



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



MATHEUS HENRIQUE DE OLIVEIRA DE MATOS

Impactos das mudanças globais nos ecossistemas aquáticos: uma análise das respostas de microrganismos sob diferentes estressores ambientais

Maringá
2024

MATHEUS HENRIQUE DE OLIVEIRA DE MATOS

Impactos das mudanças globais nos ecossistemas aquáticos: uma análise das respostas de microrganismos sob diferentes estressores ambientais

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 Ecologia e Limnologia.

Área de concentração: Ecologia e Limnologia.

Orientador: Dr. Luiz Felipe Machado Velho

Maringá
2024

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

M433i

Matos, Matheus Henrique de Oliveira de, 2000-

Impactos das mudanças globais nos ecossistemas aquáticos : uma análise das respostas de microrganismos sob diferentes estressores ambientais / Matheus Henrique de Oliveira de Matos. -- Maringá, 2024.
82 f. : il. (algumas color.).

Dissertação (mestrado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais)--
Universidade Estadual de Maringá, Dep. de Biologia, 2024.
Orientador: Dr. Luiz Felipe Machado Velho.

1. Microrganismos aquáticos de água doce - Bioindicadores - Mudanças climáticas - Impactos ambientais - Mesocosmos. 2. Microfauna de água doce - Bioindicadores - Mudanças climáticas - Impactos ambientais - Mesocosmos. 3. Ecossistemas de água doce - Mudanças climáticas - Impactos ambientais. I. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Biologia. Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais.

CDD 23. ed. -579.17622

MATHEUS HENRIQUE DE OLIVEIRA DE MATOS

Impactos das mudanças globais nos ecossistemas aquáticos: uma análise das respostas de microrganismos sob diferentes estressores ambientais

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 Ecologia e Limnologia aprovada pela Banca Examinadora composta pelos membros:

BANCA EXAMINADORA

Dr.^a Luzia Cleide Rodrigues
Nupélia/Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Dr.^a Janet Higuti
Nupélia/Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Prof.^a Dr.^a Louizi de Souza Magalhães Braghin
Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP)

Dr. Jonathan da Rosa
Nupélia/Universidade Estadual de Maringá (Pós-doutorando PEA/UEM) – Suplente

Prof. Dr.^a Tatiane Mantovano
Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP) - Suplente

Aprovada em: 25 de março de 2024.

Local da defesa: Auditório do Nupélia, Bloco H-90, *campus* da Universidade Estadual de Maringá.

À Deus, minha família e meus amigos.

AGRADECIMENTOS

- Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida que ele tem me concedido, pela sua misericórdia comigo e por todas as bênçãos que da sua mão tenho alcançado.
- À minha Família, em especial meus pais, pelo amor, carinho, educação e por todo apoio, pois não mediram esforços para me ajudar e ver minha felicidade. Vocês são essenciais na minha vida!
- Aos meus saudosos avós (vô Rubens, vô Cido e vó Isa); vocês estarão para sempre dentro do meu coração. Obrigado por terem me ajudado a ser o homem que sou hoje.
- À minha namorada, Náthani, por seu companheirismo, carinho, compreensão, paciência, por toda a ajuda e por todos os bons momentos vividos juntos até aqui; Eu te amo!
- Ao meu orientador e grande ajudador, Dr. Luiz Felipe (vulgo Lewis Phillip Old Axe). Obrigado pelo carinho, conselhos, risadas, atenção, “puxões de orelha” e por todo incentivo durante minha trajetória científica; não tenho palavras para expressar a gratidão de ser seu aluno.
- Ao Laboratório de Protozooplâncton, desde aqueles que não estão mais até os que entraram por agora: Felipinho, Loi, às “minhas crianças” Gabriel, João, Aline, Vini e Gusta, ao Nando, Mel, Edi, Carol, Yas, Cris e Biazinha. Obrigado por todos os momentos vividos junto de vós, por transmitirem paz a minha vida e por toda ajuda até aqui. Vocês são sensacionais! Amo vocês de coração, e vos admiro muito.
- Em agradecimentos especiais ao Laboratório, agradeço ao Felipinho, meu eterno coorientador, cuja paixão em ensinar sobre os protistas me fascina, e por ter me guiado todos esses anos, desde a iniciação científica até agora; Loi, minha irmã de sobrenome e de maluquices, você é incrível! Obrigado por todos os momentos; Gabriel (o grande “Gueibrios”), só tenho a agradecer por sua amizade e fraternidade durante todos os anos, que acompanham da graduação até aqui, você é inspiração para todos ao seu redor; João (Brad Pitty), sou extremamente grato por ter tido sua companhia neste tempo, e por toda sua ajuda em repassar seu conhecimento sobre tecamebas a mim; Nando, você é o cara! Obrigado por ter ajudado no desenvolvimento desta pesquisa, e por me salvar todas as vezes que eu ficava com dúvidas no R; Mel, minha grande amiga, sou grato a ti por todo o incentivo que tem me dado; Carol, agradeço pelos conselhos, conversas e “foccacias” que você nos tem feito; Aline (“Morissete”), obrigado pelas conversas, ajudas e chás gelados patrocinados a minha pessoa.
- Aos meus amigos, por toda a ajuda e por fazer meus dias mais felizes.
- Aos meus sogros, Gê e Luiz, pelo carinho e pela paciência comigo.

- Aos meus cunhados, Rick e Gleyca (dorameira), pelo apoio e por suportarem minhas piadas de tiozão.
- À Cíntia (esposa do profe), por todo carinho e por ter me acolhido todos esses anos. Agradeço por cada momento vivido junto contigo!
- À minha turma do Mestrado (Vini, Rafa e Bruna). Foi muito bom estar com todos vocês no decorrer dessa caminhada.
- Ao pessoal da Unicamp: Felipe (“Star Phillip”), Dai (“Habib”), Rubia (popular “Mai frend”), Zé, Paula e Francisco (sonoplasta do Rodrigo Faro) por todo auxílio nas coletas, pelas risadas e parceria. Juntamente, agradeço ao professor Dr. Gustavo Quevedo por propiciar a participação no experimento.
- Ao Celsão, nosso Michael Schumacher das estradas, por todas as viagens até Campinas, Pôrto Rico e por todas as prosas no caminho.
- Ao Alfredo, Tião, Lucão e Goiaba, nossos marinheiros, por todas as saídas de campo na nossa planície de inundação do Alto Rio Paraná; vocês são demais!
- Ao Nupélia e ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais (PEA), por todas as pessoas envolvidas no meu convívio, desde laboratórios até as demais funções, e pela infraestrutura e assistência no desenvolvimento de pesquisas.
- Ao pessoal dos laboratórios de Zooplâncton (Javita e a Bia Honey por contribuições nessa dissertação), Fitoplâncton (Laurita e Fefito pelas ajudas e parceria nas coletas lá em Campinas, Yas Serarafatti por ensinar a fazer a PCoA e à prof. Lu por disponibilizar as amostras da primeira seção), Macrófitas, Ostracoda, Ictioparasitologia (Tosha, Lidi Doritos, Gabi Michelin, Atsler e João Otávio pela parceria), Genética (um agradecimento do fundo do coração ao sr. Bruno Miotto por salvar no R várias vezes e à Mayara pelos cafés da manhã no PELD) e ao pessoal dos peixes em geral.
- Aos meus professores do PEA, por todo conhecimento transmitido. Foi uma honra imensurável estar junto de vós. À Bete (melhor secretária da face da terra), Salete e João pela paciência, disposição e todo o auxílio nesse processo.
- “O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001”

*“O futuro pertence àqueles que acreditam
na beleza de seus sonhos.”*

Eleanor Roosevelt

Impactos das mudanças globais nos ecossistemas aquáticos: uma análise das respostas de microrganismos sob diferentes estressores ambientais

RESUMO

Alterações ambientais ocorrem em níveis globais e são potencializadas por atividades humanas, apresentando impactos expressivos nos ecossistemas naturais ao afetar a temperatura, a carga de nutrientes e o aporte de detritos orgânicos dos corpos de água doce/ ou sistemas aquáticos. Deste modo, investigou-se os impactos do aumento de temperatura, da entrada de nutrientes, da predação por peixes e da redução de detritos orgânicos na comunidade de amebas testáceas, rotíferos e cladóceros perifíticos por 49 dias experimentais. Analisou-se os efeitos do aumento da temperatura, aporte de nutrientes e diminuição de detritos orgânicos na comunidade de amebas testáceas durante 160 dias experimentais. Os experimentos foram realizados em mesocosmos com três condições de temperatura: controle (referente à temperatura ambiente), aumento constante de +4°C e flutuação entre 2°C e 6°C acima do controle, com e sem enriquecimento por nitrogênio e fósforo, e redução de detritos orgânicos, controlado por adições prévias deste detrito. Em relação aos resultados, a densidade dos grupos analisados foi significativamente impactada pelo aumento da temperatura, enquanto os demais estressores explorados neste trabalho não representaram uma influência significativa para a abundância das comunidades. Quanto à composição das comunidades, a presença de nutrientes teve um impacto de maior predominância na estrutura da comunidade, embora padrões específicos de distribuição de espécies não tenham sido identificados. Em evidência, destaca-se que o aquecimento resultou na redução da diversidade de espécies (demonstrada pelo índice de Shannon), com tendência de diminuição da riqueza de espécies frente a este estressor. Em contrapartida, o enriquecimento por nutrientes foi responsável pelo aumento da riqueza, sendo o tempo um fator relevante nesse contexto. Quanto às alterações na densidade da comunidade, os fatores nutrientes e tempo emergiram como os principais influenciadores dessas mudanças. A análise da diversidade de espécies utilizando o índice de Shannon, revelou maiores diversidades nos tratamentos com temperatura controle, com o tempo exercendo uma influência significativa na estrutura da comunidade ao longo do experimento. Para a composição das espécies, a análise de diversidade β total destacou a importância da temperatura, presença de detritos e tempo. Os componentes β repl e β rich foram notavelmente afetados por temperatura e tempo, indicando mudanças na identidade das espécies.

Palavras-chave: diversidade; água doce; mudanças climáticas; eutrofização; enriquecimento por nutrientes; mesocosmos.

Impacts of global change on aquatic ecosystems: a analysis of the responses of microorganisms under different environmental stressors

ABSTRACT

Environmental changes occur at a global level and are enhanced by human activities, with significant impacts on natural ecosystems by affecting the temperature, nutrient load and input of organic debris in freshwater bodies or aquatic systems. In the first section, we investigated the impacts of increased temperature, nutrient input, predation by fish and a reduction in organic detritus on the community of testate amoebae, rotifers and periphytic cladocerans over 49 experimental days. The second section analyzed the effects of increased temperature, nutrient input and reduced organic detritus on the testate amoeba community during 160 experimental days. The experiments were carried out in mesocosms with three temperature conditions: control (referring to the ambient temperature), constant increase of +4°C and fluctuation between 2°C and 6°C above the control, with and without enrichment by nitrogen and phosphorus, and reduction of organic detritus, controlled by previous additions of this detritus. In relation to the results of the first section, the density of the groups analyzed was significantly impacted by the increase in temperature, while the other stressors explored in this work did not represent a significant influence on the abundance of the communities. As for community composition, the presence of nutrients had a more predominant impact on community structure, although specific species distribution patterns were not identified. For the second section, it was evident that warming resulted in a reduction in species diversity (demonstrated by the Shannon index), with a tendency for species richness to decrease in the face of this stressor. On the other hand, nutrient enrichment was responsible for an increase in richness, with time being a relevant factor in this context. As for changes in community density, nutrients and time emerged as the main factors influencing these changes. Analysis of species diversity using the Shannon index revealed greater diversity in the temperature control treatments, with time exerting a significant influence on community structure throughout the experiment. For species composition, the β total diversity analysis highlighted the importance of temperature, presence of detritus and time. The β repl and β rich components were notably affected by temperature and time, indicating changes in species identity.

Keywords: diversity; freshwater; climate change; eutrophication; nutrient enrichment; mesocosms.

Dissertação elaborada conforme as normas de publicação científica da *Hydrobiologia* e *Frontiers in Microbiology*. Disponível em: <https://www.springer.com/journal/10750/submission-guidelines> e <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/for-authors/author-guidelines>.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	13
2 EFEITO DE MÚLTIPLOS ESTRESSORES SOBRE A ESTRUTURA DA COMUNIDADE DE AMEBAS TESTÁCEAS, ROTÍFEROS E CLADÓCEROS PERIFÍTICOS	16
2.1 Introdução	18
2.2 Material e métodos	21
2.2.1 Área de estudo	21
2.2.2 Delineamento experimental	21
2.2.3 Coleta, análise e identificação das comunidades	23
2.2.4 Análise de dados	24
2.3 Resultados	24
2.4 Discussão	32
2.5 Conclusão	36
REFERÊNCIAS	37
3 IMPACTO DAS MUDANÇAS GLOBAIS SOBRE A COMUNIDADE DE AMEBAS TESTÁCEAS PLANCTÔNICAS	46
3.1 Introdução	48
3.2 Material e métodos	50
3.2.1 Área de estudo	50
3.2.2 Delineamento experimental	50
3.2.3 Amostragem da comunidade de amebas testáceas	52
3.2.4 Análise de dados	53
3.3 Resultados	53
3.4 Discussão	66
3.5 Conclusão	70
REFERÊNCIAS	71
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	79
NOTA INFORMATIVA COMPLEMENTAR - Atividades desenvolvidas e publicações apresentadas durante o mestrado	81

1 INTRODUÇÃO GERAL

Nas últimas décadas, as mudanças ambientais têm sido intensificadas, principalmente pelo processo de industrialização, desenvolvimento dos ambientes urbanos (HAASE et al., 2023) e desmatamento, em especial após a revolução industrial (STEFFEN et al., 2015), afetando os ecossistemas. Os ambientes de água doce são especialmente vulneráveis à essas mudanças e estão expostos a múltiplos estressores combinados (WOODWARD, PEKINS & BROWN, 2010). Ainda, locais com maiores taxas de degradação podem levar a menores ganhos em riqueza taxonômica, funcional e densidade das comunidades aquáticas (HAASE et al., 2023; SABATER et al., 2023).

Visto que alterações na biodiversidade estão atreladas às mudanças do ambiente por intermédio das mudanças globais, diferentes grupos biológicos podem responder de formas distintas às perturbações ambientais, afetando o crescimento, a distribuição e a reprodução das espécies da biota aquática (IBÁÑEZ, GARRIDO-CHAMORRO, BARREIRO, 2023). Assim, mudanças ambientais, como perturbações nas características físico-químicas originais dos ambientes aquáticos, podem resultar em alterações nas interações tróficas, uma vez que o aumento da temperatura pode influenciar efeitos em cascata nas relações entre as espécies, como casos de competição e predação (MEERHOFF et al., 2022), gerando desequilíbrios dentro das populações aquáticas, afetando toda a cadeia alimentar, e, por conseguinte, afetando a dinâmica do ecossistema (BARBAROSSA et al., 2021).

Ambientes de água doce apresentam uma ampla diversidade de organismos, na qual varia desde microrganismos, como protistas, rotíferos e cladóceros, bem como organismos de tamanhos maiores, como os invertebrados e vertebrados, os quais desempenham funções essenciais nos ecossistemas aquáticos (SHURIN et al., 2012). Esses organismos são sensíveis a mudanças nos gradientes ambientais (HÉBERT, BEISNER & MARANGER, 2017), e alterações nas suas comunidades, influenciadas por fatores climáticos, espaciais e presença de estressores podem impactar significativamente a estrutura e composição dos organismos de ambientes aquáticos, afetando o ecossistema como um todo (ZINGEL et al., 2018; (RATNARAJAH et al., 2023; VLAJČEVIĆ et al. 2022).

Para investigar os impactos de múltiplos estressores antropogênicos nas diferentes comunidades podem ser aplicadas diferentes abordagens, incluindo a utilização de experimentos controlados (WEISSER et al., 2023). Considerando que os efeitos das mudanças

globais são evidenciados por eventos ambientais (SABATER et al., 2023), como ondas de calor prolongadas, reduções abruptas no fluxo de água ou grandes inundações (MESSAGER et al., 2021). Sendo assim, é de suma importância avaliar experimentalmente os efeitos de diferentes estressores relacionados às mudanças globais sobre as comunidades aquáticas, compreendendo os mecanismos ecológicos e entendimento de padrões observados na natureza (DE MELO et al., 2019). O processo de experimentação ecológica, juntamente à análise quantitativa dos dados existentes, é necessário para identificar os fatores mais importantes do declínio na diversidade, auxiliando na conservação das espécies (WEISSER et al., 2023).

Portanto, a presente dissertação encontra-se estruturada em duas seções, utilizando o mesmo delineamento experimental com o objetivo geral de avaliar os efeitos de múltiplos estressores sobre a estrutura e a composição de diferentes comunidades aquáticas. O principal objetivo da primeira seção consiste em investigar os efeitos dos múltiplos estressores (i.e aquecimento, redução do aporte natural de detritos e do aumento de nutrientes e o impacto da predação de peixes) sobre a estrutura (i.e densidade e riqueza) e composição da comunidade de amebas testáceas, rotíferos e cladóceros perifíticos, usando mesocosmos como sistema modelo. A segunda seção visou investigar os efeitos do aquecimento, da diminuição do aporte de detritos e da disponibilidade de nutrientes sobre a estrutura (i.e densidade e riqueza) e composição da comunidade de amebas testáceas planctônicas em mesocosmo, a fim de observar a ação desses estressores sobre as espécies e sobre o funcionamento ecossistêmico.

REFERÊNCIAS

BARBAROSSA, V. et al. Threats of global warming to the world's freshwater fishes. **Nature communications**, v. 12, p. 1701, 2021.

DE MELO, T. X. et al. Effects of nutrient enrichment on primary and secondary productivity in a subtropical floodplain system: an experimental approach. **Hydrobiologia**, v. 827, n° 1, p. 171-181, 2019.

HAASE, P. et al. The recovery of European freshwater biodiversity has come to a halt. **Nature**, v. 620, n° 7974, p. 582-588 2023.

HÉBERT, M.-P.; BEISNER, B. E.; MARANGER, R. Linking zooplankton communities to ecosystem functioning: toward an effect-trait framework. **Journal of Plankton Research**, v. 39, p. 3-12, 2017.

IBÁÑEZ, A.; GARRIDO-CHAMORRO, S.; BARREIRO, C. Microorganisms and Climate Change: A Not so Invisible Effect. **Microbiology Research**, v. 14, n° 3, p. 918-947, 2023.

MEERHOFF, M. et al. Feedback between climate change and eutrophication: revisiting the allied attack concept and how to strike back. **Inland Waters Taylor & Francis**, v. 12, p. 187–204, 2022.

MESSAGER, M. L. et al. Global prevalence of non-perennial rivers and streams. **Nature**, v. 594, p. 391–397, 2021.

RATNARAJAH, L. et al. Monitoring and modelling marine zooplankton in a changing climate. **Nature Communications**, v. 14, p. 564, 2023.

SABATER, S. et al. Extreme weather events threaten biodiversity and functions of river ecosystems: evidence from a meta-analysis. **Biological Reviews**, v. 98, n° 2, p. 450-461, 2023.

STEFFEN, W. et al. The trajectory of the Anthropocene: the great acceleration. **Anthr. Rev.**, v. 2, p. 81–98, 2015.

SHURIN, J. B. et al. Warming shifts top-down and bottom-up control of pond food web structure and function. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences Royal Society**, v. 367, p. 3008–3017, 2012.

VLAJČEVIĆ, B. et al. Periphytic Ciliate Communities in Lake Ecosystem of Temperate Riverine Floodplain: Variability in Taxonomic and Functional Composition and Diversity with Seasons and Hydrological Changes. **Water**, v. 14, p. 551, 2022.

WEISSER, W. et al. Experiments are needed to quantify the main causes of insect decline. **Biology Letters**, v. 19, n° 2, p. 20220500, 2023.

WOODWARD, G.; PERKINS, D. M.; BROWN, L. E. Climate change and freshwater ecosystems: impacts across multiple levels of organization. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences Royal Society**, v. 365, p. 2093–2106, 2010.

ZINGEL, P. et al. Effects of warming and nutrients on the microbial food web in shallow lake mesocosms. **European Journal of Protistology**, v. 64, p. 1–12, 2018.

2 EFEITOS DE MÚLTIPLOS ESTRESSORES SOBRE A ESTRUTURA DA COMUNIDADE DE AMEBAS TESTÁCEAS, ROTÍFEROS E CLADÓCEROS PERIFÍTICOS

RESUMO

Atividades antropogênicas desempenham um papel significativo no aumento das temperaturas, na promoção da eutrofização e na redução das entradas de detritos em ecossistemas aquáticos. Essas alterações apresentam o potencial de remodelar a estrutura e as interações dentro das comunidades aquáticas, incluindo as dinâmicas de predadores de topo em protistas e metazoários. Este estudo experimental em mesocosmos explorou os impactos combinados dos estressores: aquecimento, enriquecimento por nutrientes, redução da entrada de detritos e predação sobre atributos como a riqueza, densidade e a composição de espécies de amebas testáceas, rotíferos e cladóceros perifíticos em um sistema controlado. Foram utilizados três regimes de temperatura, sendo: (i) controle/temperatura ambiente, (ii) aumento constante de 4°C na temperatura e (iii) temperaturas flutuantes entre 2°C e 6°C acima da temperatura de controle. Essas condições de temperatura foram aplicadas com ou sem enriquecimento por nitrogênio e fósforo, redução de detritos e presença de um predador de topo (peixe). Comunidades perifíticas foram estabelecidas em placas acrílicas, sendo definidas 60 placas livres para predação e 60 placas envoltas por tela para evitar a chegada do peixe predador. A abundância foi notavelmente afetada por níveis de temperatura acima da temperatura ambiente, enquanto outros estressores não tiveram influência nas comunidades. Em termos de composição, a presença de nutrientes teve um efeito mais pronunciado na estrutura da comunidade, embora padrões específicos de distribuição de espécies não tenham sido observados, associando a temperatura com a presença de nutrientes. Isso sugere que as mudanças ambientais globais podem alterar as interações entre espécies, favorecendo potencialmente a predominância de espécies ou grupos de organismos específicos. Sendo assim, ambos os estudos destacaram que as mudanças globais necessitam ser mitigadas com urgência, utilizando-se de abordagens integradas para compreender como diferentes estressores atuam sobre diferentes grupos ambientais, com ênfase na implementação de políticas públicas, engajamento da sociedade e investimento em pesquisas, reconhecendo o papel fundamental de indivíduos e comunidades na construção de um futuro sustentável.

Palavras-chave: Aquecimento global; Eutrofização; Biodiversidade; Mesocosmos; Experimento Ecológico.

ABSTRACT

Anthropogenic activities play a significant role in increasing temperatures, promoting eutrophication and reducing inputs of detritus into aquatic ecosystems. These changes have the potential to reshape the structure and interactions within aquatic communities, including top predator dynamics in protists and metazoans. This experimental study in mesocosms explored the combined impacts of stressors: warming, nutrient enrichment, reduced detritus input and predation on attributes such as species richness, density and composition of testate amoebae, rotifers and periphytic cladocerans in a controlled system. Three temperature regimes were used: (i) control/ambient temperature, (ii) constant 4°C increase in temperature and (iii) fluctuating temperatures between 2°C and 6°C above the control temperature. These temperature conditions were applied with or without nitrogen and phosphorus enrichment, debris reduction and the presence of a top predator (fish). Periphytic communities were established on acrylic plates, with 60 plates free for predation and 60 plates surrounded by mesh to prevent predatory fish from arriving. Abundance was notably affected by temperature levels above the ambient temperature, while other stressors had a negligible influence on the communities. In terms of composition, the presence of nutrients had a more pronounced effect on community structure, although specific patterns of species distribution were not observed, associating temperature with the presence of nutrients. This suggests that global environmental changes can alter the interactions between species, potentially favoring the predominance of specific species or groups of organisms. Thus, both studies highlighted that global changes need to be urgently mitigated, employing integrated approaches to understand how different stressors affect different environmental groups, with an emphasis on the implementation of public policies, societal engagement, and investment in research, recognizing the fundamental role of individuals and communities in building a sustainable future.

Keywords: Global warming; Eutrophization; Biodiversity; Mesocosms; Ecological experiment.

2.1 Introdução

O aumento expressivo das temperaturas globais observado desde meados do século XX (Hoegh-Guldberg et al., 2018) está profundamente relacionado às atividades antrópicas, tais como o desmatamento, processos de industrialização e a queima de combustíveis fósseis (Haase et al., 2023). Estas contribuem de forma importante para a emissão de gases do efeito estufa (GEE) na camada atmosférica, resultando no aumento das temperaturas globais (Zhang et al., 2021). Entre 1880 e 2018 registrou-se o aumento da temperatura na média global em 1,5°C (IPCC, 2022). Tal cenário pode se agravar ainda mais, pois espera-se que a média da temperatura do ar aumente até 3.7°C ainda neste século, sendo que nos trópicos esse aumento pode chegar próximo aos 5°C nas projeções para 2100 (IPCC, 2022).

Estudos têm evidenciado que o aumento da temperatura está provocando mudanças substanciais tanto na população humana quanto nos sistemas naturais (Hoegh-Guldberg et al., 2018; Rose et al., 2023). No contexto dos ecossistemas aquáticos naturais, o aumento da temperatura pode desencadear modificações nas interações bióticas e no funcionamento desses sistemas, afetando processos como o processamento de matéria orgânica e a ciclagem de nutrientes (Traill et al., 2010; Progênio et al., 2023).

Adicionalmente, os ecossistemas de água doce enfrentam desafios expressivos decorrentes de intensas atividades humanas (Woodward, Pekins, Brown, 2010), resultando em séria deterioração ambiental e um crescente risco de perda de biodiversidade, especialmente se esses estressores atuam de forma combinada (Zou et al., 2021). Complementarmente aos efeitos do aquecimento, ações humanas têm contribuído para mudanças no uso da terra adjacente a corpos aquáticos, levando à adição de nutrientes e compostos orgânicos dentro dos ambientes aquáticos (Höök, et al., 2020). Desde a década de 60, fertilizantes utilizados em processos agrícolas ricos em nutrientes (e.g nitrogênio e fósforo) são lançados em excesso nos corpos aquáticos (Huang et al., 2017; Lin et al., 2021), sendo cruciais para a ocorrência da eutrofização em ambientes aquáticos (Kim et al., 2021). O processo de eutrofização consiste no aumento de nutrientes dentro do ambiente, induzindo o crescimento de microrganismos fotossintetizantes (Massicotte et al., 2017), promovendo efeitos adversos que resultam na redução da integridade biológica (Yirigui et al., 2019) e diminuição da estabilidade da comunidade (Liu et al., 2021).

Concomitantemente à entrada de nutrientes em ambientes aquáticos relacionada ao uso da terra adjacente por processos agroindustriais, o processo de perda da vegetação ripária é

evidenciado, promovendo a diminuição no aporte natural dos detritos da vegetação (matéria orgânica alóctone) nos ambientes aquáticos, alterando variáveis limnológicas (como pH e oxigênio dissolvido), a concentração e dinâmica de dióxido de carbono (CO_2) no ambiente (Junger et al., 2019). Tal processo pode determinar mudanças na composição e montagem das comunidades (Effert-Fanta et al., 2019; Zou et al., 2021). Esses detritos são processados pela macrofauna, intermediado pela ação de microrganismos, produzindo efeitos em toda a cadeia trófica, como por exemplo o incremento da heterotrofia nos ambientes com aporte de detritos orgânicos (Moura et al., 2022).

Em relação aos efeitos das mudanças globais sobre as interações bióticas, estes podem ser evidenciados através do processo de predação (Antiqueira et al., 2022), e a complexidade deste processo inclui condições químicas, físicas e biológicas, intrínsecas à fisiologia dos microrganismos (Kilner et al., 2023). Tais processos estão fortemente relacionadas à temperatura (Antiqueira et al., 2021; Bernabé et al., 2018; Progênio et al., 2023).

A presença de predadores no ambiente aquático desempenha um papel vital na estabilidade das comunidades aquáticas, de modo que sua ausência pode acarretar uma série de impactos indiretos nos ecossistemas (Antiqueira et al., 2018). Tais impactos indiretos podem ser causados por estressores do ambiente que afetam a cadeia trófica de predadores, como o aquecimento (Tilman et al., 2014; Meerhoff et al., 2022), onde a diversidade e densidade de predadores pode influenciar de forma direta a densidade das comunidades de presas através da mudança na densidade e diversidade dos organismos (Soliveres et al., 2016). Sendo assim, os efeitos funcionais de diferentes grupos de predadores podem interagir, tanto dentro dos níveis tróficos como entre eles (Antiqueira et al., 2018).

Em ecossistemas aquáticos, um importante compartimento é o litorâneo, onde encontramos bem estabelecida a comunidade perifítica, composta por organismos autotróficos (fitoperifiton) e heterotróficos (protistas, rotíferos e cladóceros) de diferentes tamanhos (Pereira, Bonecker, Rodrigues, 2007). Estes se encontram associados a rochas ou outros substratos, como macrófitas aquáticas (Maryam, 2022), e podem ser utilizados como bioindicadores para avaliar a recuperação de sistemas lóticos após perturbações (Gulin et al., 2021).

Comunidades da microfauna aquática, como amebas testáceas, rotíferos e cladóceros, são sensíveis as alterações do ambiente, respondendo rapidamente às mudanças ambientais, fornecendo informações a respeito dos processos de funcionamento dos ecossistemas aquáticos

(Wen et al., 2022). Estas comunidades são representativas dentro dos ambientes aquáticos, tanto em termos de densidade como de diversidade (Elmoor-Loureiro et al., 2022; Velho et al., 2021). Nos ambientes de água doce, esses organismos colonizam diferentes compartimentos, incluindo o compartimento perifítico, de rios, lagos, brejos e lagoas; assim, mudanças ambientais podem afetar negativamente as comunidades perifíticas, impactando sua densidade e diversidade.

Considerando a necessidade de avaliação dessas alterações ambientais sobre essas comunidades, a realização de experimentos em mesocosmos artificiais tem contribuído para uma melhor compreensão de mecanismos ecológicos e entendimento de padrões observados na natureza (De Melo et al., 2019). Ademais, pesquisas que visem estudar o efeito dos múltiplos estressores sobre os atributos das comunidades aquáticas, em consonância com as consequências para a biodiversidade, são de grande relevância. Com isso, o objetivo geral deste trabalho foi investigar os efeitos dos múltiplos estressores (aquecimento, redução do aporte natural de detritos, do enriquecimento por nutrientes e o impacto da predação de peixes) sobre a estrutura (densidade e riqueza) e composição da comunidade de amebas testáceas, rotíferos e cladóceros perifíticos, usando mesocosmos como sistema modelo.

A hipótese formulada foi de que a predação, aquecimento, diminuição de detritos e o enriquecimento por nutrientes (nitrogênio com fósforo), resultarão na redução da riqueza de espécies, porém levarão ao aumento da densidade de determinadas espécies da comunidade, bem como alterações na composição das espécies da comunidade. Como predições, esperou-se: i) um aumento na densidade e uma diminuição na riqueza das espécies de amebas testáceas, rotíferos e cladóceros perifíticos nos tratamentos expostos ao enriquecimento por nutrientes (nitrogênio e fósforo) associados à presença de detritos, sendo este efeito potencializado pelo aquecimento, visto que os microrganismos da comunidade estudada tendem a se reproduzir mais rapidamente em ambientes com efeitos de diferentes estressores; ii) a predação desencadearia um aumento da densidade dos microrganismos da comunidade estudada nos seus respectivos tratamentos devido ao aumento da sua taxa reprodutiva, sendo mais fortemente evidenciada em tratamentos aquecidos; iii) uma alteração na composição de espécies, frente aos múltiplos estressores (predação, detritos, nutrientes e aquecimento), em todos os tratamentos, principalmente em cenários de extremo aquecimento.

2.2 Materiais e Métodos

2.2.1 Área de estudo

O estudo experimental em mesocosmos foi realizado nas mediações do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA), da UNICAMP, localizado no município de Paulínia, interior de São Paulo, Brasil.

2.2.2 Delineamento experimental

Para investigar os efeitos dos diferentes cenários das mudanças globais (aumento de temperatura, adição de nutrientes e redução de detritos) e predação por peixes sobre a comunidade de amebas testáceas, rotíferos e cladóceros perifíticos, foi desenvolvido um experimento em mesocosmos artificiais em caixas de água de polietileno (54 cm de profundidade), com capacidade de 300 litros de água, durante 49 dias.

Os tanques, preenchidos com 300L água, foram preenchidos a partir de um sistema de regulação de água incorporado à rede de distribuição de água do CPQBA. O sistema de regulação engloba tubulações interligadas, filtros com carvão para remoção do cloro e um mecanismo de bóias que assegura a manutenção constante do volume nos tanques. Em seguida, foram adicionados 300mL de sedimento fino de lagoas (22°47'41"S, 47°08'46"W) ao entorno do CPQBA para colonização e estruturação da microbiota. Após um intervalo de 5 dias, foram realizadas coletas do plâncton nos lagos do CPQBA, usando redes de plâncton com abertura de 60 e 20 μm de malha; nesta coleta do plâncton, foram coletados e filtrados 36000L de água, concentradas em 15L, sendo adicionados inóculos em quantidades similares de 200mL dessa água em cada tanque. A água filtrada que passou pela rede de plâncton de 20 μm foi utilizada para incorporação de organismos menores que 20 μm . Após a introdução dos organismos planctônicos, os mesocosmos permaneceram inertes por um período de 30 dias para assim dar início ao experimento.

Para simular os diferentes cenários previstos de mudanças climáticas, conforme previsto para 2100, segundo o IPCC (2014), foram utilizados três níveis de tratamento de aquecimento: i) controle, com base em temperatura ambiente; ii) aquecimento em +4°C (em relação ao controle) e iii) oscilações constantes de +2°C a +6°C acima da temperatura controle (representando a instabilidade térmica). A temperatura ambiente média para os 49 dias do experimento foi de 29.416°C, com um desvio médio calculado de 2.982°C para essa temperatura da água. Os cenários do aquecimento funcionaram a partir de um sistema automatizado, ligado a termorresistências de 300 Watts e sensores de temperatura (Yvon-Durocher et al., 2011; Antiqueira et al., 2018). O sistema de aquecimento funcionou por meio

de valores de uma temperatura referência, baseada no tanque controle, responsáveis por regular automaticamente o funcionamento das termorresistências nos tanques adjacentes, aumentando a temperatura dos tanques dos tratamentos sob aquecimento. O sistema capturou os valores de temperatura registrados nos sensores dos mesocosmos a cada 30 minutos ao longo do período experimental.

No cenário referente à perda da vegetação ripária, considerando a conversão desta vegetação para o uso agropecuário, manipulou-se: i) o enriquecimento nutricional pela adição de nitrogênio e fósforo, simulando o escoamento de fertilizantes agrícolas e ii) redução do aporte de recursos alóctones (detritos orgânicos vegetais), simulando a perda da vegetação ripária. O fator que correlaciona o não enriquecimento nutricional artificial foi o grupo controle, que reproduziu as condições naturais do ambiente, enquanto o tratamento com adição de nutrientes recebeu adição de ureia e fosfato monoamônico (MAP), dois tipos comuns de fertilizantes agrícolas usados globalmente, sendo a adição de 1,048g de ureia e 217,65mg de MAP, numa razão molar N:P = 19,41. Esta forma de adição foi baseada em padrões anuais da frequência e quantidade de nitrogênio e fósforo lixiviado das principais lavouras agrícolas (como cana-de-açúcar, milho e arroz) registrados em literatura (Ghiberto et al., 2009; Simpson et al., 2009; Wang et al., 2019)

Simultaneamente a esses processos, simulou-se a redução de recursos alóctones, através de um nível controle de aporte contendo 131 g/m² de biomassa de detritos e um nível de 26,2 g/m² de biomassa de detritos, indicando a redução do aporte de nutrientes em 80% (Tonin et al., 2017). Para simular a presença de detritos, foram adicionadas folhas secas de *Inga* sp., onde os galhos contendo as folhas foram coletados com 30 dias de antecedência para permitir o início do processo de senescência das folhas. As folhas foram submetidas a um período de imersão em água por 5 dias para remover o excesso de nitrogênio por lixiviação, sendo posteriormente submetidas à secagem em uma estufa a 60°C por 48 horas e, em seguida, sendo pesadas e trituradas para sua utilização. Os detritos foram autoclavados a fim de evitar a colonização de organismos oportunistas por esta via de entrada.

Para avaliar o efeito da predação por peixes na comunidade, em cada um dos 60 tanques foi adicionada uma tela ao redor de uma placa de acrílico, impossibilitando que o predador alcançasse a placa. Cinco predadores (2 machos e 3 fêmeas) foram colocados em cada tanque; o peixe predador escolhido foi o "Guarú" (gênero *Poecilia*, família Poeciliidae, ordem Cyprinodontiformes, classe Actinopterygii), que tem hábito onívoro e é responsável por acoplar

os compartimentos tróficos bentônico e planctônico no sistema. Esses peixes foram obtidos em fazendas artificiais e pisciculturas da região.

Para a colonização da comunidade de amebas testáceas, rotíferos e cladóceros perifíticos, adicionou-se duas placas de acrílico em cada tanque, com medida de 49cm² (7cm de largura x 7cm de altura), ficando uma coberta por uma tela, a fim de não possibilitar a chegada do peixe na placa, e outra sem a presença de tela, permitindo a chegada do predador na placa, possibilitando sua alimentação dos recursos ali presentes.

Nesse desenho experimental, os cinco blocos foram aleatorizados e estruturados, consistindo em 12 tratamentos por bloco e 60 unidades experimentais ao todo (sendo eles tratamentos de aquecimento, nutrientes e detritos = 12 x 5 blocos = 60 amostras “sem predação” e 60 amostras “com predação”) (Figura 1).

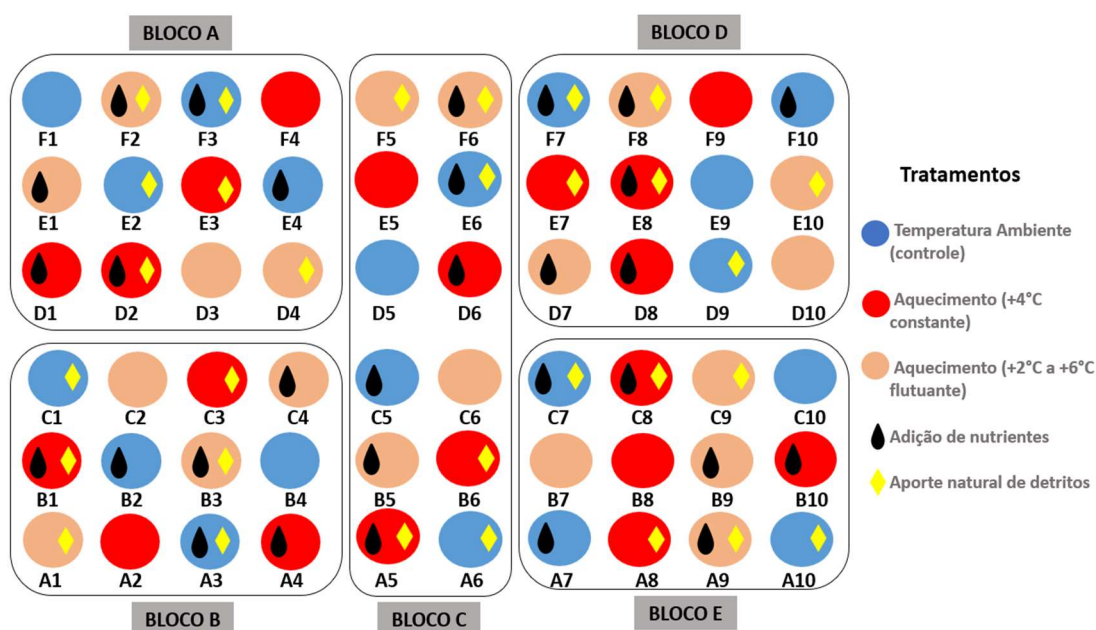


Figura 1. Delineamento experimental referente aos tratamentos isolados e interativos com adição de nitrogênio (N) e fósforo (F) na temperatura controle e com aquecimento (+4°C) e variação (+2°C a +6°C). Todos os mesocosmos tinham a presença do peixe predador.

2.2.3 Coleta, análise e identificação das comunidades

Para a coleta das comunidades aderidas ao compartimento perifítico, as placas foram retiradas após um período de colonização de 49 dias, sendo raspadas com auxílio de lâmina de navalha envolta com papel alumínio, a fim de não danificar as estruturas corporais dos indivíduos das comunidades. Após a raspagem das placas, essas ainda foram lavadas com um

volume variável de água destilada, com intuito de remover a maior quantidade possível de organismos da placa, evitando a perda de indivíduos e espécies.

Posteriormente, as amostras foram fixadas com lugol alcalino, e armazenadas em local apropriado, onde foram analisadas na íntegra para quantificação e identificação das amebas testáceas, rotíferos e cladóceros aderidos ao perifíton, utilizando câmaras de Sedwick-Rafter em microscópio óptico comum (Marca Olympus, modelo CX31), em uma ampliação de 100 e 200 vezes. Os organismos foram identificados ao menor nível taxonômico possível, baseando-se em literatura especializada (Gomes e Souza, 2008; Koste et al., 1978; Elmoor-Loureiro, 1997), com uso de *sites* (como o “Microworld- world of amoeboid organisms” e “GBIF- Global Biodiversity Information Facility”) contendo informações atualizadas sobre os grupos de estudo.

2.2.4 Análise de dados

Para testar as predições I e II, ou seja, como a riqueza e a densidade da comunidade estudada foram afetados pelas variáveis preditoras (predação, enriquecimento por nutrientes, detrito e aquecimento), utilizou-se análises LME (Modelos Lineares de Efeitos Mistos), do pacote lme4 (Bates et al., 2015), sendo a predação, os nutrientes, detritos e o aquecimento tidos como efeitos fixos, e os blocos como efeito aleatório. Outrossim, foi realizada uma análise de variância (ANOVA), referente ao próprio modelo linear de efeitos mistos pela função *anova.lme*, para testar as diferenças entre os tratamentos entre si, considerando os valores significativos de $p < 0.05$; naqueles com resultados significativos, realizou-se o teste Post-Hoc de Tukey, pela função “TukeyHSD”.

Para avaliar a predição III, de como os múltiplos estressores afetaram a composição das espécies da microfauna perifítica, foi realizada uma Análise de diversidade beta total (diversidade de espécies entre dois ambientes distintos, ou seja, entre diferentes tratamentos) e seus componentes (β_{repl} e β_{rich}), pelo método desenvolvido por Podani & Schmera (2011), utilizando o pacote BAT (Cardoso et al., 2020) e considerando como significativos os resultados com valores de $p < 0.05$. Posteriormente, foi realizada uma Análise de Escalonamento Multidimensional (NMDS) para se observar os padrões na composição das espécies. Todos os gráficos realizados foram feitos pelo pacote ggplot2, e todas as análises foram realizadas no software R (R Core Team 2017).

2.3 Resultados

Foram registradas 36 espécies (Tabela 1), sendo 20 espécies de amebas testáceas, 13 espécies de rotíferos e três espécies de cladóceros. Dentre as espécies, as Famílias mais representativas foram: Família Centropyxidae para amebas testáceas (sete espécies), Família Lecanidae para rotíferos (sete espécies) e Família Chydoridae para cladóceros (duas espécies).

Tabela 1- Lista de espécies de amebas testáceas, rotíferos e cladóceros aderidos ao perifíton. A classificação dos grupos taxonômicos de amebas testáceas foi idealizada de acordo com o livro de Gomes e Souza (2008), com revisões de nomenclatura pelo site “Microworld”, enquanto para rotíferos e cladóceros utilizou-se os livros de Koste et al. (1978) e Elmoor-Loureiro (1997), com revisões de nomenclatura pelo site “GBIF”.

AMEBAS TESTÁCEAS	
Família	Espécies
Centropyxidae	<i>Centropyxis aculeata</i> (Stein, 1859)
	<i>Centropyxis aerophila</i> (Deflandre, 1929)
	<i>Centropyxis cassis spinifera</i> (Deflandre, 1929)
	<i>Centropyxis ecornis</i> (Leidy, 1879)
	<i>Centropyxis gibba</i> (Stein, 1857)
	<i>Centropyxis minuta</i> (Deflandre, 1929)
	<i>Centropyxis spinosa</i> (Stein, 1857)
Diffflugidae	<i>Diffflugia brevicolla</i> (Cash & Hopkinson, 1909)
	<i>Diffflugia penardi</i> (Hopkinson, 1909)
	<i>Pontigulasia</i> sp.
	<i>Netzelia gramen</i> (Pénard, 1902)
Arcellidae	<i>Netzelia tuberculata</i> (Netzel, 1983)
	<i>Arcella vulgaris</i> (Ehrenberg, 1832)

	<i>Galeripora discoides</i> (Ehrenberg, 1843)
	<i>Galeripora megastoma</i> (Pénard, 1902)
Phryganellidae	<i>Phryganella dissimulatrix</i> (Chardez, 1969)
	<i>Phryganella hemisphaerica</i> (Pénard, 1902)
Euglyphidae	<i>Euglypha polyleps</i> (Bonnet, 1959)
Cyphoderidae	<i>Cyphoderia ampulla</i> (Ehrenberg, 1840)
Cylindriflugiidae	<i>Cyllindriflugia elegans</i> (Pénard, 1890)

ROTIFERA

Família	Espécies
Lecanidae	<i>Lecane bulla</i> (Gosse, 1851)
	<i>Lecane cornuta</i> (Müller, 1786)
	<i>Lecane hamata</i> (Stokes, 1896)
	<i>Lecane hornemanni</i> (Ehrenberg, 1834)
	<i>Lecane pyriformis</i> (Daday, 1905)
	<i>Lecane quadridentata</i> (Ehrenberg, 1830)
	<i>Lecane stichaea</i> (Harring, 1913)
Colurellidae	<i>Colurella uncinata</i> (Müller, 1773)
	<i>Colurella</i> sp.
Testudinellidae	<i>Testudinella patina</i> (Hermann, 1783)
Lepadellidae	<i>Lepadella patella</i> (Müller, 1773)
Brachionidae	<i>Brachionus quadridentatus</i> (Hermann, 1783)
Notommatidae	<i>Cephalodella</i> sp.

CLADOCERA

Família	Espécies
---------	----------

Chydoridae

Ovalona glabra (Sars, 1901)*Coronatella* sp.

Macrothricidae

Macrothryx spinosa (King, 1863)

As análises estatísticas evidenciaram efeito significativo e positivo da temperatura em interação entre com a predação, junto do efeito múltiplo da temperatura correlacionada à presença de nutrientes e a predação (Tabela 2) (Figura 2).

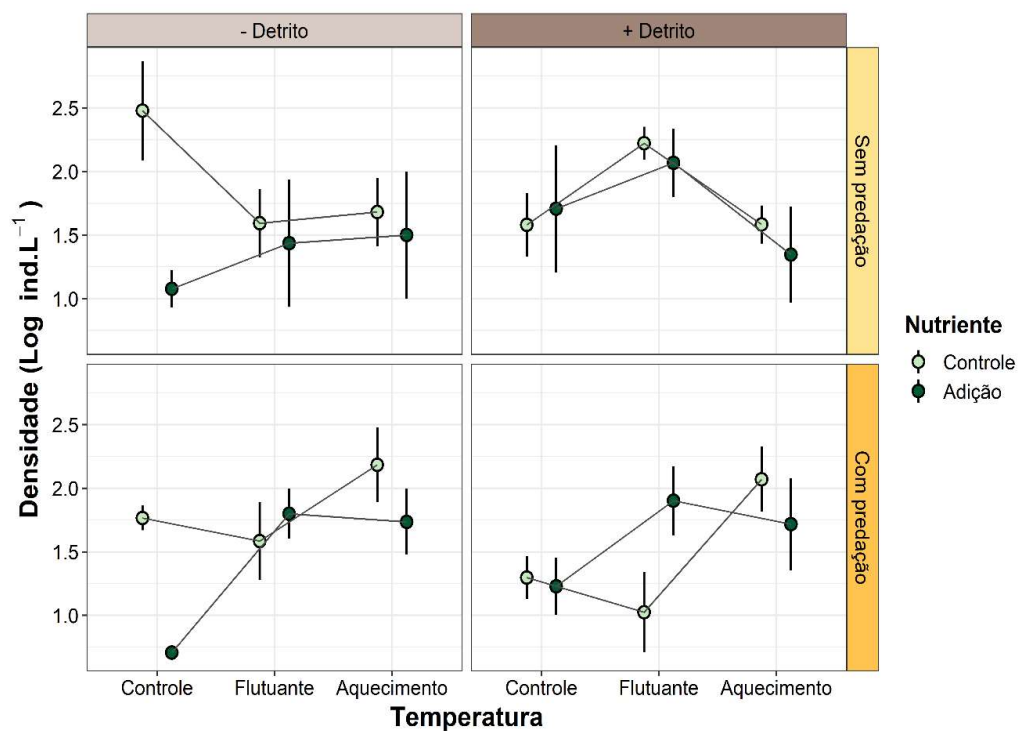


Figura 2- Efeito da predação, aquecimento, detritos e da concentração de nutrientes sobre a densidade das espécies da comunidade (amebas testáceas, rotíferos e cladóceros).

Tabela 2- Análise de variância referente aos modelos lineares de efeitos mistos (LME) para diferenças na densidade das espécies entre os tratamentos. Os valores de p indicam significância a $p < 0.05$, df = graus de liberdade, Sum Sq = soma dos quadrados, Mean Sq = quadrado médio.

LME-ANOVA para densidade das espécies				
	numDf	denDf	F value	Pr(>F)
Intercept	1	88	101.82	<.0001
			64	
Temperatura	2	88	5.2712	0.0069

Nutriente	1	88	3.1961	0.0773
Detrito	1	88	0.0076	0.9307
Predação	1	88	0.5846	0.4466
Temperatura ~ Detrito	2	88	2.2231 5	0.1143
Temperatura ~ Nutriente	2	88	2.2850	0.1078
Detrito ~ Nutriente	1	88	0.7809	0.3793
Temperatura ~ Predação	2	88	3.1563	0.0474
Detrito ~ Predação	1	88	1.1927	0.2778
Nutriente ~ Predação	1	88	0.1316	0.7176
Temperatura ~ Detrito ~ Nutriente	2	88	1.6015	0.2074
Temperatura ~ Detrito ~ Predação	2	88	1.2822	0.2825
Temperatura ~ Nutriente ~ Predação	2	88	3.1832	0.0463
Detrito ~ Nutriente ~ Predação	1	88	0.1973	0.6580
All factors	2	88	0.4881	0.6154

Devido à significância da temperatura para a densidade, realizou-se o Teste de Tukey para comparar os tratamentos de temperatura, que indicaram efeito do aquecimento constante e aquecimento flutuante em relação à temperatura controle (Tabela 3). Para a riqueza de espécies (Figura 3) não se observou efeito de nenhum dos estressores sobre a comunidade (Tabela 4).

Tabela 3- Teste post hoc de TukeyHSD para observação de diferenças na densidade de espécies dentro de cada tratamento de temperatura (fator significativo da LME-ANOVA).

TukeyHSD para densidade das espécies				
Temperatura				
	Diff	Lwr	Upr	P adj
Temp. Ambiente – Aquecimento	-2.1896	-4.2261	-0.1532	0.0319
Flutuante- Aquecimento	0.0334	-2.0030	2.0698	0.9991
Flutuante – Temp. Ambiente	2.2230	0.1999	4.2462	0.0275

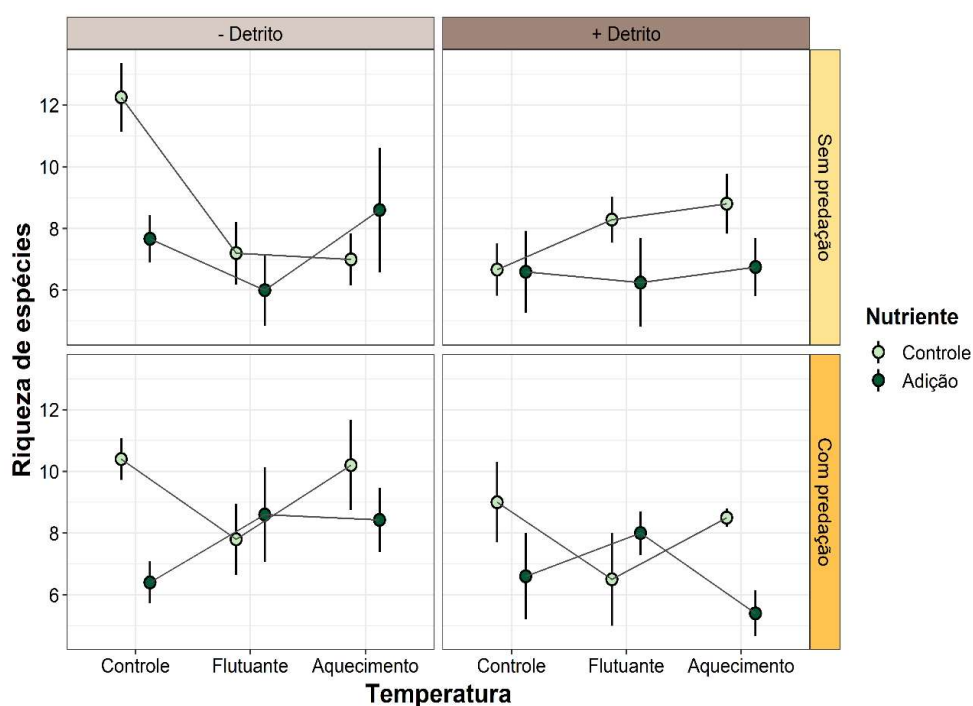


Figura 3- Efeito da predação, aquecimento, detritos e da concentração de nutrientes sobre a riqueza total de espécies da comunidade (amebas testáceas, rotíferos e cladóceros).

Tabela 4- Análise de variância referente aos modelos lineares de efeitos mistos (LME) para diferenças na riqueza total de espécies entre os tratamentos. Os valores de p em negrito indicam significância a $p < 0.05$.

LME-ANOVA para riqueza das espécies				
	numDf	denDf	F value	Pr(>F)
Intercept	1	88	101.82	<.0001
			64	
Temperatura	2	88	5.2712	0.5944

Nutriente	1	88	3.1961	0.0626
Detrito	1	88	0.0076	0.2266
Predação	1	88	0.5846	0.0894
Temperatura ~ Detrito	2	88	2.2231 5	0.7278
Temperatura ~ Nutriente	2	88	2.2850	0.1541
Detrito ~ Nutriente	1	88	0.7809	0.5030
Temperatura ~ Predação	2	88	3.1563	0.3629
Detrito ~ Predação	1	88	1.1927	0.4171
Nutriente ~ Predação	1	88	0.1316	0.0873
Temperatura ~ Detrito ~ Nutriente	2	88	1.6015	0.1824
Temperatura ~ Detrito ~ Predação	2	88	1.2822	0.5609
Temperatura ~ Nutriente ~ Predação	2	88	3.1832	0.4811
Detrito ~ Nutriente ~ Predação	1	88	0.1973	0.7889
All factors	2	88	0.4881	0.9988

Em relação à contribuição relativa dos grupos para a densidade total (Figura 4), observou-se uma alta dominância de rotíferos nos diferentes tratamentos, considerando a presença (Figura 4A) e ausência de predador (Figura 4B). Posteriormente, observou-se uma menor densidade de amebas testáceas, seguida por cladóceros.

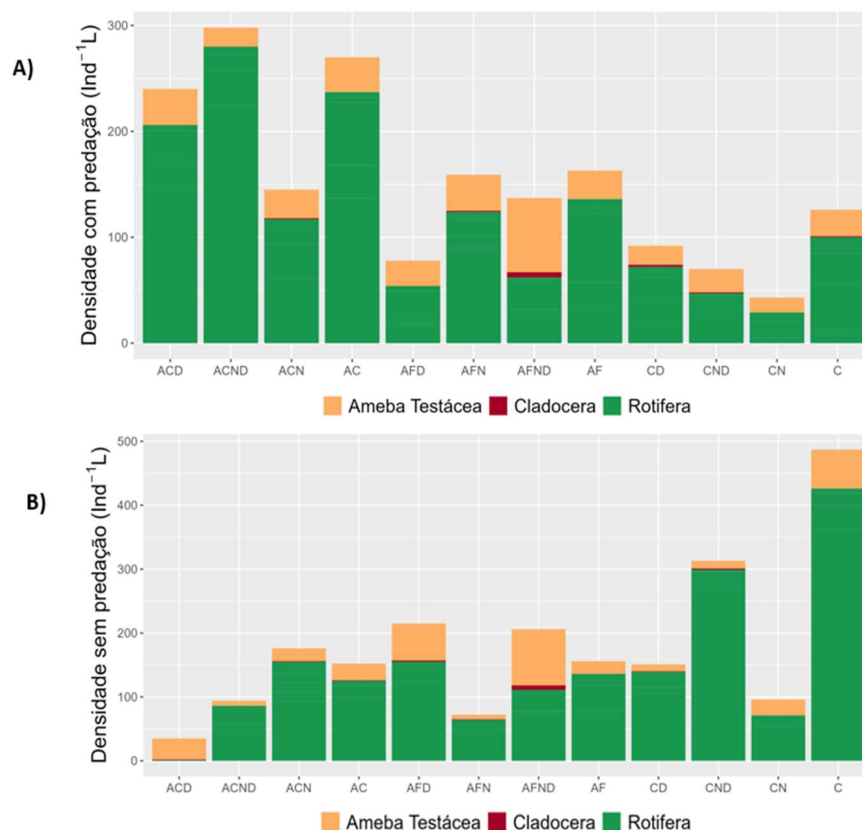


Figura 4- Contribuição relativa das espécies separada em “grandes grupos” através da densidade entre os tratamentos com predação (A) e sem predação (B). AC= Aquecimento Constante, AF= Aquecimento Flutuante, C= Temperatura Ambiente (controle), D= Detritos, N= Nutrientes.

A diversidade beta total das comunidades de amebas testáceas, rotíferos e cladóceros foi significativamente influenciada de forma isolada pela temperatura e presença de nutrientes, e com interação entre o aquecimento e presença de detritos (Tabela 5). O componente β_{repl} também foi afetado significativamente pela interação entre temperatura e detritos (Tabela 5). O componente de diversidade β_{rich} da comunidade foi significativamente afetado somente pela presença de nutrientes (Tabela 5).

Tabela 5- Efeito do aquecimento, presença de nutrientes, diminuição do aporte de detritos e predação por peixes sobre a composição dos organismos pela diversidade beta.

β_{total}				
	Df	SumOfsqs	F	Pr(>F)
Temperatura	2	1.034	1.8131	0.002
Detrito	1	0.252	0.8833	0.603
Nutriente	1	0.531	1.8621	0.011
Predação	1	0.283	0.9934	0.459
Temperatura ~ Detrito	2	1.353	2.3729	0.001
Residual	111	31.637		
β_{repl}				
	Df	SumOfsqs	F	Pr(>F)
Temperatura	2	0.8570	1.7369	0.002
Detrito	1	0.2220	0.8999	0.593
Nutriente	1	0.2399	0.9723	0.465
Predação	1	0.2167	0.8782	0.622
Temperatura ~ Detrito	2	1.0197	2.0667	0.001
Residual	111	27.3847		
β_{rich}				
	Df	SumOfsqs	F	Pr(>F)
Temperatura	2	0.0618	0.4360	0.949
Detrito	1	0.1334	1.8820	0.590
Nutriente	1	0.4491	6.3380	0.002
Predação	1	0.0458	0.6461	0.108
Residual	113	8.0075		

Analisando a composição das espécies entre os tratamentos através da Análise de Escalonamento Multidimensional (Figura 5) pela temperatura em relação aos nutrientes (dois únicos fatores significativos da diversidade beta), não se observou padrão na distribuição das espécies entre os tratamentos.

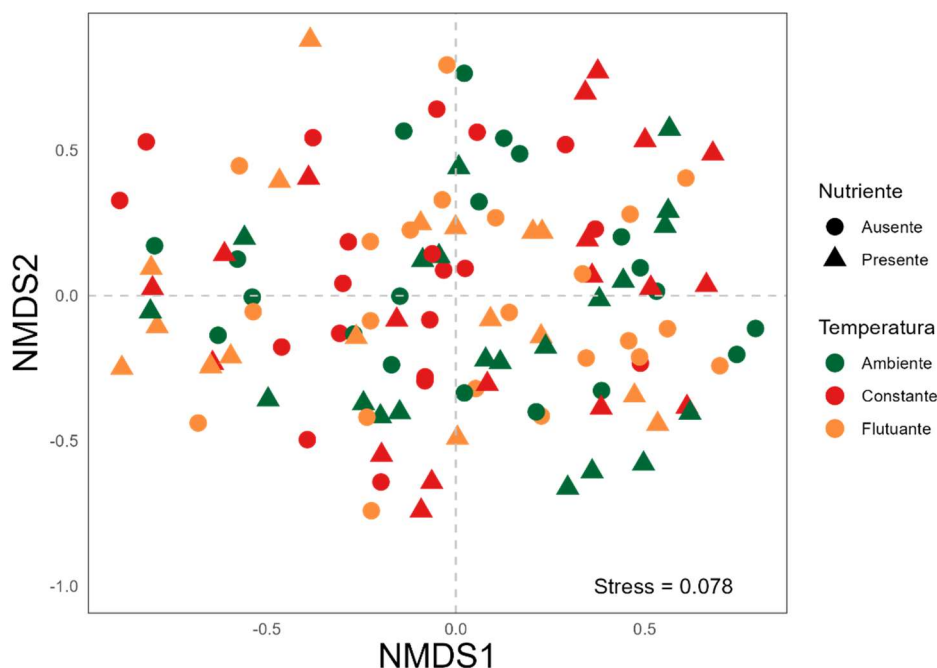


Figura 5- Análise de Escalonamento Multidimensional (NMDS) para a composição de espécies da comunidade de amebas testáceas, rotíferos e cladóceros perifíticos de acordo com a densidade entre os tratamentos de temperatura e presença/ausência de nutrientes.

2.4 Discussão

Dentre os resultados obtidos, as três predições formuladas podem ser parcialmente corroboradas, visto que para a predição I houve um aumento na densidade e diminuição na riqueza de espécies em determinados tratamentos, com efeito da temperatura sobre densidade. Em relação à predição II, a predação e a temperatura demonstraram efeito significativo na densidade dos microrganismos da comunidade, e para a terceira predição houve uma alteração na composição de espécies, porém somente um fator (disponibilidade de nutrientes) teve significância.

Com relação às Famílias encontradas no presente estudo, as Famílias Centropyxidae e Lecanidae, caracterizada pelas espécies do gênero *Centropyxis* (amebas testáceas) e *Lecane* (rotíferos), são comuns em ambientes aquáticos, e algumas espécies como *Centropyxis aculeata* podem reagir positivamente às mudanças ambientais causadas pelo aumento da temperatura da água, aumentando sua biomassa, diminuindo o requerimento de recursos alimentares (Kruk et al., 2022). Concomitantemente a este fator, a espécie *C. aculeata* possui caráter euritópico, isto

é, pode ser abundante tanto em ambientes eutróficos (com alta carga de nutrientes) quanto oligotróficos (com baixa carga de nutrientes) (Semensatto et al., 2023).

Analisando-se os resultados, não se evidenciaram diferenças significativas para a riqueza de espécies em relação ao efeito da temperatura isolado e em interação com os demais fatores. Em cenários de extremo aquecimento é esperada a perda da biodiversidade, induzindo na alteração de predadores de topo nos ecossistemas, causando uma reestruturação das cadeias alimentares e até mesmo perda da função do ecossistema (Caron & Hutchins, 2012). Tal perda de biodiversidade consiste no risco iminente de extinção de espécies no ambiente, através de perda da rede de interações entre os diferentes indivíduos de uma teia trófica (Merz et al., 2023).

Possivelmente a riqueza de espécies não foi afetada por nenhum dos fatores devido à quantidade de recursos disponível no compartimento perifítico, principalmente de microrganismos autotróficos. Estes constituem o recurso no compartimento perifítico para a parcela heterotrófica, afetando assim a composição das espécies no compartimento (Yin et al., 2023) e desempenhando um papel crucial no crescimento da comunidade dos seus predadores (como amebas testáceas, rotíferos e cladóceros). Concomitantemente, a disponibilidade de nutrientes dissolvidos no ambiente igualmente afeta a comunidade dos microrganismos autotróficos, impulsionando seu desenvolvimento (Lin et al., 2021; Massicotte et al., 2017), o que também favorece as interações interespecíficas, incluindo predação por microrganismos dentro da comunidade.

Embora a presença de nutrientes tenha influenciado significativamente a diversidade (β_{total} e β_{rich}) e composição das espécies entre os tratamentos, este estressor não têm tido significância para a riqueza e densidade dos organismos. Isso pode ser atribuído ao processo de colonização do novo ambiente, definido pela placa de acrílico, na qual essa colonização é impulsionada pela disponibilidade de recursos no compartimento (Zingel et al., 2018). Essa disponibilidade de recursos afeta a estrutura da comunidade perifítica. Essas comunidades são particularmente sensíveis às mudanças no status de nutrientes e ao mecanismo de controle de cima para baixo (top-down) exercido pelos consumidores (Zingel et al., 2023). Entretanto, em ambientes mais produtivos, com uma maior carga de nutrientes, os protistas (como as amebas testáceas) tendem a apresentarem maiores riquezas de espécies (Gadelha et al., 2023).

O fato da densidade dos organismos ter variado em tratamentos aquecidos, com positiva significância para o aquecimento constante e aquecimento flutuante em relação à temperatura controle, corrobora com o observado por Strecker, Cobbe, Vinebrooke (2004) para rotíferos em

lagos temperados, onde o aquecimento moderado incrementou a densidade de algumas espécies nesses ambientes. O aumento da temperatura é um estressor em potencial para as comunidades microbianas, e um dos grupos do compartimento perifítico, como as amebas testáceas têm o potencial de se reproduzem mais rapidamente em casos de estresse no ambiente (Kruk, Goździewska, Artiemjew, 2022). Tal alteração perturba o seu ciclo de vida, diminui sua biomassa (Sorf et al. 2015) e aumenta a sua densidade, em função do aumento da taxa reprodutiva, necessitando de um aumento no uso, ciclagem de carbono e outros nutrientes com o aquecimento (Song et al., 2021).

Foi observado efeito significativo da temperatura em sobre a predação, de forma que se registrou uma tendência de incremento da densidade (principalmente de rotíferos) em tratamentos aquecidos em conjunto com a presença do peixe predador. Isto parece sugerir que em ambientes naturais o aumento da temperatura pode alterar a comunidade de peixes, levando a maiores densidades de peixes de tamanhos menores, bem como a uma taxa de crescimento mais rápida e com tempo de vida reduzido (Jeppesen et al., 2010). Como consequência, esse efeito parece alterar a comunidade de amebas testáceas, rotíferos e cladóceros perifíticos, através do aumento da planctivoria e da biomassa de microrganismos autotróficos (Mao et al., 2023).

Tendo como base que o aumento da temperatura e o incremento das concentrações de nutrientes podem causar alterações nas teias alimentares pelágicas, as interações ecológicas podem ser modificadas devido a esses estressores. Isso altera a estrutura das redes alimentares dos grupos biológicos, como um aumento da dominância de organismos algívoros por indução a *blooms* de indivíduos autotróficos, por conta dos nutrientes (Chen et al., 2012), comprometendo o fornecimento de energia para níveis tróficos mais elevados (Zhao et al., 2023).

Os efeitos das mudanças climáticas, evidenciados em maior parte pelos eventos de aquecimento, têm afetado severamente o regime térmico dos ambientes aquáticos, alterando seus ecossistemas (Zingel et al., 2018); ambientes aquáticos, principalmente locais de menor profundidade, podem ser particularmente mais sensíveis ao aquecimento, pois a temperatura média da água aumenta mais rapidamente do que em corpos d'água mais profundos (Meerhoff et al., 2022). Tal efeito pode interferir nas cadeias tróficas do ambiente, aumentando o grau das interações indiretas entre os organismos das comunidades (Antiqueira et al., 2018).

Um estudo realizado em lagoas eutróficas rasas na Estônia (Karus et al., 2014) mostrou que a alimentação de peixes planctívoros teve um notável efeito indireto de formação na cadeia alimentar microbiana. Embora a predação não tenha tido significância para nenhum dos atributos (densidade, riqueza e composição), mesmo com o peixe escolhido podendo predar organismos aderidos a substratos e larvas de insetos flutuantes na coluna da água devido a seu hábito alimentar onívoro (Breviglieri, Pedro, 2008), pode-se supor que a presença do peixe tem potencial de afetar a cadeia trófica, visto que em diferentes estágios do desenvolvimento o peixe pode se alimentar de diferentes tipos de recursos, como demonstrado por Meira et al. (2022).

Tendo em vista uma tendência de aumento da densidade dos organismos, principalmente rotíferos, em tratamentos sob predação e com aquecimento constante, Rafalski et al. (2023) demonstram uma relação positiva em sistemas onde a magnitude das respostas comportamentais das espécies predadas é maior sob taxas de predação mais altas por parte dos peixes. Tal relação pode estar atrelada a fatores ambientais, como características do habitat, que podem incluir a temperatura do local, e disponibilidade de recursos. Com isso, a predação do peixe pode não estar afetando diretamente a comunidade definida, e sim causando um efeito em outras frações que podem estar presentes em outros compartimentos, como na fração planctônica do ecossistema; Mao et al. (2023) sugerem que a proporção elevada da densidade de rotíferos está intimamente ligada a elevadas forças “de baixo para cima”. Indubitavelmente, os peixes podem ser importantes reguladores da função do ecossistema em sistemas aquáticos, na qual os efeitos positivos dos peixes nos ecossistemas podem ser fortalecidos pelo aumento da riqueza de espécies de outros grupos do ambiente (Hargrave, 2009).

Dado que as amebas testáceas demonstram aspecto alimentar predominantemente onívoro (Gomes e Souza, 2008), e considerando o papel regulador de rotíferos e cladóceros na ciclagem de carbono e nitrogênio (Song et al., 2021), inferiu-se que a diminuição do aporte natural de detritos não teve impacto significativo isoladamente nos tratamentos. No entanto, ao analisar esse fator em conjunto com a temperatura em relação à diversidade beta, observou-se significância. Progênio et al. (2023) demonstra que os detritos podem não ter efeito positivo sobre os organismos referentes ao zooplâncton, visto que este fator (em correlação aos nutrientes dissolvidos) pode levar ao aumento da pressão de predação sobre comunidades aquáticas, como algas, favorecendo os predadores. Corroborado ao encontrado por Fierro-González et al. (2023), detritos não têm tido significância para a estruturação da comunidade zooplânctônica em seu estudo, devido à alta dominância desta comunidade no ambiente que os

autores analisaram, o qual pode ser testificado para a comunidade de amebas testáceas, rotíferos e cladóceros aderidos ao perifíton, visto que esses apresentaram alta densidade nos tratamentos.

2.5 Conclusão

A presente pesquisa sugere que o aumento das mudanças globais determina alterações significativa sobre a densidade da comunidade de amebas testáceas, rotíferos e cladóceros associados ao compartimento perifítico. Tal fato demonstra a necessidade de se entender como essas mudanças atuam em ecossistemas aquáticos de água doce. Embora se tivesse uma expectativa de efeitos expressivos e significativos da predação sobre a estrutura e composição das comunidades estudadas, mesmo com uma tendência de incremento da densidade dos organismos em tratamentos associados à predação, sugerindo uma influência pouco expressiva da predação para determinados grupos, nos distintos compartimentos dos ambientes aquáticos. A composição foi afetada pelos nutrientes, mesmo com uma similaridade das espécies entre os tratamentos; essa resposta da comunidade à presença de nutrientes no ambiente aquático indica a relevância e necessidade do gerenciamento da entrada de compostos químicos (e.g. fertilizantes) nos corpos aquáticos. Portanto, a compreensão da interação entre diversos estressores ambientais é fundamental para promover a preservação a longo prazo dos ecossistemas aquáticos.

REFERÊNCIAS

- Anderson, M. J. (2005). PERMANOVA: a FORTRAN computer program for permutational multivariate analysis of variance. Auckland, NZL: Department of Statistics, University of Auckland, 2005.
- Antiqueira, P. A. P., O. L. Petchey & G. Q. Romero, 2018. Warming and top predator loss drive ecosystem multifunctionality. *Ecology Letters*, 21(1): 72-82. <https://doi.org/10.1111/ele.12873>.
- Antiqueira, P. A. P., O. L. Petchey, F. Rezende, L. F. M. Velho, L. C. Rodrigues & G. Q. Romero, 2021. Warming and top predator loss drive direct and indirect effects on multiple

trophic groups within and across ecosystems. *Journal of Animal Ecology*, 91(2): 428-442. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.13640>.

Bates, D., M. Mächler, B. Bolker & S. Walker, 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1): 1-51. <https://doi.org/10.48550/arXiv.1406.5823>.

Bernabé, T.N., P. M. de Omena, V. P. D. Santos, V. M. de Siqueira, V.M. de Oliveira & G. Q. Romero, 2018. Warming weakens facilitative interactions between decomposers and detritivores and modifies freshwater ecosystem functioning. *Global change biology*, 24(7): 3170-3186. <https://doi.org/10.1111/gcb.14109>.

Breviglieri, C. P. B. & W. A. Pedro, 2008. Primeiro registro de predação de *Poecilia reticulata* Peters, 1859 e *Phalloceros caudimaculatus* (Hensel, 1868) por *Noctilio leporinus* (Linnaeus, 1758) (Chiroptera, Noctilionidae). *Chiroptera Neotropical*, 14(2): 391-396.

Cardoso, P., S. Mammola, F. Rigal & J. C. Carvalho, 2020. BAT: Biodiversity Assessment Tools. version 1.6. 0. R package. Release date, 4-10. <http://cran.r-project.org/web/packages/BAT/index.html>.

Cardinale, B. J., J. P. Wright, M. W. Cadotte, I. T. Carroll, A. Hector, D. S. Srivastava, M. Loreau & Weis, J. J., 2007. Impacts of plant diversity on biomass production increase through time because of species complementarity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(46): 18123–18128. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709069104>.

Caron, D. A. & D. A. Hutchins, 2013. The effects of changing climate on microzooplankton grazing and community structure: drivers, predictions and knowledge gaps. *Journal of Plankton Research*, 35(2): 235-252. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbs091>.

Chen, B., M. R. Landry, B. Huang, & H. Liu, 2012. Does warming enhance the effect of microzooplankton grazing on marine phytoplankton in the ocean? *Limnol. Oceanogr.* 57: 519–526. <https://doi.org/10.4319/lo.2012.57.2.0519>.

De Melo, T. X., J. D. Dias, N. R. Simões & C. C. Bonecker, 2019. Effects of nutrient enrichment on primary and secondary productivity in a subtropical floodplain system: an experimental approach. *Hydrobiologia*, 827(1): 171-181. <https://doi.org/10.1007/s10750-018-3763-0>.

Effert-Fanta, E. L., R. U. Fischer & D. H. Wahl, 2019. Effects of riparian forest buffers and agricultural land use on macroinvertebrate and fish community structure. *Hydrobiologia*, 841(1): 45-64. <https://doi.org/10.1007/s10750-019-04006-1>.

Elmoor-Loureiro, L. M. A., 1997. Manual de identificação de cladóceros límnicos do Brasil.

Elmoor-Loureiro, L. M. A., F. D. R. Sousa, F. R. Oliveira, C. Y. Joko, G. Perbiche-Neves, A. C. S. da Silva, A. J. Silva, A. R. Ghidini, B. R. Meira, C. E. G. Aggio, C. S. Morais-Junior, E. M. Eskinazi-Sant'Anna, F. M. Lansac-Tôha, G. S. Cabral, J. L. Portinho, J. R. Nascimento, J. V. F. Silva, L. Veado, L. O. Santana, L. J. Chiarelli, L. P. Diniz, L. S. M. Braghin, L. T F. Schwind, M. Melo Junior, M. Progênio, M. A. Rocha, M. L. C. Silva, M. S. M. Castilho-Noll, N. J. Silva, N. G. Santos, P. H. R. Morari, P. Maia-Barbosa, P. M. Oliveira, R. L. Arrieira, R. L. Macêdo, S. Deosti, T. Mantovano, V. Gazulha, C. C. Bonecker, F. A. Lansac-Tôha, P. H. C. Corgosinho, L. F. M. Velho & N. R. Simões, 2022. Towards a synthesis of the biodiversity of freshwater Protozoa, Rotifera, Cladocera, and Copepoda in Brazil. *Limnologia*, 126008. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2022.126008>.

Fierro-González, P., M. Pagano, L. Guilloux, N. Makhoul, M. Tedetti & F. Carlotti, 2023. Zooplankton biomass, size structure, and associated metabolic fluxes with focus on its roles at the chlorophyll maximum layer during the plankton-contaminant MERITE-HIPPOCAMPE cruise. *Marine Pollution Bulletin*, 193: 115056. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115056>.

Gadelha, E. S., B. Dunk, L. F. Colares & A. Akama, 2023. Temporal patterns of alpha and beta diversities of microzooplankton in a eutrophic tidal river in the eastern Amazon. *Limnology*, 24: 1-12. <https://doi.org/10.1007/s10201-023-00717-6>.

Gomes e Souza, M. B., 2008. Guia das tecamebas: bacia do rio Peruaçu, Minas Gerais: subsídio

Gulin, V., R. M. Kepčija, M. S. Perić, I. Felja, H. Fajković & K. Križnjak, 2021. Environmental and periphyton response to stream revitalization— A pilot study from a tufa barrier. *Ecological Indicators*, 126: 107629. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.107629>.

Haase, P., D. E. Bowler, N.J. Baker, N. Bonada, S. Domisch, J. R. Garcia Marquez & E. A. Welte, 2023. The recovery of European freshwater biodiversity has come to a halt. *Nature*, 620(7974): 582-588. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06400-1>.

Hargrave, C. W., 2009. Effects of fish species richness and assemblage composition on stream ecosystem function. *Ecology of Freshwater Fish*, 18(1): 24-32. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0633.2008.00318.x>.

Hoegh-Guldberg, O., 2018. Impacts of 1.5°C global warming on natural and human systems. In: Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S.K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex, P.M. Midgley (eds.) IPCC: Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Working Group I Contribution to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2013, p. 1535.

Höök, T. O., C. J. Foley, P. Collingsworth, L. Dorworth, B. Fisher, J. T. Hoverman, L. Elizabeth, M. Pyron & J. Tank, 2020. An assessment of the potential impacts of climate change on freshwater habitats and biota of Indiana, USA. *Climatic Change*, 163(4): 1897-1916. <https://doi.org/10.1007/s10584-019-02502-w>.

Huang, J., S. Xu, S. Lu, B. Zhao & F. X. Chen, 2017. Effect of nitrogen removal by ecological permeable belts treating domestic wastewater of Erhai Lake basin. *Chin J Environ Eng*, 11(10): 5409-5416.

IPCC. (2022). Climate Change 2022: Impacts, Adaptation and Vulnerability Working Group II Contribution to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.

Jeppesen, E., M. Meerhoff, K. Holmgren, I. Gonzalez-Bergonzoni, F. Teixeira-de Mello, S. A. J. Declerck, L. de Meester, M. Søndergaard, T. L. Lauridsen, R. Bjerring, J. M. Conde-Porcuna, N. Mazzeo, C. Iglesias, M. Reizenstein, H. J. Malmquist, Z. Liu, D. Balayla & X. Lazzaro, 2010. Impacts of climate warming on lake fish community structure and potential effects on ecosystem function. *Hydrobiologia*, 646:73–90. <https://doi.org/10.1007/s10750-010-0171-5>.

Junger, P. C., F. C. C. Dantas, R. L. G. Nobre, S. Kosten, E. M. Venticinque, F. C. Araújo, H. Sarmiento, R. Angelini, I. Terra, A. Gaudêncio, N. H. They, V. Becker, C. R. Cabral, L. Quesado, L. S. Carneiro, A. Caliman, A. M. Amado, 2019. Effects of seasonality, trophic state and landscape properties on CO₂ saturation in low-latitude lakes and reservoirs. *Science of the Total Environment*. 664: 283–295. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.273>.

Kilner, C. L., A. A. Carrell, D. J. Wieczynski, S. Votzke, K. DeWitt, A. Yammine, J. Shaw, D. A. Pelletier, D.J. Weston & J. P. Gibert, 2023. Climate Change Factors Interactively Shift

- Peatland Functional Microbial Composition in an Ecosystem Warming Experiment. *bioRxiv*, 2023-03. <https://doi.org/10.1101/2023.03.06.531192>.
- Karus, K., T. Paaver, H. Agasild & P. Zingel, 2014. The effects of predation by planktivorous juvenile fish on the microbial food web. *European Journal of Protistology*, 50: 109–121. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2014.01.006>.
- Kim, M.S., K. H. Kim, S. J. Hwang & T. K. Lee, 2021. Role of algal community stability in harmful algal blooms in river-connected lakes. *Microbial Ecology*, 82:309–318. <https://doi.org/10.1007/s00248-020-01676-6>.
- Koste, W. (1978). *Rotatoria. Die Rädertiere Mitteleuropas, begründet von Max Voigt. Überordnung Monogononta*. Gebrüder Borntraeger, Berlin, Stuttgart. I. Text (673 pp) u. II. Tafelbd.
- Kratina, P., H. S. Greig, P. L. Thompson, T. S. Carvalho-Pereira & J. B. Shurin, 2012. Warming modifies trophic cascades and eutrophication in experimental freshwater communities. *Ecology*, 93(6): 1421-1430. <https://doi.org/10.1890/11-1595.1>.
- Kruk, M., A. M. Goździewska & P. Artiëmjew, 2022. Predicting the effects of winter water warming in artificial lakes on zooplankton and its environment using combined machine learning models. *Scientific Reports*, 12(1): 16145. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-20604-x>.
- Legendre, P. & L. Legendre, 2012. *Numerical ecology*. Elsevier.
- Lin, S. S., S. L. Shen, A., Zhou & H. M. Lyu, 2021. Assessment and management of lake eutrophication: A case study in Lake Erhai, China. *Science of the Total Environment*, 751: 141618. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141618>.
- Liu, L., S. Wang, J. Yang & J. Chen, 2021. Nutrient Removal in Eutrophic Water Promotes Stability of Planktonic Bacterial and Protist Communities. *Microbial Ecology*, 84: 759-768. <https://doi.org/10.1007/s00248-021-01898-2>.
- Mao, Z., Y. Cao, X. Gu, Q. Zeng, H. Chen & E. Jeppesen, 2023. Response of zooplankton to nutrient reduction and enhanced fish predation in a shallow eutrophic lake. *Ecological Applications*, 33(1): e2750. <https://doi.org/10.1002/eap.2750>.

- Massicotte, P., E. Asmala, C. Stedmon & S. Markager, 2017. Global distribution of dissolved organic matter along the aquatic continuum: Across rivers, lakes and oceans. *Science of the Total Environment*, 609: 180-191. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.076>.
- Maryam, 2022. Biodiversity Of Periphytic Community In A Fresh Waterbody Of Aligarh. *International Journal of Life Sciences Research*, 10(2): 21–32.
- Meerhoff, M., J. Audet, T. A. Davidson, L. De Meester, S. Hilt, S. Kosten, L. Zhegwen, N. Mazzeo, H. Paerl, M. Scheffer & E. Jeppesen, 2022. Feedback between climate change and eutrophication: revisiting the allied attack concept and how to strike back. *Inland Waters*, 12(2): 187-204. <https://doi.org/10.1080/20442041.2022.2029317>.
- Meira, B. R., F. R. Oliveira, F. M. Lansac-Toha, B. T. Segovia, M. Progenio, F. A. Lansac-Tôha & L. F. M. Velho, 2022. The importance of protists as a food resource for *Astyanax lacustris* (Osteichthyes, Characiformes) larvae at different stages of development. *Hydrobiologia*, 849(3): 781-794. <https://doi.org/10.1007/s10750-021-04734-3>.
- Meerhoff, M., J. Audet, T. A. Davidson, L. De Meester, S. Hilt & S. Kosten, 2022. Feedback between climate change and eutrophication: revisiting the allied attack concept and how to strike back. *Inland Waters*, 12:187–204. <https://doi.org/10.1080/20442041.2022.2029317>.
- Merz, E., E. Saberski, L. J. Gilarranz, P. D. Isles, G. Sugihara, C. Berger & F. Pomati, 2023. Disruption of ecological networks in lakes by climate change and nutrient fluctuations. *Nature Climate Change*, 13: 389-396. <https://doi.org/10.1038/s41558-023-01615-6>.
- Moura, C. G. B., E. Rocha, J. L. Attayde, N. Noyma, L. Oliveira Vidal, L. M. Fonseca, F. Roland & A. M. Amado, 2022. Fresh terrestrial detritus fuels both heterotrophic and autotrophic activities in the planktonic food web of a tropical reservoir: a mesocosm study. *Hydrobiologia*, 849(17): 3931-3946. <https://doi.org/10.1007/s10750-021-04754-z>.
- Oksanen, J. F., G. Blanchet, R. Kindt, P. Legendre, P. R. Minchin & O'Hara, R. B, 2019. *vegan: Community ecology package*. R package version 2.5–6.
- Pereira, S. R. S., C. C. Bonecker & L. Rodrigues, 2007. Influence of water level on periphytic meiofaunal abundance in six lagoons of the Upper Paraná River floodplain, Brazil. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 19(3): 273-283.

- Podani, J. & D. Schmera, 2011. A new conceptual and methodological framework for exploring and explaining pattern in presence-absence data. *Oikos*, 120(11): 1625-1638. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2011.19451.x>.
- Progênio, M., P. A. P. Antigueira, F. R. Oliveira, B. R. Meira, F. M. Lansac-Tôha, L. C. Rodrigues, G. Q. Romero, L. N. Nash, P. Kratina & L. F. M. Velho, 2023. Effects of warming on the structure of aquatic communities in tropical bromeliad microecosystems. *Ecology and Evolution*, 13(2): e9824. <https://doi.org/10.1002/ece3.9824>.
- Rafalski, A. V., Pangle, K. L., & Peacor, S. D. (2023). Higher predation rate need not and did not lead to higher risk-induced trait responses in related zooplankton species. *Oikos*, e09791.
- Rose, K. C., B. Bierwagen, S. D. Bridgham, D. M. Carlisle, C. P. Hawkins, N. L. Poff, J. S. Read, J. R. Rohr, J. E. Saros & C. E. Williamson, 2023. Indicators of the effects of climate change on freshwater ecosystems. *Climatic Change*, 176(3): 23. <https://doi.org/10.1007/s10584-022-03457-1>.
- Semensatto, D., N. S. Yamagami, S. M. Vieira, C. S. Marques, L. Fontana & T. Püttker, 2023. Arcellinida (testate lobose amoebae) in sediments of a tropical water-supply reservoir are reliable indicators of past trophic state shifts. *Journal of Paleolimnology*, 69(1): 77-97. <https://doi.org/10.1007/s10933-022-00263-8>.
- Soliveres, S., F. Van Der Plas, P. Manning, D. Prati, M. M. Gossner, S. C. Renner, F. Alt, H. Arndt, V. Baumgartner, J. Binkenstein, K. Birkhofer, S. Blaser, N. Bluthgen, S. Boch, S. Bohm, C. Borschig, F. Buscot, T. Diekotter, J. Heinze, N. Holz, K. Jung, V. H. Klaus, T. Kleinebecker, S. Klemmer, J. Krauss, M. Lange, E. Kathryn Morris, J. Muller, Y. Oelmann, J. Overmann, E. Pasalic, M. C. Rillig, H. Martin Schaefer, M. Schlöter, B. Schmitt, I. Schöning, M. Schrumpf, J. Sikorski, S. A. Socher, E. F. Solly, I. Sonnemann, E. Sorkau, J. Steckel, I. Steffan-Dewenter, B. Stempfhuber, M. Tschapka, M. Türke, P. C. Venter, C. N. Weiner, W. W. Weisser, M. Werner, C. Westphal, W. Wilcke, V. Wolters, T. Wubet, S. Wurst, M. Fischer & E. Allan, 2016. Biodiversity at multiple trophic levels is needed for ecosystem multifunctionality. *Nature*, 536: 456–459. <https://doi.org/10.1038/nature19092>.
- Song, L., L. Chang, S. Zhang, Y. Dou & D. Wu, 2021. Warming threatens the microbial communities in middle-high latitude peatland: evidence from testate amoebae. *Soil Biology and Biochemistry*, 153: 108105. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.108105>.

Šorř, M., T. A. Davidson, S. Brucet, R. F. Menezes, M. Søndergaard, T. L. Lauridsen, F. Landkildehus, L. Liboriussen & E. Jeppesen, 2015. Zooplankton response to climate warming: a mesocosm experiment at contrasting temperatures and nutrient levels. *Hydrobiologia*, 742: 185-203. <https://doi.org/10.1007/s10750-014-1985-3>.

Strecker, A. L., T. P. Cobb & R. D. Vinebrooke, 2004. Effects of experimental greenhouse warming on phytoplankton and zooplankton communities in fishless alpine ponds. *Limnology and Oceanography*, 49(4): 1182-1190. <https://doi.org/10.4319/lo.2004.49.4.1182>.

Tilman, D., F. Isbell & J. M. Cowles, 2014. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 45: 471-493. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-120213-091917>.

Tonin, A. M., J. F. Goncalves, P. Bambi, S. R. M. Couceiro, L. A. M. Feitoza, L. E. Fontana, N. Hamada, L. U. Hepp, V. G. Lezan-Kowalczyk, G. F. M. Leite, A. L. Lemes-Silva, L. K. Lisboa, R. C. Loureiro, R. T. Martins, A. O. Medeiros, P. B. Morais, Y. Moretto, P. C. A. Oliveria, E. B. Pereira, L. P. Ferreira, J. Perez, M. M. Petrucio, D. F. Reis, R. Rezende, N. Roque, L. E. P. Santos, A. E. Siegloch, G. Tonello & L. Boyero, 2017. Plant litter dynamics in the forest-stream interface: Precipitation is a major control across tropical biomes. *Scientific Reports*, 7(1): 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10576-8>.

Traill, L.W., L. Lin, N. S. Sodhi & C. J. A. Bradshaw, 2010. Mechanisms driving change: altered species interactions and ecosystem function through global warming. *Journal Animal Ecology*, 79: 937-947. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2010.01695.x>.

Velho, L. F. M., S. D. F. R. Castro, F. M. Lansac-Tôha, B. R. Meira, F. R. Oliveira, G. M. Alves & F. A. Lansac-Tôha, 2021. Spatial and temporal variation in species composition of ciliates communities (Alveolata, Ciliophora) from tropical urban and rural streams. In *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology*, 57: 24. <https://doi.org/10.1051/limn/2021022>.

Woodward, G., D. M. Perkins, L. E Brown, 2010. Climate change and freshwater ecosystems: impacts across multiple levels of organization. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences Royal Society*, 365: 2093–2106. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0055>.

Yin, C., Y. Yang, L. Ni, Y. Chen, Z. Wen, H. Su & L. Guo, 2023. Temperature, nutrients and planktivorous fish predation interact to drive crustacean zooplankton in a large plateau

lake, southwest China. *Aquatic Sciences*, 85(1): 22. <https://doi.org/10.1007/s00027-022-00921-z>.

Yirigui, Y., S. W. Lee, A. P. Nejadhashemi, M. R. Herman & J. W. Lee, 2019. Relationships between riparian forest fragmentation and biological indicators of streams. *Sustainability*, 11(10): 2870. <https://doi.org/10.3390/su11102870>.

Yvon-Durocher, G., J. M. Montoya, M. Trimmer & G. Woodward, 2011. Warming alters the size spectrum and shifts the distribution of biomass in freshwater ecosystems. *Global Change Biology*, 17(4): 1681-1694. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02321.x>.

Zingel, P., E. Jeppesen, T. Nöges, J. Hejzlar, U. N. Tavşanoğlu, E. Papastergiadou, U. Scharfenberger & H. Agasild, 2023. Changes in nutrient concentration and water level affect the microbial loop: a 6-month mesocosm experiment. *Aquatic Ecology*, 57(2): 369-381. <https://doi.org/10.1007/s10452-023-10015-z>.

Zingel, P., F. Cremona, T. Nöges, Y. Cao, E. M. Neif, J. Coppens, U. Işkın, T. L. Lauridsen, T. A. Davidson, M. Sondergaard, M. Beklioglu & E. Jeppesen, 2018. Effects of warming and nutrients on the microbial food web in shallow lake mesocosms. *European journal of protistology*, 64: 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2018.03.001>.

Zou, K., R. Wang, S. Xu, Z. Li, L. Liu, M. Li & L. Zhou, 2021. Changes in protist communities in drainages across the Pearl River Delta under anthropogenic influence. *Water Research*, 200: 117294. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117294>.

Zhao, Q., P. J. Van den Brink, C. Xu, S. Wang, A. T. Clark, C. Karakoç, G. Sugihra, C. E. Widdicombe, A. Atkinson, S. S. Matsuzaki, R. Shinohra, S. He, Y. X. G., Wang & F. De Laender, 2023. Relationships of temperature and biodiversity with stability of natural aquatic food webs. *Nature Communications*, 14(1): 3507. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38977-6>.

Zhang, H., P. Zhang, H. Wang, J. García Molinos, L.-A. Hansson, L. He, M. Zhang & J. Xu, 2021. Synergistic effects of warming and eutrophication alter zooplankton predator–prey interactions along the benthic–pelagic interface. *Global Change Biology*, 27: 5907–5919, <https://doi.org/10.1111/gcb.15838>.

3 IMPACTO DAS MUDANÇAS GLOBAIS SOBRE A ESTRUTURA DA COMUNIDADE DE AMEBAS TESTÁCEAS PLANCTÔNICAS

RESUMO

As mudanças globais, resultantes principalmente das atividades humanas, têm impacto significativo nos ecossistemas naturais. O aumento da temperatura em ambientes aquáticos resulta na perda de espécies menos tolerantes, enquanto a entrada de nutrientes pode influenciar a produtividade e o crescimento populacional. Ademais, a modificação na entrada de detritos orgânicos no ambiente aquático afeta as transferências de energia e matéria orgânica nas cadeias alimentares. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar experimentalmente o efeito das mudanças climáticas (aumento da temperatura) e uso do solo (entrada de nutrientes e redução de detritos orgânicos) sobre a comunidade de amebas testáceas. Para isso, conduziu-se um experimento em mesocosmos artificiais, com tratamentos de temperatura, manipulada em três condições: controle/temperatura ambiente, aumento constante de 4°C e flutuação entre 2°C e 6°C acima do controle, aplicadas com ou sem enriquecimento por nitrogênio e fósforo e redução de detritos orgânicos. Como resultados, o aquecimento revelou uma tendência de redução na riqueza de espécies, enquanto a presença de nutrientes a incrementou, sendo o tempo um fator relevante para a riqueza. Quanto à densidade, nutrientes e tempo foram os principais fatores responsáveis por suas alterações. A análise da diversidade de espécies através do índice de Shannon revelou maiores diversidades nos tratamentos com temperatura controle, com o tempo variando a diversidade comunidade ao longo do experimento. Para a composição das espécies, a diversidade beta total destacou a significância de temperatura, presença de detritos e tempo. Os componentes β_{repl} e β_{rich} foram afetados notavelmente por temperatura e tempo, indicando alterações na identidade das espécies. Conclui-se que mudanças ambientais impactam a diversidade e densidade de amebas testáceas planctônicas, provocando alterações na comunidade entre diferentes tratamentos, podendo reduzir a diversidade na comunidade de amebas testáceas frente a mudanças climáticas e uso do solo. Negativamente, o aumento da temperatura demonstra a vulnerabilidade das comunidades de água doce, sejam de microrganismos a organismos maiores, frente a mudanças globais.

Palavras-chave: Protistas; Aquecimento global; estressores ambientais.

ABSTRACT

Global changes, resulting mainly from human activities, have a significant impact on natural ecosystems. Rising temperatures in aquatic environments result in the loss of less tolerant species, while nutrient inputs can influence productivity and population growth. In addition, changes in the entry of organic debris into the aquatic environment affect the transfer of energy and organic matter in food chains. The aim of this study was to experimentally evaluate the effect of climate change (temperature increase) and land use (nutrient input and reduction of organic debris) on the testaceous amoeba community. To this end, an experiment was carried out in artificial mesocosms, with temperature treatments manipulated in three conditions: control/room temperature, constant increase of 4°C and fluctuation between 2°C and 6°C above the control, applied with or without enrichment by nitrogen and phosphorus and reduction of organic detritus. The results indicate that heating reduced species richness, while the presence of nutrients increased it, with time being a relevant factor for richness. As for density, nutrients and time were the main factors responsible for these changes. Analysis of species diversity using the Shannon index revealed greater diversity in the treatments with control temperature, with time varying community diversity throughout the experiment. For species composition, total beta diversity highlighted the significance of temperature, presence of debris and time. The β_{repl} and β_{rich} components were notably affected by temperature and time, indicating changes in species identity. It is concluded that environmental changes impact community diversity and density, causing changes in species between different treatments, and may reduce diversity in the testate amoeba community in the face of climate and land use changes. Negatively, the increase in temperature demonstrates the vulnerability of freshwater communities, from microorganisms to larger organisms, to global change.

Keywords: Protists; Global warming; environmental stressors.

3.1 Introdução

As mudanças ambientais registradas em ambientes naturais estão notadamente atreladas às ações humanas (Sabater et al., 2023). Atividades antrópicas intensas, como emissão de poluentes, queima de combustíveis fósseis e aumento dos gases do efeito estufa colaboram para o aquecimento global, propiciando severa deterioração ambiental e risco crescente de perda de biodiversidade (Kratina et al., 2019; Zou et al., 2021). Portanto, uma das maiores preocupações relacionadas às mudanças globais é a magnitude dos impactos que o aumento da temperatura pode causar sobre os ecossistemas (Hautier et al., 2015; Nunez et al., 2019).

O aumento da temperatura em ecossistemas aquáticos pode ter efeitos diretos sobre as diferentes espécies do ambiente, modificando assim o funcionamento do ecossistema ao considerar as funções desempenhadas pelas espécies na manutenção do equilíbrio ecossistêmico (Greenspan et al., 2020). Esses efeitos podem interferir nos processos metabólicos e no crescimento populacional das espécies, contribuindo para a diminuição de predadores de topo, visto que estresses no ambiente aquático afetam como as espécies interagem entre si, alterando a força da competição ou taxa de consumo de presas por um predador mais acentuadamente (O’Gorman et al., 2023). Juntamente a isso, o risco de perda da biodiversidade causado pelo aquecimento é notório, dado que em determinados ambientes as mudanças drásticas de temperatura levam à perda constante de indivíduos sensíveis a hipertermia (Gallagher, Fraser, 2024).

Juntamente dos efeitos da temperatura sobre os ambientes aquáticos, a entrada de nutrientes, derivada tanto de atividades em áreas rurais como urbanas, tem potencial de modificar a estrutura das comunidades dentro desses ambientes (Wu, Lu, 2021). O impacto da eutrofização em corpos aquáticos pode influenciar de maneira direta a produtividade das comunidades microbianas (principalmente de microrganismos fotossintetizantes) e os processos metabólicos relacionados ao crescimento populacional (Slowinski et al., 2023). Isso estimula um aumento na produtividade dos consumidores (como organismos da fração planctônica do ambiente), disponibilizando recurso alimentar para as cadeias tróficas superiores (controle “*bottom-up*”), conforme destacado por Zingel et al. (2018).

Concomitantemente à essas alterações mencionadas acima, mudanças no uso do solo no entorno de corpos de água alteram também a entrada de detritos orgânicos nesses ambientes,

detritos esses essenciais para a produtividade de corpos de água corrente, especialmente aqueles de baixa ordem, que são de grande importância para a manutenção do ecossistema (Jankowski et al., 2021). Modificações ou perturbações na entrada de detritos orgânicos no ambiente aquático podem resultar em impactos diretos nas transferências de matéria orgânica alóctone entre ecossistemas terrestres e aquáticos, determinando modificação na estrutura do habitat e redução no fornecimento de recursos (Abd El-Hamid et al., 2020).

Portanto, múltiplos estressores antrópicos, tais como mudanças na temperatura, enriquecimento por nutrientes e diminuição no aporte natural de detritos podem impactar o metabolismo e os processos fisiológicos das comunidades aquáticas (Ono et al., 2020). Os protistas, organismos altamente sensíveis a mudanças ambientais, respondem com alterações em sua fisiologia e metabolismo frente a essas perturbações ambientais no decorrer no tempo. Atuam em diversos níveis tróficos, desempenhando papéis essenciais no ecossistema aquático, como atuação na ciclagem de nutrientes na cadeia trófica (Oliveira et al., 2024), fornecendo insights sobre a dinâmica e estrutura da comunidade frente a diferentes estressores (Garner et al., 2022; Velho et al., 2021). São, portanto, potenciais bioindicadores de mudanças climáticas (Guimarães Durán et al., 2024; Meira et al., 2021; Lansac-Tôha et al., 2021), bem como de alterações ambientais oriundas de modificações do uso do solo.

Dentre os protistas, o grupo das amebas testáceas (Rhizopoda) destacam-se em diversos ambientes aquáticos, tanto em termos de abundância, como de diversidade (Velho et al., 2003). As amebas testáceas possuem uma faixa de tamanho que varia de 20 micrômetros a tamanhos relativamente grandes, como acima de 350 micrômetros (Gomes e Souza, 2008). Se locomovem pela movimentação de seus pseudópodes, que também auxiliam na captura de presas, compostas por um amplo espectro de itens alimentares, tais como bactérias, diatomáceas, protistas, alguns metazoários e matéria orgânica morta (Gomes e Souza, 2008).

Nos ambientes de água doce, as amebas testáceas colonizam diferentes compartimentos, como compartimentos perifíticos de habitats como rios, lagos, brejos, lagoas, podendo ou não estar associadas à macrófitas aquáticas ou fitotelmas, como algumas espécies de bromélias (Velho et al., 2003). Mudanças ambientais induzidas pelo aquecimento podem afetar negativamente a comunidade de amebas testáceas (Basinska et al. 2020), visto que esses organismos atuam como predadores que regulam a ciclagem de carbono e nitrogênio (Song et al., 2021).

Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo geral investigar os efeitos do aquecimento, da diminuição do aporte de detritos e da disponibilidade de nutrientes sobre a estrutura (i.e densidade e riqueza) e composição da comunidade de amebas testáceas, usando mesocosmos como sistema modelo, a fim de observar a ação desses estressores sobre: **i)** os padrões temporais de riqueza e abundância de amebas testáceas; **ii)** os padrões temporais de composição de espécies de amebas testáceas. A hipótese formulada foi de que o aquecimento, diminuição no aporte de detritos e o enriquecimento por nutrientes (nitrogênio com fósforo), resultarão na modificação dos atributos da comunidade estudada (densidade e riqueza), bem como alterações na composição das espécies de amebas testáceas.

Como predições, formulou-se que: **i)** a riqueza de espécies responderá de forma positiva com um aumento na presença de nutrientes e detritos, enquanto que o aumento da temperatura terá um efeito negativo sobre a riqueza de amebas testáceas; **ii)** é esperado um aumento na densidade dos organismos nos tratamentos expostos ao enriquecimento por nutrientes (nitrogênio e fósforo) associados com a presença de detritos, sendo este efeito potencializado com o aumento da temperatura; **iii)** espera-se alteração na composição de espécies, frente aos múltiplos estressores (detritos, nutrientes e temperatura), em todos os tratamentos, principalmente em cenários de extremo aquecimento.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Área de estudo

O experimento em mesocosmos foi realizado no Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA), da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), no município de Paulínia, interior de São Paulo – Brasil. Para maiores detalhes sobre a área de estudo, ver primeira seção.

3.2.2 Delineamento experimental

Com intuito de examinar os impactos resultantes de distintos cenários de mudanças globais, assim como da adição de nutrientes e detritos, em comunidades de amebas testáceas, conduziu-se um experimento de Setembro de 2022 a Fevereiro de 2023, utilizando mesocosmos artificiais instalados em caixas de polietileno com capacidade para 300 litros de água (cuja

profundidade é de 54 centímetros), ao longo de 160 dias, com coletas realizadas em intervalos regulares, sendo respectivamente as coletas realizadas no T0, T3, T7, T20, T40, T60, T80, T100, T120, T140 e T160. Para maiores descrições sobre a montagem do experimento para presença dos propágulos biológicos, observar metodologia da seção anterior.

A ponto de simular as previsões de diferentes cenários de mudanças climáticas projetadas para o ano de 2100 pelo IPCC (2014), adotou-se três níveis de tratamento térmico: i) controle, mantendo-se na temperatura ambiente; ii) aquecimento em +4°C (“aquecimento constante” em relação ao tratamento controle); e iii) oscilações contínuas de +2°C a +6°C acima da temperatura do controle, representando instabilidade térmica (“aquecimento flutuante”). Calculando a temperatura média ambiente para todos os tempos amostrais, obteve-se uma temperatura média da água de 27.162°C, tendo um desvio padrão médio de 3.309°C para mais ou para menos nesse valor médio de temperatura. Os regimes de aquecimento foram controlados por um sistema automatizado, conectado a termorresistências de 300 Watts e sensores de temperatura (Antiqueira et al., 2018). Esse sistema ajustou automaticamente o funcionamento das termorresistências nos tanques adjacentes, elevando a temperatura conforme os valores de referência baseados no tanque de controle. As leituras dos sensores foram registradas a cada 30 minutos durante o experimento.

No contexto das mudanças no uso da terra, resultantes da conversão de vegetação ripária para práticas agropecuárias, aplicou-se as seguintes manipulações: i) enriquecimento nutricional através da adição de nitrogênio e fósforo, simulando o escoamento de fertilizantes agrícolas; e ii) redução do aporte de recursos alóctones (por exemplo, detritos orgânicos advindos de folhas), simulando a perda da vegetação ripária. O grupo controle reproduziu as condições naturais do ambiente, enquanto o tratamento com adição de nutrientes recebeu adição de ureia e fosfato monoamônico (MAP), dois tipos comuns de fertilizantes agrícolas usados globalmente. A adição foi feita em três pulsos distribuídos, a cada 20 dias, nos primeiros 40 dias de experimento. Cada pulso era composto pela adição de 1,048g de ureia e 217,65mg de MAP, numa razão molar N:P = 19,41. Esta forma de adição foi baseada em padrões anuais da frequência e quantidade de nitrogênio e fósforo lixiviado das principais lavouras agrícolas (como cana-de-açúcar, milho e arroz) registrados em literatura (Ghiberto et al., 2009; Simpson et al., 2009; Wang et al., 2019). Simultaneamente, a redução de recursos alóctones será simulada, mantendo um nível de controle com aporte de 131 g/m² de biomassa de detritos e um nível de 26,2 g/m², indicando uma redução de 80% no aporte de nutrientes (Tonin et al., 2017). Para replicar a presença de detritos, folhas secas de *Inga* sp. foram adicionadas. Os galhos

contendo as folhas foram coletados com 30 dias de antecedência para permitir o início do processo de envelhecimento das folhas. As folhas foram imersas em água por 5 dias para eliminar o excesso de nitrogênio por lixiviação e, em seguida, secas em estufa a 60°C por 48 horas, pesadas e trituradas para posterior utilização. Os detritos foram esterilizados em autoclave para prevenir a colonização por organismos oportunistas por meio desta via de entrada.

Neste desenho experimental, foram idealizados cinco blocos, na qual foram aleatorizados e estruturados, consistindo em 12 tratamentos por bloco e um total de 60 unidades experimentais (compreendendo os tratamentos de aquecimento, nutrientes e detritos = 12 x 5 blocos/réplicas = 60 mesocosmos/amostras) (Figura 1).

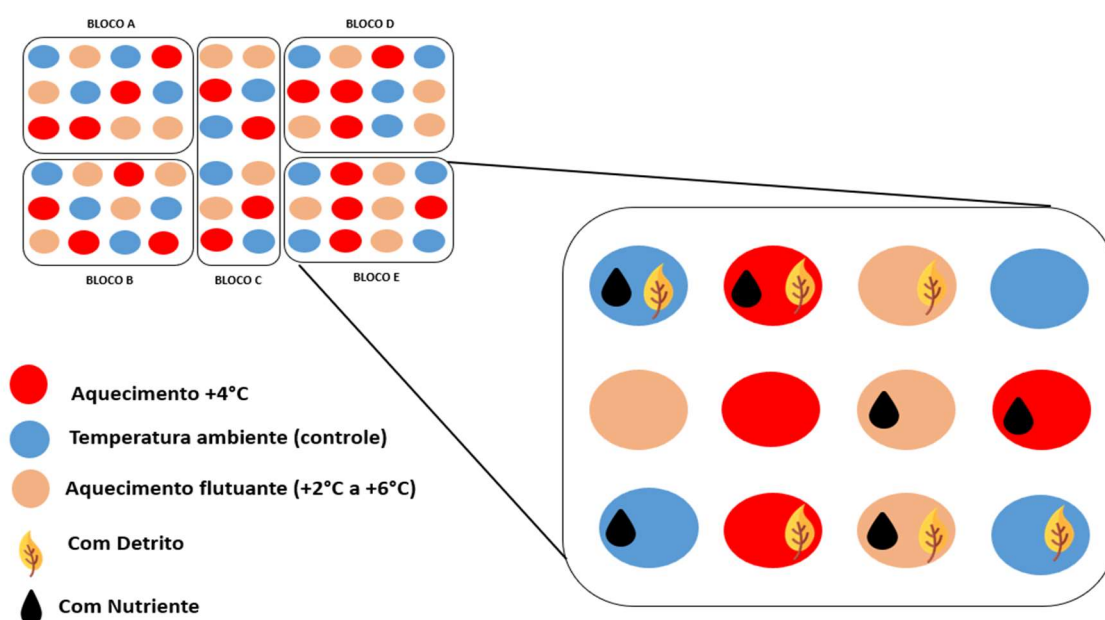


FIGURA 1- Delineamento experimental referente aos tratamentos isolados e interativos com adição de nitrogênio (N) e fósforo (F) e diminuição de detritos orgânicos entre diferentes níveis de temperatura (controle, aquecimento constante em +4°C e aquecimento flutuante de +2°C a +6°C).

3.2.3 Amostragem e análise da comunidade de amebas testáceas

Para coleta das amebas testáceas, foram coletados 2 litros de amostra sobre a subsuperfície da água, sem perturbar o sedimento ao fundo a cada tempo experimental. Para estimar a abundância de amebas testáceas (ind.L^{-1}), as amostras retiradas foram filtradas em rede de plâncton com malha de 10 μm , e concentradas em 60 mL. Em seguida, as amostras foram fixadas com lugol alcalino, formaldeído tamponado com borato de cálcio e tiosulfato

de sódio (Sherr e Sherr, 1993) e armazenadas em local apropriado. Posteriormente, as mesmas foram analisadas na íntegra para quantificação e identificação das amebas testáceas, utilizando câmaras de Sedwick-Rafter sob microscópio óptico comum (Marca Olympus, modelo CX31), em uma ampliação de 100 e 200 vezes. As amebas testáceas foram identificadas ao menor nível taxonômico possível, com base em literatura especializada, como a reportada por Gomes e Souza (2008) e *sites* (como o “Microworld- world of amoeboid organisms”) contendo informações atualizadas sobre o grupo a ser estudado.

3.2.4 Análise de dados

Para verificar as previsões I e II, que dizem respeito à influência das variáveis preditoras (predação, enriquecimento por nutrientes, detritos e aquecimento) na riqueza e densidade da comunidade em estudo, empregou-se análises de Modelos Lineares de Efeitos Mistos (LME) utilizando o pacote lme4 (Bates et al., 2015). A presença de nutrientes, os detritos e o aquecimento foram considerados como efeitos fixos, enquanto a disposição dos tratamentos nos blocos foi tratada como efeito aleatório. Adicionalmente, conduziu-se uma Análise de Variância (ANOVA) referente ao modelo linear de efeitos mistos através da função `anova.lme` para examinar as diferenças temporais e entre os tratamentos. Em casos com resultados significativos, aplicou-se o teste Post-Hoc de Tukey usando a função “`TukeyHSD`” para avaliar as diferenças entre os tratamentos, considerando valores significativos para $p < 0.05$.

Para abordar a previsão III, que explora como os múltiplos estressores impactaram a composição das espécies da comunidade definida, conduziu-se uma Análise de Diversidade Beta Total (medindo a diversidade de espécies entre dois ambientes distintos) e seus componentes (β_{repl} e β_{rich}) usando o método desenvolvido por Podani & Schmera (2011). Isso foi realizado com o auxílio do pacote BAT (Cardoso et al., 2020), e considerou-se os resultados como significativos para valores de $p < 0.05$. A fim de se observar a acumulação de espécies com o decorrer dos tempos amostrais para cada tratamento, realizou-se uma curva de rarefação de espécies pela função “`specaccum`” e auxílio do pacote “`tidyverse`”. Complementarmente, para demonstração de como a composição de espécies se distribuiu entre os diferentes tratamentos de temperatura, efetuou-se uma análise de variância permutacional (PERMANOVA) (Vicente-Gonzalez, Vicente-Villardón, 2021), considerando as matrizes de dissimilaridade de “Bray-Curtis” (com 999 permutações e utilizando dados de densidade das espécies), na qual projetou-se um gráfico de Análises de Coordenadas Principais (PCoA),

utilizando os pacotes “ape” e “ggforce”. Todos os gráficos foram gerados com o pacote ggplot2, e as análises foram conduzidas no software R (R Core Team 2017).

3.3 Resultados

Foram encontradas 29 espécies de amebas testáceas (Tabela 1), pertencentes à cinco Famílias, sendo as Famílias Centropyxidae e Diffugiidae as mais representativas, com a presença de sete espécies cada. Em relação à composição das outras Famílias, o número de espécies foi similar, na qual as Famílias Netzeiliidae, Euglyphidae e Arcellidae tiveram a representação de cinco espécies cada família.

TABELA 1- Lista de espécies de amebas testáceas. A classificação dos grupos taxonômicos de amebas testáceas foi idealizada de acordo com o livro de Gomes e Souza (2008), com revisões de nomenclatura pelo site “Microworld”.

Família	Espécies
Centropyxidae	<i>Centropyxis aculeata</i> (Stein, 1859)
	<i>Centropyxis cassis</i> (Wallich, 1864)
	<i>Centropyxis cassis spinifera</i> (Deflandre, 1929)
	<i>Centropyxis ecornis</i> (Leidy, 1879)
	<i>Centropyxis minuta</i> (Deflandre, 1929)
	<i>Centropyxis</i> sp.
	<i>Centropyxis spinosa</i> (Stein, 1857)
Diffugiidae	<i>Cyllindriifluga elegans</i> (Pénard, 1890)
	<i>Diffugia brevicolla</i> (Cash & Hopkinson, 1909)
	<i>Diffugia lobostoma</i> (Leidy, 1877)
	<i>Diffugia minuta</i> (Rampi, 1950)
	<i>Diffugia penardi</i> (Hopkinson, 1909)
	<i>Diffugia</i> sp.
Netzeiliidae	<i>Diffugia tenuis</i> (Pénard, 1890)
	<i>Netzelia corona</i> (Wallich, 1864)
	<i>Netzelia gramen</i> (Pénard, 1902)

	<i>Netzelia oviformis</i> (Cash, 1909)
	<i>Netzelia tuberculata</i> (Netzel, 1983)
	<i>Netzelia wailesi</i> (Ogden, 1980)
Euglyphidae	<i>Euglypha rotunda</i> (Wailes, 1911)
	<i>Euglypha strigosa</i> (Ehrenberg, 1871)
	<i>Phryganella dissimulatrix</i> (Chardez, 1969)
	<i>Phryganella hemisphaerica</i> (Pénard, 1902)
	<i>Sphenoderia lenta</i> (Schlumberger, 1845)
Arcellidae	<i>Arcella conica</i> (Playfair, 1918)
	<i>Arcella</i> sp.
	<i>Arcella vulgaris</i> (Ehrenberg, 1832)
	<i>Galeripora discoides</i> (Ehrenberg, 1843)
	<i>Galeripora megastoma</i> (Pénard, 1902)

Considerando-se todos os tratamentos, observou-se a estabilização da acumulação de espécies nos tempos finais (Figura 2), sugerindo que a quantidade de espécies para cada tratamento tenha chegado a um equilíbrio no final dos tempos amostrais. Maiores valores do número de espécies foram registrados para o tratamento de temperatura controle com a presença de nutrientes e detritos (CND; Figura 2).

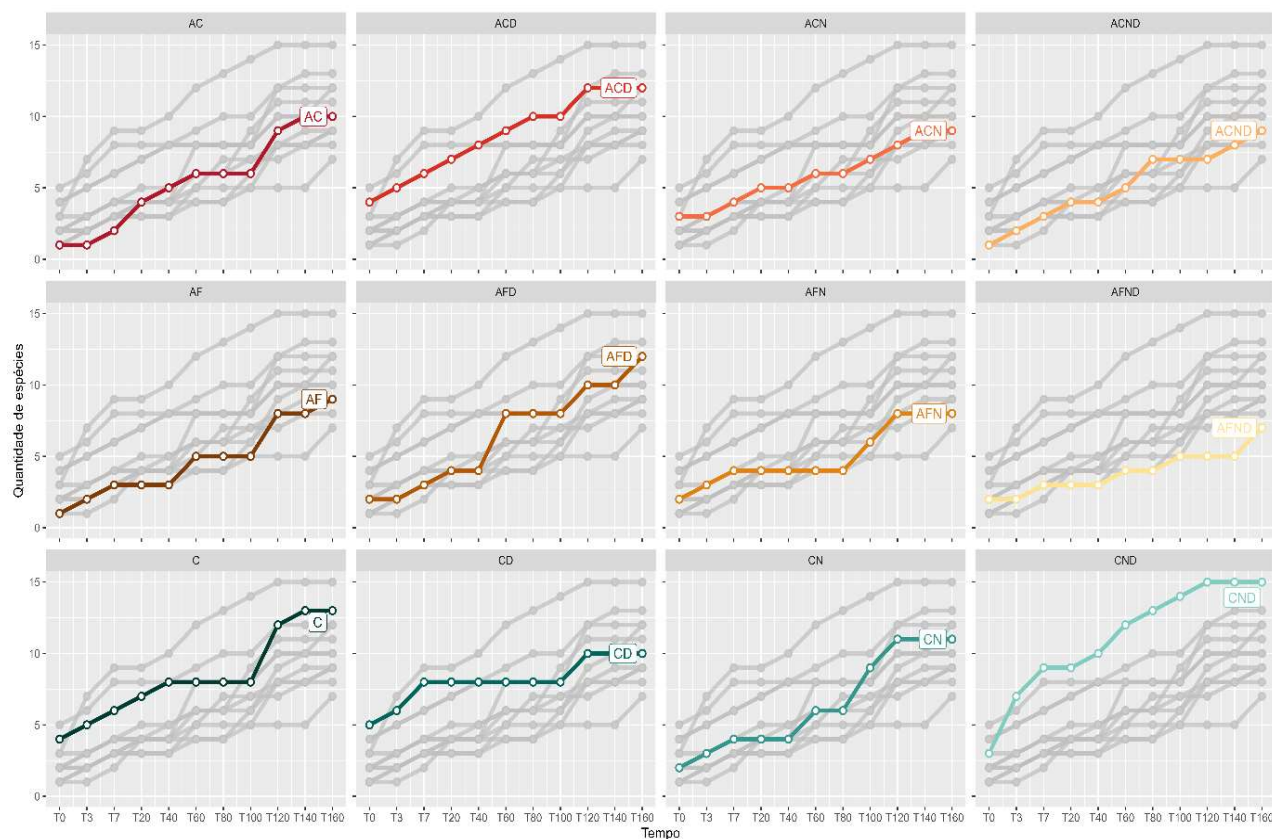


FIGURA 2- Curva de rarefação do número de espécies contendo todos os tratamentos em relação aos tempos amostrais. AC= Aquecimento Constante, AF= Aquecimento Flutuante, C= Temperatura Ambiente (controle), D= Detritos, N= Nutrientes.

Em relação à riqueza de espécies (Figura 3), não se observou diferenças significativas para este atributo (Tabela 2). Entretanto, a riqueza foi incrementada pela adição de nutrientes ($p= 0.024$). Os detritos também afetaram significativamente a riqueza de espécies ($p= 0.0383$), mesmo com a comunidade reagindo de forma semelhante entre os tempos amostrais se comparada com a presença ou retirada deste fator. Em relação ao fator tempo para a riqueza, este foi significativo ($p<0.0001$), onde a comunidade demonstrou alta variação temporal, principalmente a partir do quadragésimo dia experimental (T40) (Tabela 3), com diferenças maiores em tratamentos na temperatura controle, sem detritos e com adição de nutrientes, indicando que o aquecimento possa ter efeito na limitação da riqueza de espécies dentro do compartimento aquático.

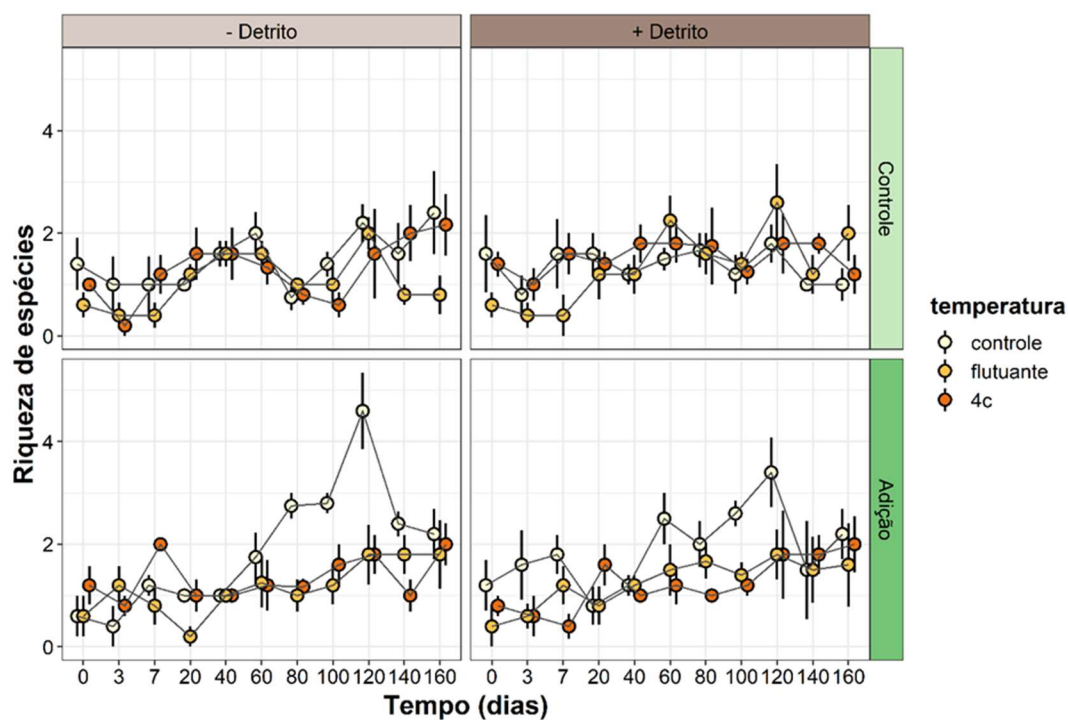


FIGURA 3- Efeito dos múltiplos fatores (mudanças da temperatura da água, detritos e adição de nutrientes) sobre a riqueza de espécies de amebas testáceas no decorrer dos tempos amostrais.

TABELA 2- Análise de variância referente aos modelos lineares de efeitos mistos (LME) para diferenças na riqueza de espécies entre os tratamentos. Os valores de p indicam significância a $p < 0.05$, df = graus de liberdade, Sum Sq = soma dos quadrados, Mean Sq = quadrado médio.

LME-ANOVA para riqueza de espécies				
	numDF	denDF	F-value	p-value
Intercepto	1	625	509.4765	<0.0001
Temperatura	2	625	12.9202	0.3904
Detrito	2	625	6.2135	0.0383
Nutriente	1	625	1.5848	0.0024
Tempo	10	625	10.5549	<0.0001
Temperatura ~ Detrito	4	628	0.7672	0.5498
Temperatura ~ Nutriente	2	628	1.3624	0.2568
Detrito ~ Nutriente	2	628	1.8461	0.1587

Temperatura ~	4	628	0.6924	0.5973
Detrito ~ Nutriente				

TABELA 3- Teste post hoc de TukeyHSD para observação de diferenças na riqueza de espécies dentro de cada fator. Os valores de p indicam significância a $p < 0.05$. No fator tempo, foram inseridos somente aqueles com resultados significativos.

TukeyHSD para riqueza de espécies				
Temperatura				
	diff	lwr	upr	p adj
Controle - Constante	0.3021	0.0692	0.5350	0.5940
Flutuante - Constante	-0.1549	-0.3873	0.0773	0.9680
Flutuante - Controle	-0.4571	-0.6905	-0.2237	0.4441
Detrito				
	diff	lwr	upr	p adj
Com Detrito – Sem Detrito	-0.4621	-0.7874	-0.1368	0.0398
Nutriente				
	diff	lwr	upr	p adj
Sem Nutriente – Com Nutriente	-0.0983	-0.2597	0.0629	0.0051
Tempo				
	diff	lwr	upr	p adj
T40 – T0	38.5666	21.8394	55.2939	<0.0001
T40 – T100	36.1000	19.3727	52.8272	<0.0001
T40 – T120	33.5500	16.8227	50.2772	0.0015
T40 - T140	37.9000	21.1727	54.6272	<0.0001
T40 - T160	37.1333	20.4060	53.8606	<0.0001
T40 - T20	33.8000	17.0727	50.5272	<0.0001
T40 - T3	38.8833	22.1560	55.6106	<0.0001
T60 - T40	-32.5666	-49.2939	-15.8394	<0.0001
T7-T40	-35.6333	-52.3606	-18.9060	<0.0001
T80-T40	-36.7166	-53.4439	-19.9894	<0.0001

Quando considerada a densidade total da comunidade de amebas testáceas (Figura 4), observou-se maiores densidades também no tratamento com adição de nutrientes, fator que mais uma vez foi significativo para a comunidade (Tabela 4). A presença de detritos orgânicos não apresentou diferenças significativas. Em relação ao tempo para a densidade, no início do experimento os tratamentos aquecidos obtiveram maiores densidades, porém a partir do T40 (Tabela 5) obteve-se um pico de densidade para todos os tratamentos; no decorrer dos tempos amostrais, mais especificamente nos tempos finais do experimento, o tratamento controle começou a apresentar maiores densidades, principalmente combinados com a adição de nutrientes e sem detritos vegetais.

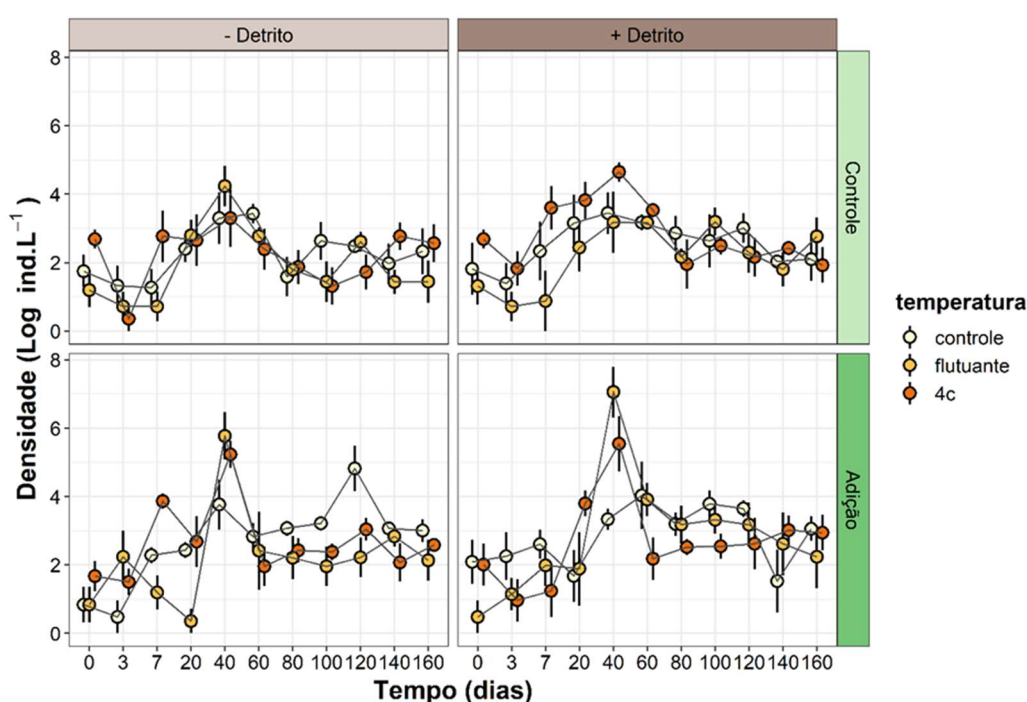


FIGURA 4- Efeito dos múltiplos fatores (mudanças da temperatura da água, detritos e adição de nutrientes) sobre a densidade das espécies de amebas testáceas no decorrer dos tempos amostrais.

TABELA 4- Análise de variância referente aos modelos lineares de efeitos mistos (LME) para diferenças na densidade das espécies entre os tratamentos. Os valores de p indicam significância a $p < 0.05$, df = graus de liberdade, Sum Sq = soma dos quadrados, Mean Sq = quadrado médio.

LME-ANOVA para densidade de espécies				
	numDF	denDF	F-value	p-value
Intercepto	1	625	13.1403	0.0002

Temperatura	2	625	1.4510	0.2088
Detrito	2	625	1.8133	0.1511
Nutriente	1	625	5.8995	0.0137
Tempo	10	625	5.9555	<0.0001
Temperatura ~ Detrito	4	628	0.4930	0.7409
Temperatura ~ Nutriente	2	628	1.8521	0.1578
Detrito ~ Nutriente	2	628	1.4124	0.2443
Temperatura ~ Detrito ~ Nutriente	2	628	0.6215	0.6473

TABELA 5- Teste post hoc de TukeyHSD para observação de diferenças na densidade das espécies dentro de cada fator. Os valores de p indicam significância a $p < 0.05$. No fator tempo, foram inseridos somente aqueles com resultados significativos.

TukeyHSD para densidade de espécies				
Temperatura				
	diff	lwr	upr	p adj
Controle - Constante	-23.9144	-125.3497	77.5208	0.8502
Flutuante - Constante	45.6889	-55.5080	146.8858	0.4996
Flutuante - Controle	69.6033	-32.0654	171.2721	0.2189
Detrito				
	diff	lwr	upr	p adj
Com Detrito – Sem Detrito	67.3134	-21.1830	155.8099	0.1535
Nutriente				
	diff	lwr	upr	p adj
Sem Nutriente – Com Nutriente	-80.4116	-149.4531	-11.3702	0.0193
Tempo				
	diff	lwr	upr	p adj
T40 – T0	462.8333	208.2198	717.4469	<0.0001
T40 – T100	448.6200	192.9299	704.3102	<0.0001

T40 – T120	427.7500	173.1365	682.3635	<0.0001
T40 – T140	456.4166	199.6176	713.2158	<0.0001
T40 – T160	438.4505	182.7604	694.1407	<0.0001
T40 – T20	439.0000	187.1198	690.8802	<0.0001
T40 – T3	464.2500	209.6365	718.8635	<0.0001
T60 – T40	-442.1309	-710.6541	-173.6078	<0.0001
T7 – T40	-448.1250	-702.7385	-193.5115	<0.0001
T80 – T40	-451.3333	-705.9469	-196.7198	<0.0001

Ao analisar os dados usando o Índice de Shannon (Figura 5), notou-se que houve mudanças notáveis na diversidade da comunidade em resposta às condições experimentais, com uma redução na diversidade nos tratamentos aquecidos com o decorrer do tempo experimental, indicando uma provável redução da equitabilidade.

Na fase final do experimento, observou-se um aumento significativo no índice de Shannon em tratamentos nos quais nutrientes foram adicionados sob temperatura ambiente (controle). Isso indica uma maior diversidade na comunidade quando ocorre a interação desses dois fatores. Considerando todos os tempos amostrais em conjunto, tratamentos controle obtiveram um maior índice de Shannon calculado (Tabela 6).

A análise dos modelos lineares de efeitos mistos para o índice de Shannon, evidenciou que a temperatura, presença de detritos e o tempo foram significativos (Tabela 7), sendo os maiores responsáveis para a estruturação da biodiversidade. Devido à significância dos fatores para a análise dos modelos lineares, realizou-se um teste post hoc de Tukey para comparação dos níveis entre os fatores estressores, com significância da temperatura, detritos e tempo de forma isolada ($p < 0.0001$ para os fatores; Tabela 8).

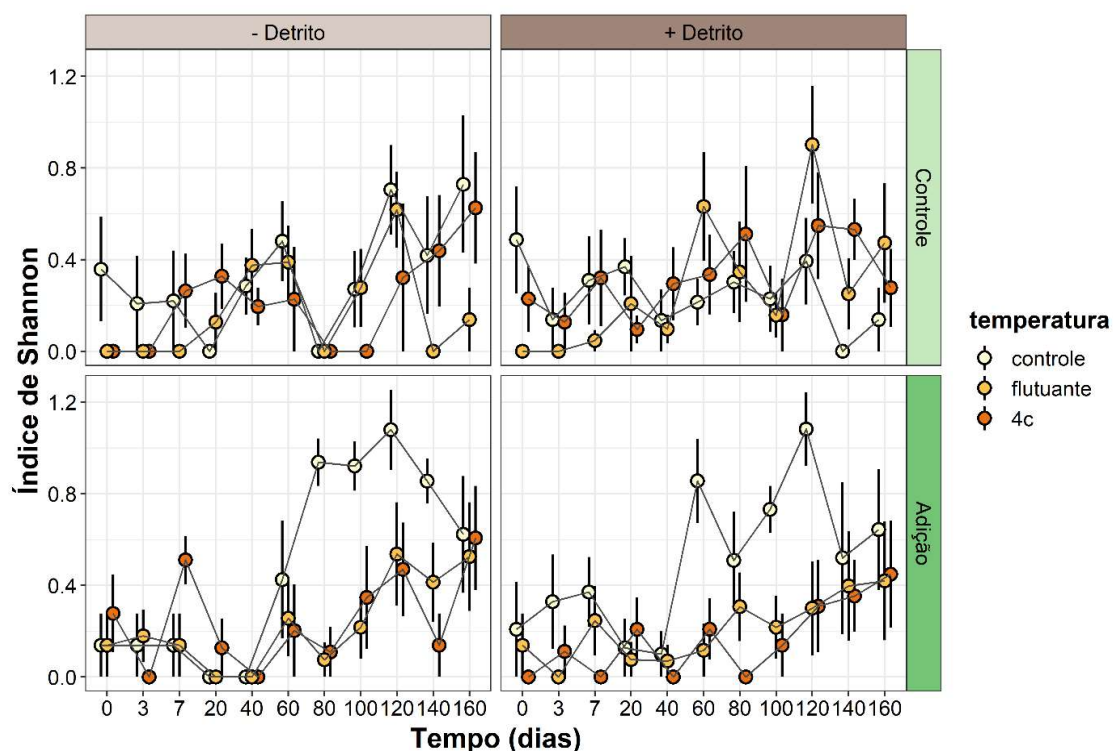


FIGURA 5- Índice de diversidade de Shannon em resposta aos diferentes tratamentos experimentais de temperatura, detritos e adição de nutrientes. Cada circunferência indica a média do índice.

TABELA 6- Índice de Shannon calculado considerando todos os tempos mostrais para os tratamentos. AC= Aquecimento Constante, AF= Aquecimento Flutuante, C= Temperatura Ambiente (controle), D= Detritos, N= Nutrientes.

Tratamento	Média do valor de Shannon calculado
AC	1.2091
ACD	1.2031
ACN	1.0474
ACND	0.5878
AF	1.1167
AFD	1.1722
AFN	0.7098
AFND	0.9051
C	1.2232
CD	1.1523

CN	0.8134
CND	1.2414 (maior valor)

TABELA 7- Análise de variância referente aos modelos lineares de efeitos mistos (LME) para diferenças no Índice de Shannon. Os valores de p indicam significância a $p < 0.05$, df = graus de liberdade, Sum Sq = soma dos quadrados, Mean Sq = quadrado médio.

LME-ANOVA para o Índice de Shannon				
	numDF	denDF	F-value	p-value
Intercepto	1	640	118.5810	<0.0001
Temperatura	2	640	11.1443	<0.0001
Detrito	1	640	9.7505	0.0001
Nutriente	1	640	1.3787	0.2408
Tempo	10	640	9.0539	<0.0001

TABELA 8- Teste post hoc de TukeyHSD para observação de diferenças no índice de diversidade de Shannon dentro de cada fator. Os valores de p indicam significância a $p < 0.05$. No fator tempo, foram inseridos somente aqueles com resultados significativos.

TukeyHSD para índice de Shannon				
Temperatura				
	diff	lwr	upr	p adj
Controle - Constante	0.1349	0.0469	0.2286	0.0009
Flutuante - Constante	-0.0131	-0.1011	0.0748	0.9341
Flutuante - Controle	-0.1480	-0.2360	-0.0600	0.0002
Detrito				
	diff	lwr	upr	p adj
Com Detrito – Sem Detrito	0.1623	0.0448	0.2799	0.0035
Nutriente				
	diff	lwr	upr	p adj
Sem Nutriente – Com Nutriente	-0.0364	-0.0972	0.0243	0.2395
Tempo				

	diff	lwr	upr	p adj
T120-T0	0.4409	208.2198	0.2215	<0.0001
T160-T0	0.3066	0.0872	0.5260	0.0003
T120-T100	0.3026	0.0833	0.5220	0.0005
T140-T120	-0.2608	-0.4802	-0.0415	0.0062
T20-T120	-0.4666	-0.6859	-0.2472	<0.0001
T3-T120	-0.5027	-0.7221	-0.2833	<0.0001
T40-T120	-0.4763	-0.6956	-0.2569	<0.0001
T60-T120	-0.2774	-0.4967	-0.0580	0.0024
T7-T120	-0.3917	-0.6110	-0.1723	<0.0001
T80-T120	-0.3506	-0.5699	-0.1312	<0.0001
T3-T140	-0.2418	-0.4612	-0.0224	0.0171
T20-T160	-0.3323	-0.5516	-0.1129	<0.0001
T3-T160	-0.3684	-0.5878	-0.1490	<0.0001
T40-T160	-0.3420	-0.5613	-0.1226	<0.0001
T7-T160	-0.2574	-0.4767	-0.0380	0.0075
T60-T3	0.2253	0.0059	0.4446	0.0381

A diversidade beta total das comunidades de amebas testáceas foi significativamente influenciada pela temperatura, detritos e pelo tempo, sem interação entre os fatores (Tabela 9). Os componentes β_{repl} e β_{rich} foram igualmente afetados pela temperatura ($p < 0.001$) e pelo tempo ($p = 0.001$) (Tabela 9).

TABELA 9- Efeito do aquecimento, presença de nutrientes e diminuição do aporte de detritos sobre a composição das espécies de amebas testáceas pela diversidade beta.

	β_{total}			
	Df	SumOfsqs	F	Pr(>F)
Temperatura	2	2.054	5.4037	0.001
Detrito	1	0.361	1.9009	0.073
Nutriente	1	0.225	1.1832	0.285
Tempo	10	11.242	5.9155	0.001

Residual	527	100.151		
<i>βrepl</i>				
	Df	SumOfsqs	F	Pr(>F)
Temperatura	2	1.373	3.9818	<0.001
Detrito	1	0.323	1.8708	0.060
Nutriente	1	0.199	1.1531	0.292
Tempo	10	7.634	4.4286	0.001
Residual	527	90.848		
<i>βrich</i>				
	Df	SumOfsqs	F	Pr(>F)
Temperatura	2	1.016	5.2985	0.001
Detrito	1	0.061	0.6392	0.482
Nutriente	1	0.086	0.9006	0.482
Tempo	10	4.542	4.7387	0.001
Residual	525	49.197		

Ao examinar a composição das espécies entre os diferentes tratamentos por meio da Análise de Coordenadas Principais (Figura 6), destaca-se que os tratamentos com a presença de detritos apresentaram uma dispersão notável dos pontos. Essa variação sugere uma diferença significativa na composição das espécies, ressaltando a importância dos detritos, como também evidenciada de forma expressiva na diversidade beta total (ver tabela 9 acima). A Análise de Variância Permutacional reforçou a relevância da temperatura como um fator que influencia a disposição das espécies na comunidade ($p=0.001$; Tabela 10). Dada a significância desse fator, foi conduzido um teste post hoc utilizando a função "pairwise.perm.manova" para comparar os níveis entre os fatores estressores em relação aos diferentes níveis de temperatura (Tabela 11).

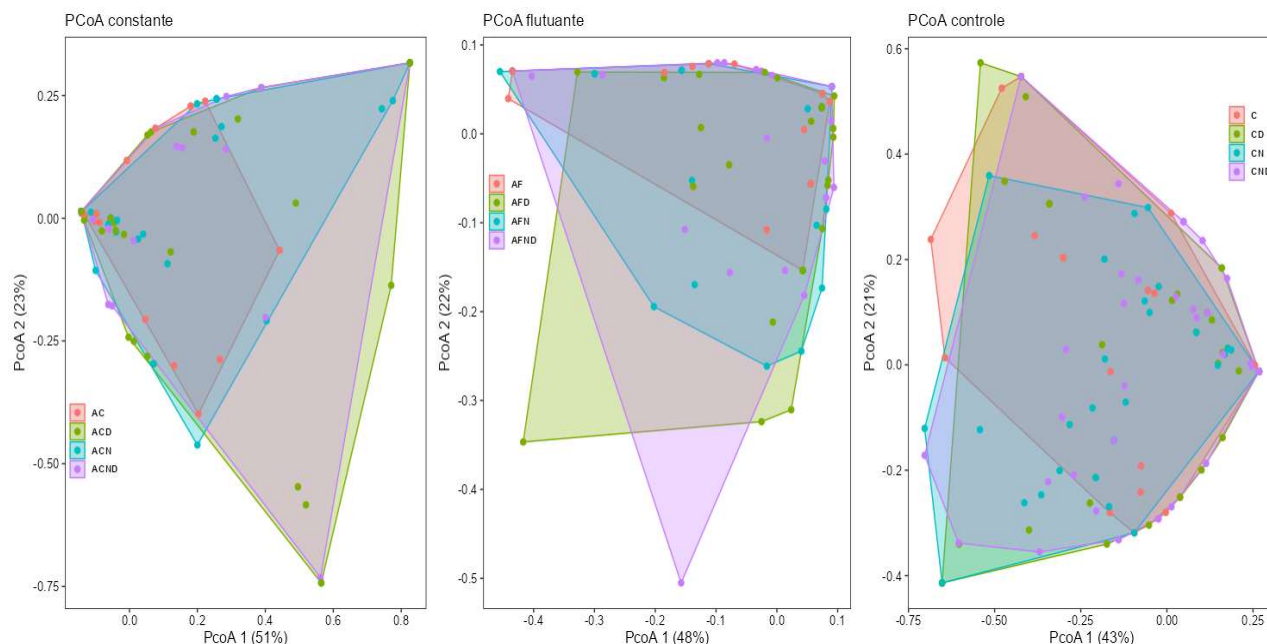


FIGURA 6- Análise de Coordenadas Principais (PCoA) para a composição de espécies entre os tratamentos, sendo os pontos a distância das espécies entre si dentro dos tratamentos. AC= Aquecimento Constante, AF= Aquecimento Flutuante, C= Temperatura Ambiente (controle), D= Detritos, N= Nutrientes.

TABELA 10- Resultado da análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA) realizada com 999 permutações usando a densidade da comunidade de amebas testáceas em relação aos níveis de aquecimento, sendo o aquecimento flutuante o fator significativo.

	Df	SumOfSqs	R ²	F value	Pr(>F)
Temperatura	2	62.63	0.3383	115.33	0.001
Residuals	161	40.636	0.9507		
Total	164	42.742	1.000		

TABELA 11- Teste post hoc pela função “pairwise.perm.manova” comparando os diferentes estressores e seus níveis. AC= Aquecimento Constante, AF= Aquecimento Flutuante, C= Temperatura Ambiente (controle), D= Detritos, N= Nutrientes.

AC	ACD	ACN	ACND	AF	AFD	AFN	AFND	C	CD	CN
----	-----	-----	------	----	-----	-----	------	---	----	----

ACD	0.074	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ACN	0.533	0.314	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ACND	0.582	0.246	0.439	-	-	-	-	-	-	-	-
AF	0.001	0.001	0.001	0.001	-	-	-	-	-	-	-
AFD	0.001	0.001	0.001	0.001	0.108	-	-	-	-	-	-
AFN	0.001	0.001	0.001	0.001	0.168	0.617	-	-	-	-	-
AFND	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.007	0.05	-	-	-	-
C	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	-	-	-
CD	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.629	-	-
CN	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.354	0.264	-
CND	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.268	0.665	0.361

3.4 Discussão

As duas famílias predominantes de amebas testáceas neste estudo são comumente encontradas em ambientes aquáticos (Velho, Bini, Lansac-Tôha, 2004; Lansac-Tôha et al., 2009). A Família Diffugiidae, notavelmente adaptável a diversos habitats, exibe uma ampla variedade de tamanhos e formas (Alves et al., 2010), sendo prontamente identificada em ambientes aquáticos continentais. A Família Centropyxidae, caracterizada por espécies do gênero *Centropyxis*, possui algumas de suas espécies, como *Centropyxis aculeata*, que demonstra uma resposta positiva às alterações ambientais resultantes do aumento da temperatura da água. Essas mudanças se refletem no aumento da biomassa e na redução da necessidade de recursos alimentares (Kruk, Gozdziewska, Artiemjew, 2022), influenciando no metabolismo e taxa reprodutiva das espécies (González-Miguéns et al., 2023).

Nos tratamentos aquecidos, principalmente àqueles com aquecimento constante, houve uma tendência de diminuição na riqueza de espécies, mas sem diferenças significativas. O aquecimento pode ter influenciado sobre os predadores de topo ao invés da comunidade de amebas testáceas, e experimentos, como formulados por Lopez-Urritia et al. (2006) sugerem que esses predadores, atuantes em níveis tróficos mais elevados, tendem a ser mais vulneráveis ao aumento de temperatura. As amebas testáceas, por apresentarem um tamanho diminuto, podem não ter sofrido redução da sua diversidade devido à alta adaptabilidade no ambiente, fluindo em taxas mais rápidas que os organismos maiores (Brown et al., 2004).

Embora não encontrado o efeito do aquecimento sobre a riqueza de amebas testáceas, esse fator pode atuar no processo de perda da biodiversidade, como encontrado por Isbell et al. (2022). A consequente perda da biodiversidade traz efeitos em diferentes níveis no ambiente, ameaçando desde comunidades até em níveis ecossistêmicos (Progênio et al., 2023). Considerando isso, o aquecimento pode interferir na cadeia trófica e na fisiologia dos microrganismos (Zhao et al., 2023). Sabendo-se que o aquecimento pode afetar a diversidade de espécies, essa ideia é corroborada pelo resultado de índice de Shannon, no qual a redução da diversidade em tratamentos aquecidos foi observada.

Ao se analisar a riqueza de espécies reagindo pela entrada de nutrientes no ambiente aquático, este atributo foi positivamente afetado por este estressor. Assim, o incremento na riqueza por aumento dos nutrientes indica que protistas podem apresentar maiores diversidades (Zhang et al., 2021), visto que a disponibilidade de recurso favorece o processo de eutrofização do ambiente (Kim et al., 2021), tornando-o mais produtivo pela presença de organismos fotossintetizantes, refletindo uma maior disponibilidade de recursos para os diferentes consumidores (Gadelha et al., 2023), incluindo as amebas testáceas (Bonecker et al., 2013).

Referente ao efeito de disponibilidade de detritos orgânicos sobre a riqueza da comunidade, padrões similares de variação foram observados para os diferentes tratamentos, ao longo dos tempos amostrais. As amebas testáceas podem se alimentar de detritos orgânicos (Wilkinson, Mitchell, 2010), sendo este fator tido como recurso para os organismos; quando em baixa disponibilidade no ambiente, as amebas testáceas podem se aproveitar de outros recursos presentes no ambiente, como “algas” (Marcisz et al., 2020), fazendo com que a comunidade não tenha uma alta variância no número de espécies.

Sendo assim, com a tendência de redução da riqueza pelo aquecimento, mas com incremento deste atributo na presença de nutrientes e baixa diferença em relação à disponibilidade de detritos orgânicos sobre a diversidade, a primeira predição pode ser parcialmente corroborada, visto que a riqueza apresentou maiores valores em tratamentos com temperatura ambiente, sendo afetada pelo processo de aquecimento e incrementada pelos nutrientes. Tal padrão foi também tratado por diferentes autores, como Mori et al. (2023), que concilia o aumento da temperatura na diminuição da diversidade global, e Picapedra et al. (2020), onde a comunidade zooplancônica é influenciada diretamente por características físico-químicas da água, como temperatura, clorofila “a” e carbono orgânico que servirão como recursos para os indivíduos da comunidade.

Em relação à densidade da comunidade, este atributo foi afetado positivamente pela presença de nutrientes e presença de detritos orgânicos. A entrada de nutrientes pode afetar de maneira crucial o estabelecimento e desenvolvimento das comunidades em ambientes aquáticos de água doce, devido à sua ação direta sobre os recursos do ambiente em questão (Zingel et al., 2018). Consequentemente, isso afeta a densidade total dos organismos encontrados (Antiqueira et al., 2018). Complementarmente, o caráter de suprimento e perda de nutrientes influencia a estrutura da comunidade de protistas (como as amebas testáceas), afetando a utilização dos nutrientes (Lovejoy, Price, Legendre, 2004).

Em relação ao efeito dos detritos sobre a densidade da comunidade, este determinado incremento na densidade de amebas testáceas pode estar relacionada ao aumento da concentração de carbono para o ambiente, mediando os processos de trocas de nutrientes entre os organismos (Ravaglioli et al., 2019), sendo importante na disponibilização de energia para o meio (Gayer et al., 2021). Complementarmente, a presença dos detritos também influencia no processo de decomposição por intermédio de bactérias (Monroy et al., 2023), de forma que esse grupo de microrganismos se aproveita da matéria orgânica como recurso, também aumentando sua densidade e fragmentando a matéria orgânica em partículas menores (Gonçalves-Júnior et al., 2012). Assim, tanto a alta densidade de bactérias como a presença dos pequenos fragmentos da matéria orgânica particulada pode ser aproveitado pelas espécies de amebas testáceas (Zagumyonnaya et al., 2023), fazendo com que essas aumentem suas densidades.

Com isso, mesmo com a densidade dos organismos variando de forma similar entre os tratamentos, a segunda predição pode ser parcialmente aceita, visto que houve o aumento esperado deste atributo frente a 2 fatores (presença de detritos orgânicos e nutrientes), porém não sendo observado o efeito da temperatura sobre a densidade dos organismos. De Melo et al. (2019) demonstra que a adição de nutrientes pode provocar alterações rápidas nas comunidades microbianas, como o aumento da densidade dos organismos presentes no ambiente afetado por este estressor, enquanto os detritos podem levar a maiores densidades devido a uma influência no ciclo carbono e nitrogênio, como tratado por Koltz et al. (2017).

Para a composição de espécies, avaliada primeiramente pela análise de diversidade beta total, a comunidade foi influenciada pela temperatura, presença de detritos e pelo tempo. Em relação à temperatura, um incremento desse estressor pode impactar a diversidade beta total de organismos zooplancônicos marinhos, afetando as comunidades (Benedetti et al., 2021), podendo ser corroborado com o encontrado neste trabalho em ambientes de água doce. Do mesmo modo, a relevância do tempo na influência sobre a diversidade beta total, isto é, na

diversidade entre ambientes ou tratamentos distintos, decorre das alterações nas condições originais do ambiente específico (Gadelha et al., 2023).

Sabendo-se que a diversidade beta *replacement* (na qual é vinculada à substituição de espécies) variou com os níveis de temperatura em relação ao tempo, assim como a diversidade beta richness (que é referente à diferença ao aninhamento das espécies entre os tratamentos), as respostas da comunidade ao aumento da temperatura na substituição de espécies podem estar relacionadas com a presença de espécies mais tolerantes a ambientes mais quentes. Essa substituição de espécies é mais comum em ambientes tropicais (Progênio et al., 2023), onde se observam temperaturas mais elevadas, capacidade limitada de aclimação e tolerâncias climáticas mais restritas (Bennett et al., 2021). No que concerne ao efeito temporal sobre os dois níveis de diversidade beta descritos anteriormente, esta dinâmica temporal poderia garantir o equilíbrio da comunidade ao longo do tempo frente a diferentes fatores ambientais. Porém, alterações na disponibilidade de recursos presentes no ambiente podem perturbar esse equilíbrio da comunidade (Gadelha et al., 2023), permitindo variações na diversidade.

Com isso, em relação à composição de espécies frente aos múltiplos estressores, a terceira predição também pode ser parcialmente aceita, onde a temperatura, detritos e o tempo foram mais significativos, diferenciando a composição de espécies sob tais diferenças ambientais. Em um estudo do efeito de múltiplos estressores sobre organismos bentônicos, Xu et al. (2023) destacam que o aquecimento exerce uma influência homogeneizadora na composição das comunidades zoobentônicas em vários locais de amostragem, onde essas temperaturas mais altas podem aumentar as taxas metabólicas de certas espécies, permitindo a dominância de determinados organismos e diminuindo a diversidade observada. Para os detritos, a diversidade beta pode ser modulada pelos detritos sendo utilizados como recursos para as amebas testáceas ou para outros consumidores (Rezende et al., 2021).

3.5 Conclusão

Este estudo contribui para o conhecimento sobre mudanças climáticas e uso do solo, fornecendo base científica para a formulação de ações ambientais sustentáveis para preservação dos ambientes aquáticos de água doce, como medidas que visem a diminuição de emissão de gases do efeito estufa, transição para fontes renováveis de energia, reflorestamento de vegetações nativas e conservação de ambientes aquáticos dulcícolas. A partir dos resultados obtidos, é possível concluir que o enriquecimento por nutrientes foi o estressor de maior

importância na estruturação da comunidade de amebas testáceas, sendo este o maior responsável pelas alterações observadas nos atributos dessa comunidade. Ainda, destaca-se a adaptabilidade da comunidade de amebas testáceas em face do processo de mudanças climáticas advindas de ações antrópicas, de modo que a temperatura de forma isolada não apresentou impacto significativo para esta comunidade, sugerindo que esta comunidade apresenta elevada capacidade de resiliência a oscilações ou aumento da temperatura. Em contrapartida, associando os múltiplos estressores sobre a comunidade de amebas testáceas, a presença de nutrientes parece impulsionar a densidade da comunidade. A associação negativa do aumento da temperatura e a tendência de redução da diversidade destaca a vulnerabilidade dessas comunidades frente a mudanças globais.

Como demonstrado neste experimento, os tratamentos de temperatura ambiente com presença de detritos vegetais, indicando a importância da vegetação e da matéria orgânica na manutenção da biodiversidade, foram identificados como fatores reguladores da comunidade, juntamente com o tempo, influenciando o índice de diversidade. Em relação à composição de espécies, a temperatura, detritos e o tempo experimental influenciaram a distribuição das espécies nos diferentes tratamentos. Sendo assim, as três predições formuladas foram parcialmente aceitas, visto que nem todos os estressores afetaram os atributos analisados. Com isso, ressalta-se a necessidade contínua de pesquisas sobre o efeito dos múltiplos estressores sobre diferentes comunidades aquáticas, visando entender como eles afetam a biodiversidade, e por conseguinte, o funcionamento dos ecossistemas.

REFERÊNCIAS

- Abd El-Hamid, H. T., Caiyong, W., Hafiz, M. A. and Mustafa, E. K. (2020). Effects of land use/land cover and climatic change on the ecosystem of North Ningxia, China. *Arab. J. Geosci.* 13, 1099. doi: 10.1007/s12517-020-06047-6
- Antiqueira, P. A. P., Petchey, O. L. and Romero, G. Q. (2018). Warming and top predator loss drive ecosystem multifunctionality. *Ecol. Lett.* 21(1), 72-82. doi: 10.1111/ele.12873
- Alves, G. M., Velho, L. F. M., Simões, N. R. and Lansac-Tôha, F. A. (2010). Biodiversity of testate amoebae (Arcellinida and Euglyphida) in different habitats of a lake in the Upper Paraná River floodplain. *Eur. J. Protistol.* 46(4), 310-318. doi: 10.1016/j.ejop.2010.07.001

- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B. and Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *J. Stat. Softw.* 67(1). doi: 10.48550/arXiv.1406.5823
- Basińska, A. M., Reczuga, M. K., Gąbka, M., Stróżecki, M., Łuców, D., Samson, M., Urbaniak, M., Lesny, J., Chojnicki, B. H., Gilbert, D., Sobczynski, T., Olejnik, J., Silvennoinen, H., Juszczak, R. and Lamentowicz, M. (2020). Experimental warming and precipitation reduction affect the biomass of microbial communities in a Sphagnum peatland. *Ecol. Indic.* 112, 106059. doi: 10.1016/j.ecolind.2019.106059
- Benedetti, F., Vogt, M., Elizondo, U. H., Righetti, D., Zimmermann, N. E. and Gruber, N. (2021). Major restructuring of marine plankton assemblages under global warming. *Nat. Commun.* 12(1), 5226. doi: 10.1038/s41467-021-25385-x
- Bennett, A. C., Arndt, S. K., Bennett, L. T., Knauer, J., Beringer, J., Griebel, A., Hinko-Najera, N., Liddell, M. J., Metzen, D., Pendall, E., Silberstein, R. P., Wardlaw, T. J., Woodgate, W. and Haverd, V. (2021). Thermal optima of gross primary productivity are closely aligned with mean air temperatures across Australian wooded ecosystems. *Glob. Change Biol.* 27(19), 4727-4744. doi: 10.1111/gcb.15760
- Bonecker, C. C., Simões, N. R., Minte-Vera, C. V., Lansac-Tôha, F. A., Velho, L. F. M. and Agostinho, A. A. (2013). Temporal changes in zooplankton species diversity in response to environmental changes in an alluvial valley. *Limnologia* 43, 114–121. doi: 10.1016/j.limno.2012.07.007
- Brown, J. H., Gillooly, J. F., Allen, A. P., Savage, V. M. and West, G. B. (2004). Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology*, 85(7), 1771-1789. doi: 10.1890/03-9000
- Cardoso, P., Mammola, S., Rigal, F. and Carvalho, J. C. (2020). BAT: Biodiversity Assessment Tools. version 1.6. *0.R package. Release date*, 4-10. <http://cran.r-project.org/web/packages/BAT/index.html>
- Gadelha, E. S., Dunk, B., Colares, L. F. and Akama, A. (2023). Temporal patterns of alpha and beta diversities of microzooplankton in a eutrophic tidal river in the eastern Amazon. *Limnol.* p. 1-12, 2023. doi: 10.1007/s10201-023-00717-6
- De Melo, T. X., Dias, J. D., Simões, N. R. and Bonecker, C. C. (2019). Effects of nutrient enrichment on primary and secondary productivity in a subtropical floodplain system: an experimental approach. *Hydrobiol.* 827(1): 171-181. doi: 10.1007/s10750-018-3763-0

- Gallagher, B. K. and Fraser, D. J. (2024). Stream groundwater inputs generate fine-scale variation in brook trout phenology and growth across a warming landscape. *Fresh. Biol.* 69(1): 127-142. doi: 10.1111/fwb.14198
- Ghiberto, P. J., Libardi, P. L., Brito, A. S. and Trivelin, P. C. O. (2009). Leaching of nutrients from a sugarcane crop growing on an Ultisol in Brazil. *Agricul. Wat. Manag.* 96(10), 1443-1448. doi: 10.1016/j.agwat.2009.04.020
- Gayer, P. R., Moraes, A. L. D. M. D., Guimarães, P. S., Barbosa, F. G., Albertoni, E. F. and Hepp, L. U. (2021). Organic matter decomposition in subtropical South America aquatic environments: a systematic and scientometric review. *Acta Limnol. Bras.* 33, e104. doi: 10.1590/S2179-975X2420
- Garner, R. E., Kraemer, S. A., Onana, V. E., Huot, Y., Gregory-Eaves, I. and Walsh, D. A. (2022). Protist Diversity and Metabolic Strategy in Freshwater Lakes Are Shaped by Trophic State and Watershed Land Use on a Continental Scale. *Msystems* e00316-22. doi: 10.1128/msystems.00316-22
- González-Miguéns, R., Cano, E., Guillén-Oterino, A., Quesada, A., Lahr, D. J., Tenorio-Rodríguez, D. and Singer, D. (2023). A needle in a haystack: a new metabarcoding approach to survey diversity at the species level of Arcellinida (Amoebozoa: Tubulinea). *Mol. Ecol. Resour.* 23(5), 1034-1049. doi: 10.1111/1755-0998.13771
- Gomes e Souza, M. B. (2008). Guia das tecamebas: bacia do rio Peruaçu, Minas Gerais: subsídio para conservação e monitoramento da bacia do Rio São Francisco. Belo Horizonte: Editora UFMG.
- Gonçalves-Junior, J. F., Rezende, R. S., França, J. and Callisto, M. (2012). Invertebrate colonization during leaf processing of native, exotic and artificial detritus in a tropical stream. *Mar. Freshwater Res.* 63, 428-439. doi: 10.1071/MF11172
- Guimarães Durán, C. L., F. M. Lansac-Tôha, B. R. Meira, L. O. Santana, F. R. Oliveira, M. H. O. Matos & L. F. M. Velho, 2024. Upstream cascade reservoirs drive temporal beta diversity increases through species loss in a dammed river. *FEMS Microbiol Ecol* 100(1), fiad165. doi: 10.1093/femsec/fiad165
- Greenspan, S. E., Migliorini, G. H., Lyra, M. L., Pontes, M. R., Carvalho, T., Ribeiro, L. P., Moura-Campos, D., Haddad, C. F. B., Toledo, L. F., Romero, G. Q. and Becker, C. G. (2020).

Warming drives ecological community changes linked to host-associated microbiome dysbiosis. *Nat. Clim. Change* 10(11), 1057-1061. doi: 10.1038/s41558-020-0899-5

Hautier, Y., Tilman, D., Isbell, F., Seabloom, E. W., Borer, E. T. and Reich, P. B. (2015). Anthropogenic environmental changes affect ecosystem stability via biodiversity. *Sci.* 348, 6232, 336-340. doi: 10.1126/science.aaa17

Isbell, F., Balvanera, P., Mori, A. S., He, J., Bullock, J. M., Regmi, G. R., Seabloom, E. W., Ferrier, S., Sala, O. E., Guerrero-Ramírez, N. R., Tavella, J., Larkin, D. J., Schmid, B., Outhwaite, C. L., Pramual, P., Borer, E. T., Loreau, M., Omotoriogun, T. C., Obura, D. O., Anderson, M., Portales-Reys, C., Kirkman, K., Vergara, P. M., Clark, A. T., Komatsu, K. J., Petchey, O. L., Weiskopf, S. R., Williams, L. R., Collins, S. L., Eisenhauer, N., Trisos, C. H., Renard, D., Wright, A. J., Tripathi, P., Cowles, J., Byrnes, J. E. K., Reich, P. B., Purvis, A., Sharip, Z., O'Connor, M. I., Kazanski, C. E., Haddad, N. M., Soto, E. H., Dee, L. E., Díaz, S., Zirbel, C. R., Avolio, M. L., Wang, S., Ma, Z., Liang, J., Farah, H. C., Johnson, J. A., Miller, B. W., Hautier, Y., Smith, M. D., Knops, J. M. H., Myers, B. J. E., Harmácková, Z. V., Cortés, J., Harfoot, M. B. J., Gonzalez, A., Newbold, T., Oehri, J., Mazón, M., Dobbs, C. and Palmer, M. S. (2022). Expert perspectives on global biodiversity loss and its drivers and impacts on people. *Front. Ecol. Environ.* 21, 94-103. doi: 10.1002/fee.2536

Koltz, A. M., Asmus, A., Gough, L., Pressler, Y. and Moore, J. C. (2018). The detritus-based microbial-invertebrate food web contributes disproportionately to carbon and nitrogen cycling in the Arctic. *Polar Biol.* 41, 1531-1545. doi: 10.1007/s00300-017-2201-5

Kratina, P., Watts, T. J., Green, D. S., Kordas, R. L. and O'Gorman, E. J. (2019). Interactive effects of warming and microplastics on metabolism but not feeding rates of a key freshwater detritivore. *Environ. Poll.* 255, 113259. doi: 10.1016/j.envpol.2019.113259

Kruk, M., Goździewska, A. M. and Artiemi, P. (2022). Predicting the effects of winter water warming in artificial lakes on zooplankton and its environment using combined machine learning models. *Sci. Rep.* 12(1), 16145. doi: 10.1038/s41598-022-20604-x

Lansac-Tôha, F. A., Bonecker, C. C., Velho, L. F. M., Simões, N. R., Dias, J. D., Alves, G. M. and Takahashi, E. M. (2009). Biodiversity of zooplankton communities in the Upper Paraná River floodplain: interannual variation from long-term studies. *Braz. J. Biol.* 69, 539-549. doi: 10.1590/S1519-69842009000300009

- Lansac-Tôha, F. M., Quirino, B. A., Souza, Y. R., Lansac-Tôha, F. A., Velho, L.F. M. and Baumgartner, M. T. (2021). The commonality of core biological groups across freshwater food webs. *Limnol. Oceanogr.* 66(4), 1459-1474. doi: 10.1002/lno.11697
- Lopez-Urrutia, A., San Martin, E., Harris, R.P. and Irigoien, X. (2006). Scaling the metabolic balance of the oceans. *PNAS*, 103, 8739–8744. doi: 10.1073/pnas.0601137103
- Lovejoy, C., Price, N. M. and Legendre, L. (2004). Role of nutrient supply and loss in controlling protist species dominance and microbial food-webs during spring blooms. *Aquat. Microb. Ecol.* 34(1), 79-92. doi: 10.3354/ame034079
- Marcisz, K., Jassey, V. E., Kosakyan, A., Krashevskaya, V., Lahr, D. J., Lara, E., Lamentowicz, L., Lamentowicz, M., Macumber, A. Mazei, Y., Mitchell, E. A. D., Nasser, N. A., Patterson, R. T., Roe, H. M., Singer, D., Tsyganov, A. N. and Fournier, B. (2020). Testate Amoeba Functional Traits and Their Use in Paleoecology. *Front. Ecol. Evol.* 8, 575966. doi: 10.3389/fevo.2020.575966
- Meira, B. R., Oliveira, F. R., Lansac-Tôha, F. M., Segovia, B. T., Progenio, M., LansacTôha F. A. and Velho, L. F. M. (2022). The importance of protists as a food resource for *Astyanax lacustris* (Osteichthyes, Characiformes) larvae at different stages of development. *Hydrobiol* 849, 781–794. doi: 10.1007/s10750-021-04734-3
- Mori, A. S., Isbell, F. and Cadotte, M. W. (2023). Assessing the importance of species and their assemblages for the biodiversity-ecosystem multifunctionality relationship. *Ecol.* e4104. doi: 10.1002/ecy.4104
- Monroy, S., Larrañaga, A., Martínez, A., Pérez, J., Molinero, J., Basaguren, A. and Pozo, J. (2023). Temperature sensitivity of microbial litter decomposition in freshwaters: Role of leaf litter quality and environmental characteristics. *Microb. Ecol.* 85(3), 839-852. doi: 10.1007/s00248-022-02041-5
- Nunez, S., Arets, E., Alkemade, R., Verwer, C. and Leemans, R. (2019). Assessing the impacts of climate change on biodiversity: is below 2° C enough?. *Clim. Change* 154(3), 351-365. doi: 10.1007/s10584-019-02420-x
- O’Gorman, E. J., Zhao, L., Kordas, R. L., Dudgeon, S. and Woodward, G. (2023). Warming indirectly simplifies food webs through effects on apex predators. *Nat. Ecol. Evol.* 7(12), 1983-1992. doi: 10.1038/s41559-023-02216-4

- Oliveira, F. R., Lansac-Tôha, F. M., Meira, B. R., Progênio, M. and Velho, L. F. M. (2024). Influence of Ecological Multiparameters on Facets of β -Diversity of Freshwater Plankton Ciliates. *Microb. Ecol.* 87(1), 10. doi: 10.1007/s00248-023-02312-9
- Ono, E. R., Manoel, P. S., Melo, A. L. U. and Uieda, V. S. (2020). Effects of riparian vegetation removal on the functional feeding group structure of benthic macroinvertebrate assemblages. *Community Ecol.* 21(2), 145-157. doi: 10.1007/s42974-020-00014-7
- Picapedra, P. H., Fernandes, C., Taborda, J., Baumgartner, G. and Sanches, P. V. (2020). A long-term study on zooplankton in two contrasting cascade reservoirs (Iguacu River, Brazil): effects of inter-annual, seasonal, and environmental factors. *PeerJ*. 8, e8979. doi: 10.7717/peerj.8979
- Podani, J. and Schmera, D. (2011). A new conceptual and methodological framework for exploring and explaining pattern in presence-absence data. *Oikos* 120(11), 1625-1638. doi: 10.1111/j.1600-0706.2011.19451.x
- Ravaglioli, C., Bulleri, F., Rühl, S., McCoy, S. J., Findlay, H. S., Widdicombe, S. and Queirós, A. M. (2019). Ocean acidification and hypoxia alter organic carbon fluxes in soft marine sediments. *Glob Chang Biol.* 25(12), 4165-4178. doi: 10.1111/gcb.14806
- Rezende, F., Antikeira, P. A., Petchey, O. L., Velho, L. F. M., Rodrigues, L. C. and Romero, G. Q. (2021). Trophic downgrading decreases species asynchrony and community stability regardless of climate warming. *Ecol. Lett.* 24(12), 2660-2673. doi: 10.1111/ele.13885
- Sabater, S., Freixa, A., Jiménez, L., López-Doval, J., Pace, G., Pascoal, C., Perujo, N., Craven, D. and González-Trujillo, J. D. (2022). Extreme weather events threaten biodiversity and functions of river ecosystems: evidence from a meta-analysis. *Biol. Rev.* 98(2), 450-461. doi: 10.1111/brv.12914
- Segovia, B. T., Lansac-Tôha, F. M., de Meira, B. R., Cabral, A. F., Lansac-Tôha, F. A. and Velho, L. F. M. (2016). Anthropogenic disturbances influencing ciliate functional feeding groups in impacted tropical streams. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23(19), 20003-20016. doi: 10.1007/s11356-016-7185-0
- Simpson, T. W., Martinelli, L. A. and Sharpley, R. W. Howarth. (2009). Impact of ethanol production on nutrient cycles and water quality: the United States and Brazil as case studies. Pages 153-167 in R.W. Howarth and S. Bringezu (eds) *Biofuels: Environmental Consequences and Interactions with Changing Land Use*. Proceedings of the Scientific Committee on

Problems of the Environment (SCOPE) International Biofuels Project Rapid Assessment, 22-25 September 2008, Gummersbach Germany. Cornell University, Ithaca NY, USA.

Slowinski, S., Radosavljevic, J., Graham, A., Ippolito, I., Thomas, K., Rezanezhad, F., Shafii, M., Parsons, C. T., Basu, N. B., Wikliud, J., Hall, R. I. and Van Cappellen, P. (2023). Contrasting impacts of agricultural intensification and urbanization on lake phosphorus cycling and implications for managing eutrophication. *J. Geophys. Res. Biogeosci.* 128(11), e2023JG007558.

Song, L., Chang, L., Zhang, S., Dou, Y. and Wu, D. (2021). Warming threatens the microbial communities in middle-high latitude peatland: evidence from testate amoebae. *Soil Biol. Biochem.* 153, 108105. doi: 10.1016/j.soilbio.2020.108105

Sherr, E. B. and B. F. Sherr. (1993). Preservation and storage of samples for enumeration of heterotrophic protists. In: *Current Methods in Aquatic Microbial Ecology*. P. Kemp, B. Sherr, E. Sherr and J. Cole, New York: Lewis Publ. 207-212.

Tonin, A. M., Goncalves, J. F., Jr., Bambi, P., Couceiro, S. R. M., Feitoza, L. A. M., Fontana, L. E., Hamada, N., Hepp, L. U., Lezan-Kowalczyk, V. G., Leite, G. F. M., Lemes-Silva, A. L., Lisboa, L. K., Loureiro, R. C., Martins, R. T., Medeiros, A. O., Morais, P. B., Moretto, Y., Oliveria, P. C. A., Pereira, E. B., Ferreira, L. P., Perez, J., Petrucio, M. M., Reis, D. F., Rezende, R. S., Roque, Santos, L. E. P., Siegloch, A. E., Tonello, G. and Boyero, L. (2017). Plant litter dynamics in the forest-stream interface: Precipitation is a major control across tropical biomes. *Sci. Rep.* 7(1), 1-14. doi: 10.1038/s41598-017-10576-8

Velho, L. F. M., Lansac-Tôha, F. A. and Bini, L. M. (2003). Influence of environmental heterogeneity on the structure of testate amoebae (Protozoa, Rhizopoda) assemblages in the plankton of the upper Paraná River floodplain, Brazil. *Int. Rev. Hydrobiol.* 88(2), 154-166. doi: 10.1002/iroh.200390011

Velho, L. F. M., Bini, L. M. and Lansac-Tôha, F. A. (2004). Testate amoeba (Rhizopoda) diversity in plankton of the Upper Paraná River floodplain, Brazil. *Hydrobiol.* 523, 103-111. doi: 10.1023/B:HYDR.0000033098.46753.9f

Velho, L. F. M., de Castro, S. D. F. R., Lansac-Tôha, F. M., Meira, B. R., Oliveira, F. R., Alves, G. M. and Lansac-Tôha, F. A. (2021). Spatial and temporal variation in species composition of ciliates communities (Alveolata, Ciliophora) from tropical urban and rural streams. *Ann. Limnol.* 57, 24. doi: 10.1051/limn/2021022

- Vicente-Gonzalez, L. and Vicente-Villardón, J. L. (2021). PERMANOVA, Multivariate Analysis of Variance Based on Distances and Permutations, R package version 0.2.0.
- Wang, R., Min, J., Kronzucker, H. J., Li, Y. and Shi, W. (2019). N and P runoff losses in China's vegetable production systems: Loss characteristics, impact, and management practices. *Sci. Tot. Environ.* 663, 971-979. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.01.368
- Wilkinson, D. M. and Mitchell, E. A. (2010). Testate amoebae and nutrient cycling with particular reference to soils. *Geomicrobiol. J.* 27(6-7), 520-533. doi: 10.1080/01490451003702925
- Wu, J. and Lu, J. (2021). Spatial scale effects of landscape metrics on stream water quality and their seasonal changes. *Water res.*, 191, 116811. doi: 10.1016/j.watres.2021.116811
- Xu, X., Su, G., Zhang, P., Wang, T., Zhao, K., Zhang, H., Huang, J., Wang, H., Kong, X., Xu, J. and Zhang, M. (2023). Effects of Multiple Environmental Stressors on Zoobenthos Commun Relationships of temperature and biodiversityities in Shallow Lakes: Evidence from a Mesocosm Experiment. *Animals*, 13(23), 3722. doi: 10.3390/ani13233722
- Zhao, Q., Van den Brink, P. J., Xu, C., Wang, S., Clark, A. T., Karakoç, C., Sugihara, G., Widdicombe, C. E., Atkinson, A., Matsuzaki, S. S., Shinohara, R., He, S., Wang, Y. X. G. and De Laender, F. (2023). Relationships of temperature and biodiversity with stability of natural aquatic food webs. *Nature Commun.* 14(1), 3507. doi: 10.1038/s41467-023-38977-6
- Zagumyonnaya, O. N., Philippov, D. A., Zagumyonnyi, D. G., Komarov, A. A., Tsyganov, A. N. and Tikhonenkov, D. V. (2023). Changes in Testate Amoeba Assemblages in a Series of Different Types of Aquatic and Terrestrial Habitats of Wetland and Forest Ecosystems. *Biol. Bull.* 50(8), 1719-1737. doi: 10.1134/S1062359023080332
- Zou, K., Wang, R., Xu, S., Li, Z., Liu, L., Li, M. and Zhou, L. (2021). Changes in protist communities in drainages across the Pearl River Delta under anthropogenic influence. *Water Res.* 200, 117294. doi: 10.1016/j.watres.2021.117294
- Zhang, H., Zhang, P., Wang, H., García Molinos, J., Hansson, L. A., He, L., Zhang, M. and Xu, J. (2021). Synergistic effects of warming and eutrophication alert zooplankton predator–prey interactions along the benthic–pelagic interface. *Glob. Change Biol.* 27(22), 5907-5919. doi: org/10.1111/gcb.15838

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os microrganismos, sejam eles associados ao compartimento perifítico ou presentes na fração planctônica do ambiente aquático foram utilizados para avaliar as respostas dessas comunidades frente a diferentes estressores ambientais, visando observar o impacto das mudanças globais sobre esses organismos.

De modo geral, esta pesquisa traz um avanço ecológico ao considerar abordagens do aumento da temperatura, adição de nutrientes, diminuição de detritos orgânicos sobre a estrutura e dinâmica da comunidade de amebas testáceas, e complementarmente a predação de peixes na estruturação e dinâmica de microrganismos aderidos ao compartimento perifítico. Estudos com base nestas abordagens ainda são escassos, em especial para essas comunidades aquáticas, visto que existe a dificuldade na identificação das espécies e pelo conhecimento ecológico pouco aprofundado em relação a múltiplos estressores sobre esses organismos.

Este estudo contribui para observar que o aumento da temperatura impactou significativamente de forma positiva a densidade das comunidades aderidas ao compartimento perifítico, enquanto os outros estressores analisados (adição de nutrientes, diminuição de detritos e predação) não mostraram uma influência para os atributos de riqueza e densidade. Em contrapartida, a presença de nutrientes foi o principal determinante da composição das comunidades, embora padrões específicos de distribuição de espécies não tenham sido identificados.

Em outro parâmetro constatou-se que o aquecimento resultou na redução da diversidade da comunidade de amebas testáceas planctônicas, conforme indicado pelo índice de Shannon, na qual revelou maiores diversidades nos tratamentos com temperatura controlada, com o tempo exercendo uma influência significativa na estrutura da comunidade ao longo do experimento. O enriquecimento por nutrientes teve importância para a riqueza da comunidade, sendo responsável por um aumento deste atributo em relação ao tempo. Ademais, os fatores nutrientes e tempo foram identificados como os principais influenciadores das alterações na densidade da comunidade. Para a composição das espécies, a análise de diversidade β total destacou a importância da temperatura, presença de detritos e tempo. Os componentes β repl e β rich foram notavelmente afetados pela temperatura e tempo, indicando mudanças na identidade das espécies ao longo do tempo.

Com isso, demonstra-se que tanto o aumento da temperatura quanto o enriquecimento por nutrientes têm efeitos significativos nas comunidades aquáticas. No entanto, a resposta das comunidades varia, dependendo mutuamente do estressor, das suas interações bióticas e do contexto ambiental. Mais pesquisas são necessárias para entender completamente os mecanismos que regulam os atributos de diferentes comunidades aquáticas a diferentes estressores, possibilitando desenvolver estratégias eficazes de conservação e manejo dos ecossistemas aquáticos frente às mudanças globais.

NOTA INFORMATIVA COMPLEMENTAR – Atividades desenvolvidas e publicações apresentadas durante o mestrado

-Participação em coletas do Programa de Pesquisas Ecológicas de Longa Duração (PELD) em Junho/2022, Março/2023, Maio/2023 e Setembro/2023.

-Ministrante no Minicurso de comunidades planctônicas aquáticas, fornecida pelo Centro Universitário Ingá.

-Palestrante sobre Ecologia e Biodiversidade de Comunidades planctônicas aquáticas e sua importância em teias tróficas superiores para a Liga Acadêmica de Biodiversidade Animal (LABA/UEM).

-Banca do trabalho de conclusão de curso de Gabriel Arthur Lopes da Silva (Universidade Estadual de Maringá).

-Coorientação do aluno João Vitor Bredariol Batista (Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário Ingá).

-Coorientação da aluna Karina Goes dos Santos Borges (Curso de Ciências Biológicas da UniCesumar).

-Auxílio na coorientação do trabalho de conclusão de curso da aluna Helen Carolina Sanches Nunez (Curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá).

-Auxílio na coorientação do aluno Gabriel Arthur Lopes da Silva (Curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá).

-Auxílio na coorientação do aluno Vinícius Marcelo de Souza Castro (Curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá).

-Auxílio na coorientação do aluno Gustavo Timóteo Vinhaes Silva (Curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá).

-Autor e Coautor em resumos e publicações em anais do Congresso Brasileiro de Limnologia (1 resumo), da Mostra Científica da UniCesumar (2 resumos), Encontro Anual de Iniciação Científica da UEM (2 resumos), Congresso Iberoamericano de Limnologia em Buenos Aires, Argentina (3 resumos), 1º Simpósio de Zooplâncton Neotropical (5 resumos), 2º Congresso

Internacional Interdisciplinar do Centro Universitário Ingá (1 resumo) e XIII Encontro Internacional de Produção Científica da UniCesumar (1 resumo).

-Participação em Eventos: Congresso Iberoamericano de Limnologia (Buenos Aires, Argentina), 1º Simpósio de Zooplâncton Neotropical (Universidade Federal de São Carlos).

-Participação em Oficinas: “Oficina de R básico” (UEM), Oficina de Identificação de Cladocera (ISZN- São Carlos) e Oficina de Identificação de Amebas Testáceas (ISZN, São Carlos).

-Participação em Eventos de Extensão: Pint of Science Brasil, Mostra Educacional na Escola Adventista de Maringá (referente à semana do Meio Ambiente do Município de Maringá-PR), Mostra Científica em Porto Rico – PR e Arena Sustentável (realizado pela prefeitura municipal de Maringá – PR).

-Auxílio na montagem de experimentos.

-Colaboração em artigo científico: “Upstream cascade reservoirs drive Temporal Beta Diversity increases through species loss in a dammed river” (Autores: Carolina Leite Guimarães Durán; Fernando Miranda Lansac-Tôha; Bianca Ramos de Meira; Loiani Oliveira Santana; Felipe Rafael de Oliveira; **Matheus Henrique de Oliveira de Matos**; Luiz Felipe Machado Velho) - FEMS Microbiology Ecology, 2024.

-Participação do conselho acadêmico do PEA (2022-2023).