habitats in the Upper Tietê River Basin, São Paulo State, Brazil. *Acta Limnologica Brasiliensia* 16:203–224
- McCann KS, Rooney N (2009) The more food webs change, the more they stay the same. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364:1789–1801
- Meyerson LA, Mooney HA (2007) Invasive alien species in an era of globalization. *Frontiers in Ecology and the Environment* 5:199–208
- Modenutti B, C. Q, Balseiro E, Reissig M (2003) Impact of different zooplankton structures on the microbial food web of a South Andean oligotrophic lake. *Acta Oecologica* 24:S289–S298
- Moyle PB, Light T (1996) Biological invasions of fresh water: Empirical rules and assembly theory. *Biological Conservation* 78:149–161
- Olenina I, Wasmund N, Hajdu S, Jurgensone I, Gromisz S, Kownacka J, Toming K, Vaiciute D, Olenin S (2010) Assessing impacts of invasive phytoplankton: The Baltic Sea case. *Marine Pollution Bulletin* 60:1691–1700
- Orsi ML, Agostinho A (1999) Introdução de espécies de peixes por escapes acidentais de tanques de cultivo em rios da Bacia do Rio Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 16:557–560
- Pace ML, Cole JJ, Carpenter SR (1998) Trophic Cascades and Compensation : Differential Responses of Microzooplankton in Whole- Lake Experiments. *Ecology* 79:138–152
- Pace ML, Cole JJ, Carpenter SR, Kitchell JF (1999) Trophic cascades revealed in diverse ecosystems. *Trends in Ecology and Evolution* 14:483–488
- Padilla D., Williams S. (2004) Sources of invasive species in aquatic ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment* 2:131–138
- 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

- Peixoto RS, Brandão LPM, Valadares CDF, Barbosa PMM (2010) Occurrence of *Kellicottia bostoniensis* (Rousselet, 1908) and *Mesocyclops ogunnus* (Onabamiro, 1957) in lakes of the Middle River Doce, MG, Brazil. *Acta Limnologica Brasiliensia* 22:356–360
- Pianka ER (1974) Niche Overlap and Diffuse Competition. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 71:2141–2145
- Pomeroy LR (1974) The Ocean's Food Web, A Changing Paradigm. *BioScience* 24:499–504
- Porriout R (1977) Food and feeding habits of Rotifera. *Archiv für Hydrobiologie Beihefte Ergebnisse der Limnologie* 8:243–260
- Porter KG, Feig YS (1980) The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnology and Oceanography* 25:943–948
- Reguera B (1984) The effect of ciliate contamination in mass cultures of the rotifer *Brachionus plicatilis* O. F. Müller. *Aquaculture* 40:103–108
- Reid JW (1985) Chave de identificação e lista de referências bibliográficas para as espécies continentais sulamericanas de vida livre da ordem Cyclopoida (Crustacea, Copepoda). *Boletim de Zoologia* 9:17–143
- Rocha O, Espíndola ELG, Fenerich-Verani N, Rietzler AC (2005) O problema das invasões biológicas em águas doces. In: Rocha O, Espíndola ELG, Fenerich-Verani N, Verani JR, Rietzler AC (eds) *Espécies Invasoras em águas doces: Estudos de caso e propostas de manejo*. EdUFSCar, São Carlos, p 9–12
- Roughgarden J (1974) Niche Width: Biogeographic Patterns Among Anolis Lizard Populations. *The American Naturalist* 108:429–442
- Rousselet CF (1908) Note on the rotatorian fauna of Boston, with description of *Notholca bostoniensis*. *Journal of Quekett Microscopy* 10:335–340
- Sanders RW (1991) Mixotrophic Protists In Marine and Freshwater Ecosystems. *The Journal of Protozoology* 38:76–81
- Sanders RW, Leeper DA, King CH, Porter KG (1994) Grazing by rotifers and crustacean zooplankton on nanoplanktonic protists. *Hydrobiologia* 288:167–181
- Sanders RW, Porter KG, Bennett SJ, DeBiase AE (1989) Seasonal patterns of bacterivory by flagellates, ciliates, rotifers, and cladocerans in a freshwater planktonic community. *Limnology and Oceanography* 34:673–687
- Segovia BT, Domingues CD, Meira BR, Lansac-Toha FM, Fermani P, Unrein F, Lobão LM, Roland F, Velho LFM, Sarmiento H (2016) Coupling Between Heterotrophic Nanoflagellates and Bacteria in Fresh Waters: Does Latitude Make a Difference? *Frontiers in Microbiology* 7:1–11
- Sousa WTZ (2011) *Hydrilla verticillata* (Hydrocharitaceae), a recent invader threatening Brazil's

- freshwater environments: a review of the extent of the problem. *Hydrobiologia* 669:1–20
- Starkweather PL, Bogdan KG (1980) Detrital feeding in natural zooplankton communities: Discrimination between live and dead algal foods. *Hydrobiologia* 73:83–85
- StatSoft I (2005) Statistica - data analysis software system.
- Strayer DL (2010) Alien species in fresh waters: ecological effects, interactions with other stressors, and prospects for the future. *Freshwater Biology* 55:152–174
- Strong DR (1992) Are Trophic Cascades All Wet? Differentiation and Donor-Control in Speciose Ecosystems. *Ecology* 73:747–754
- Suriani AL, França RS, Rocha O (2007) A malacofauna bentônica das represas do médio rio Tietê (São Paulo, Brasil) e uma avaliação ecológica das espécies exóticas invasoras, *Melanoides tuberculata* (Müller) e *Corbicula fluminea* (Müller). *Revista Brasileira de Zoologia* 24:21–32
- Vezhnavets V V., Litvinova AG (2015) First record of the north American rotifer *Kellicottia bostoniensis* (Rousselet, 1908) from the Sozh River, Belarus. *Russian Journal of Biological Invasions* 6:135–136
- Vitousek PM, Antonio CM, Loope LL, Westbrooks R (1996) Biological invasions as global environmental change. *American Scientist* 84:468
- Weisse T (1991) The annual cycle of heterotrophic freshwater nanoflagellates: role of bottom up versus top down control. *Journal of Plankton Research* 13:165–185
- Weisse T (2002) The significance of inter- and intraspecific variation in bacterivorous and herbivorous protists. *Beaver*:327–341
- Williams RJ, Griffiths FB, Wal EJ Van der, Kelly J (1988) Cargo vessel ballast water as a vector for the transport of non-indigenous marine species. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 26:409–420
- Wootton JT (1994) The Nature and Consequences of Indirect Effects in Ecological Communities. *Annual Review of Ecology and Systematics* 25:443–466
- Zambrano L, Martínez-Meyer E, Menezes N, Peterson AT (2006) Invasive potential of common carp (*Cyprinus carpio*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in American freshwater systems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 63:1903–1910
- Zhdanova SM, Dobrynin AE (2011) *Kellicottia bostoniensis* (Rousselet, 1908) (Rotifera: Brachionidae) in waterbodies of European Russia. *Inland Water Biology* 4:39–46
- Zöllner E, Santer B, Boersma M, Hoppe HG, Jürgens K (2003) Cascading predation effects of *Daphnia* and copepods on microbial food web components. *Freshwater Biology* 48:2174–2193

APÊNDICE A - Análises de variância unifatoriais (*One-Way ANOVA*) para as mudanças líquidas na abundância (MLA) dos componentes microbianos (HB: bactérias heterotróficas, PPP: picofitoplâncton, HNF: nanoflagelados heterotróficos, ANF: nanoflagelados autotróficos) comparando os controles (C) na ausência de *K. bostoniensis* e os tratamentos (T) na presença da mesma dentro de cada ensaio (E1, E2 e E3). Valores de P em negrito indicam significância ( $p < 0,05$ ), df = graus de liberdade, SS = soma dos quadrados, MS = quadrados médios.

<i>One-way ANOVA</i>	df	SS	MS	F value	Pr(>F)
<b>HB MLA</b>					
E1C x E1T	1	0,0001	0,0001	0,001	0,983
E2C x E2T	1	0,0001	0,0001	0,078	0,786
E3C x E3T	1	0,0000	0,0000	0,004	0,953
<b>PPP MLA</b>					
E1C x E1T	1	0,0001	0,0001	0,093	0,767
E2C x E2T	1	0,0001	0,0001	0,956	0,356
E3C x E3T	1	0,0001	0,0001	0,128	0,738
<b>HNF MLA</b>					
E2C x E2T	1	0,0004	0,0004	5,713	<b>0,043</b>
E3C x E3T	1	0,0000	0,0000	0,001	0,987
<b>ANF MLA</b>					
E2C x E2T	1	0,0027	0,0027	36,460	<b>&lt;0,001</b>
E3C x E3T	1	0,0000	0,0000	0,007	0,936
<b>CIL MLA</b>					
E3C x E3T	1	0,0007	0,0007	4,193	0,086
<b>ZOO MLA</b>					
E3C x E3T	1	0,0001	0,0001	0,185	0,682

APÊNDICE B - Análises de variância unifatoriais (*One-Way ANOVA*) e teste *post-hoc* de Tukey (HSD) para as mudanças líquidas na abundância (MLA) dos componentes microbianos (HB: bactérias heterotróficas, PPP: picofitoplâncton, HNF: nanoflagelados heterotróficos, ANF: nanoflagelados autotróficos) entre os controles na ausência da espécie exótica *Kellicottia bostoniensis* nos diferentes ensaios (E1, E2 e E3). Valores de P em negrito indicam significância ( $p < 0,05$ ), df = graus de liberdade, SS = soma dos quadrados, MS = quadrados médios.

<i>One-way ANOVA</i>	df	SS	MS	F value	Pr(>F)
<b>HB MLA</b>					
Controles	2	0,0059	0.0029	38,4245	<b>&lt;0,001</b>
<b>PPP MLA</b>					
Controles	2	0,0007	0,0004	4,4777	<b>0,041</b>
<b>HNF MLA</b>					
Controles	1	0,0076	0,0076	60,2615	<b>&lt;0,001</b>
<b>ANF MLA</b>					
Controles	1	0,0073	0,0073	18,1542	<b>0,0053</b>
<b>Tukey HSD</b>		<b>Pr(&gt; t )</b>			
<b>HB MLA</b>					
E1 x E2	<b>&lt;0,001</b>				
E1 x E3	<b>&lt;0,001</b>				
E2 x E3	<b>0.0148</b>				
<b>PPP MLA</b>					
E1 x E2	0,0883				
E1 x E3	<b>0,0474</b>				
E2 x E3	0,8301				

APÊNDICE C - Análises de variância unifatoriais (*One-Way ANOVA*) e teste *post-hoc* de Tukey (HSD) para as mudanças líquidas na abundância (MLA) dos componentes microbianos (HB: bactérias heterotróficas, PPP: picofitoplâncton, HNF: nanoflagelados heterotróficos, ANF: nanoflagelados autotróficos, CIL: ciliados, ZOO: zooplâncton) entre os tratamentos na presença da espécie exótica *Kellicottia bostoniensis* nos diferentes ensaios (E1, E2 e E3). Valores de P em negrito indicam significância ( $p < 0,05$ ), df = graus de liberdade, SS = soma dos quadrados, MS = quadrados médios.

<i>One-way ANOVA</i>	df	SS	MS	F value	Pr(>F)
<b>HB MLA</b>					
Tratamentos	2	0,0059	0,0029	73,3782	<b>&lt;0,001</b>
<b>PPP MLA</b>					
Tratamentos	2	0,0008	0,0004	8,2796	<b>0,007</b>
<b>HNF MLA</b>					
Tratamentos	1	0,0048	0,0048	15,4626	<b>0,007</b>
<b>ANF MLA</b>					
Tratamentos	1	0,0014	0,0014	6,4241	<b>0,044</b>
<b>Tukey HSD</b>		<b>Pr(&gt; t )</b>			
<b>HB MLA</b>					
E1 x E2	<b>&lt;0,001</b>				
E1 x E3	<b>&lt;0,001</b>				
E2 x E3	<b>&lt;0,001</b>				
<b>PPP MLA</b>					
E1 x E2	<b>0,019</b>				
E1 x E3	<b>0,013</b>				
E2 x E3	0,777				