

**Universidade do Minho**  
Escola de Ciências

**Impacto de fatores de stress múltiplos na comunidade de  
macroinvertebrados bênticos em ecossistemas fluviais**

José Carlos Guimarães Lourenço

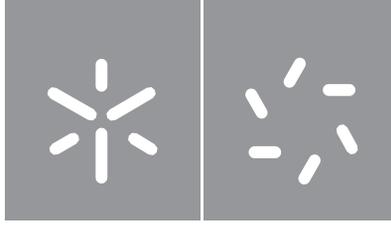
**Impacto de fatores de stress  
múltiplos na comunidade de  
macroinvertebrados bênticos em  
ecossistemas fluviais**

José Lourenço

UMinho | 2021

dezembro de 2021





**Universidade do Minho**  
Escola de Ciências

José Carlos Guimarães Lourenço

**Impacto de fatores de stress múltiplos na comunidade  
de macroinvertebrados bênticos em ecossistemas  
fluviais**

Dissertação de Mestrado  
Mestrado em Ecologia

Trabalho efetuado sob a orientação de

**Doutor Giorgio Pace**  
**Professora Doutora Cláudia Pascoal**

## **DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS**

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.

Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.



**Atribuição  
CC BY**

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

## **Agradecimento**

Gostaria de agradecer em primeiro lugar aos meus orientadores, Doutor Giorgio Pace e Doutora Cláudia Pascoal, pela oportunidade de trabalhar com eles. Enaltecer a disponibilidade e apoio de ambos durante todo o processo de elaboração da dissertação, assim como, o conhecimento transmitido nas diversas áreas.

Ao Doutor Cayetano Gutiérrez-Cánovas, que apesar de não ser orientador, contribui de forma importante na realização desta dissertação.

Ao Doutor Pedro Gomes por disponibilizar o laboratório durante a etapa de identificação.

Às pessoas que contribuíram durante a etapa de identificação, como a Ana Francisca e João Meira.

Às instituições onde desenvolvi o trabalho de dissertação e ofereceram todas as condições para tal, nomeadamente o CMBA – Centro de Biologia Molecular e Ambiental, IBS – Instituto de Ciência e Inovação para a Bio-Sustentabilidade, Departamento de Biologia e Universidade do Minho.

Aos meus amigos, agradecer pela amizade e momentos partilhados. E pelo apoio e motivação ao longo desta etapa.

Por fim, aos meus pais que sempre me apoiaram, aconselharam e incentivaram ao longo da minha vida.

Este trabalho foi financiado pelo programa operacional de competitividade e internacionalização (COMPETE 2020) do Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER) e pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) IP no âmbito do projeto STREAMECO: Biodiversidade e Funcionamento dos Ecossistemas sob alterações climáticas: do gene até ao rio (PTDC / CTA-AMB / 31245/2017)

## **DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE**

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração.

Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

# **Impacto de fatores de stress múltiplos na comunidade de macroinvertebrados bênticos em ecossistemas fluviais**

## **Resumo**

Os ecossistemas de água doce possuem a mais dinâmica e elevada biodiversidade do planeta, no entanto, são também os que se encontram mais ameaçados. A biodiversidade é definida como a variedade de vida, e engloba a composição, a estrutura e as funções das comunidades biológicas. A biodiversidade e os ecossistemas naturais encontram-se sob a pressão de agentes de stress múltiplos, que podem ter efeitos interativos ou aditivos, sendo este tema uma questão emergente em ecologia. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de agentes de stress múltiplos na diversidade taxonómica e funcional de macroinvertebrados bênticos em ecossistemas fluviais. A área de estudo abrange três bacias hidrográficas do Norte de Portugal (rio Lima, Cávado e Ave), onde foi realizada uma amostragem em 50 locais, que decorreu durante setembro e outubro de 2020. Nesses locais foram recolhidos macroinvertebrados e variáveis ambientais. Foram identificados os principais agentes de stress, nomeadamente o azoto inorgânico dissolvido, o oxigénio dissolvido, a temperatura máxima, a sombra e a velocidade da corrente. Os agentes de stress resultaram apenas em efeitos aditivos nas respostas das métricas da biodiversidade. A diversidade funcional foi mais sensível aos agentes de stress do que a diversidade taxonómica. Especificamente, a dispersão funcional apresentou uma resposta diferente das restantes métricas aos agentes de stress. Em conclusão, o nosso estudo (1) permitiu identificar os agentes de stress predominantes nos ecossistemas fluviais do noroeste de Portugal, (2) realçou a necessidade de avaliar os efeitos combinados dos agentes de stress nos ecossistemas naturais, (3) salientou o potencial de analisarmos várias componentes da biodiversidade por fornecerem informação ecológica complementar, e (4) realçou a importância de refinar as métricas de diversidade funcional, uma vez que podem contribuir para a identificação de agentes de stress, e para clarificar os mecanismos que levam à estruturação das comunidades biológicas.

**Palavras-chave:** biodiversidade; dispersão funcional; riqueza funcional; efeitos aditivos; agentes de stress múltiplos; macroinvertebrados; diversidade funcional; diversidade taxonómica.

# **Impact of multiple stressors on benthic macroinvertebrate communities in freshwater ecosystems**

## **Abstract**

Freshwaters are among the most dynamic ecosystems with the highest biodiversity on Earth, but at the same time they are the most endangered. Biodiversity can be defined as the variability of life, which includes the composition, the structure, and the functions ensured by biological communities. Natural ecosystems are under pressure from multiple stressors, which may have interactive or additive effects, and this is an emerging topic in ecology. The objective of this study was to evaluate the influence of multiple stressors on the taxonomic and functional diversity of benthic macroinvertebrates in river ecosystems. The study area includes 50 sampling sites across three hydrographic basins of the north Portugal (Lima, Cávado and Ave rivers). The sampling of macroinvertebrates and environmental variables was carried out between September and October of 2020. The major stressors were identified, namely the dissolved inorganic nitrogen, dissolved oxygen, maximum temperature, shade, and current velocity. The stressors resulted only in additive effects on the responses of biodiversity metrics. Functional diversity was more sensitive to stressors than taxonomic diversity. Functional dispersion had a different response to the stressors than the other metrics. This study (1) allowed us to identify which stressors are predominant in the rivers of northwest Portugal, (2) emphasized the need to assess the impacts of multiple stressors simultaneously in freshwater ecosystems, (3) highlighted the potential of the different components of biodiversity to provide complementary ecological information, and (4) emphasized the importance of functional diversity metrics, as they can contribute to the identification of stressors and to better understand the mechanisms underlying the structure of biological communities.

**Keywords:** biodiversity; functional dispersion; functional richness; additive effects; multiple stressors; macroinvertebrates; functional diversity; taxonomic diversity.

<b>Índice</b>	
<b>Agradecimento</b>	iii
<b>Resumo</b>	v
<b>Abstract</b>	vi
<b>Índice</b>	vii
<b>Lista de Figuras</b>	ix
<b>Lista de Tabelas</b>	xi
<b>1. Introdução</b>	1
1.1. <b>Ecosistemas de água doce</b>	1
1.2. <b>Biodiversidade</b>	3
1.2.1. <b>Diversidade taxonómica</b>	3
1.2.2. <b>Diversidade funcional</b>	5
1.2.3. <b>A biodiversidade com uma segurança para enfrentar a variabilidade ambiental</b>	7
1.3.1 <b>Importância dos Macroinvertebrados</b>	10
1.4 <b>Impacto antropogénico e agentes múltiplos de stress</b>	11
1.5 <b>Objetivo e hipóteses</b>	13
<b>2. Materiais e métodos</b>	15
2.1 <b>Área de estudo</b>	15
2.2 <b>Amostragem</b>	17
2.2.1 <b>Macroinvertebrados</b>	17
2.2.2 <b>Variáveis ambientais abióticas e bióticas</b>	17
2.3 <b>Análise de dados</b>	19
2.3.1 <b>Estrutura da comunidade, traços e métricas de diversidade</b>	20
2.3.2 <b>Modelos múltiplos de diversidade e resposta a agentes de stress</b>	21
<b>3. Resultados</b>	22

<b>3.1 Estrutura da comunidade e traços dos macroinvertebrados bênticos</b>	22
<b>3.2 Resposta da biodiversidade a agentes de stress múltiplos</b>	28
<b>3.2.2 Resposta da diversidade funcional aos agentes de stress</b>	33
<b>3.2.3 Partição da variância</b>	38
<b>4. Discussão</b>	40
<b>4.1 Efeitos isolados dos agentes de stress</b>	41
<b>4.3 Diversidade funcional versus diversidade taxonómica</b>	48
<b>4.4 Ambiguidade funcional: dispersão funcional vs. riqueza funcional</b>	49
<b>5. Conclusão</b>	54
<b>6. Referências bibliográficas</b>	56
Anexo A - Teste de Tukey	82
Anexo B – Correlações entre os traços funcionais e os eixos da PCoA	83
Anexo C – Correlações entre as variáveis ambientais e as métricas de diversidade	85
Anexo D – Melhores modelos múltiplos	86

## Lista de Figuras

Figura 1 – a) Declínio da abundância das populações de vertebrados em diferentes ecossistemas usando o Living Planet Index (LPI), comparando de forma sistemática por densidade (WWF, 2016); b) Declínio da abundância das populações de vertebrados em diferentes ecossistemas usando o Living Planet Index (WWF, 2020). 2

Figura 2 - Área de estudo. a) Riqueza de macroinvertebrados, b) Índice BMWP, c) Índice de intensificação do uso do solo. Os locais foram categorizados com recurso a dois índices de diversidade relativos à comunidade de macroinvertebrados (riqueza e BMWP) e um índice de intensificação do uso do solo (LUI) (Fonte: Atlas do Ambiente Digital - IA, 2021). 17

Figura 3 - Estrutura da comunidade de macroinvertebrados representada através de uma ordenação com recurso à técnica de ordenação DCA. As elipses sobrepostas correspondem aos grupos formados pela análise hierárquica dos locais da área de estudo, composta pelas bacias hidrográficas dos rios Ave, Cávado e Lima. No topo é possível observar a variância explicada por cada eixo, e a variância cumulativa dos mesmos. Os eixos estão identificados com os vetores correspondentes, assim como é indicada a dimensão dos dois vetores principais, que representa a substituição dos taxa. 23

Figura 4 - a) Box plot da riqueza em função dos grupos da DCA, com as cores a representar os grupos discriminados pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), b) Box plot do índice IBMWP em função dos grupos da DCA, com as cores a representar os grupos discriminados pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Os valores dos testes de Tukey apresentam-se no Anexo A 24

Figura 5 - Visualização dos grupos funcionais da comunidade de macroinvertebrados bênticos. a) Análise hierárquica dos grupos funcionais com base nos traços funcionais da comunidade, b) Distribuição dos grupos funcionais no espaço funcional (PCoA), representado a 2 dimensões, com recurso aos eixos 1 e 2, c) Representação dos grupos funcionais, num plano bidimensional, com recurso aos eixos 1 e 3, d) Representação dos grupos funcionais, num plano bidimensional, com recurso aos eixos 2 e 3. 26

Figura 6 - Resposta da riqueza taxonómica aos agentes de stress seleccionados ( $R^2=67,52\%$ ). a) Azoto inorgânico dissolvido, b) Temperatura máxima, c) Oxigénio dissolvido mínimo, considerando o valor médio dos restantes agentes de stress. 29

Figura 7 - Resposta da riqueza taxonómica ao efeito combinado de pares de agentes de stress. a) Azoto inorgânico dissolvido e temperatura máxima, b) Azoto inorgânico dissolvido e oxigénio dissolvido mínimo, c) Temperatura máxima e oxigénio dissolvido mínimo. As cores nos gráficos

representam os diferentes níveis dos agentes de stress: a cor verde representa um nível baixo, a cor azul representa um nível intermédio, a cor amarela representa um nível alto. 30

Figura 8 - Resposta da riqueza taxonómica a agentes de stress seleccionados em combinações duplas (azoto inorgânico dissolvido e temperatura máxima; azoto inorgânico dissolvido e oxigénio dissolvido mínimo) e triplas (azoto inorgânico dissolvido, temperatura máxima e oxigénio dissolvido mínimo). As diferentes cores representam as diferentes combinações entre agentes de stress. 31

Figura 9 - Resposta do índice de diversidade Hill Shannon aos agentes de stress seleccionados ( $R^2=61,31\%$ ). a) Azoto inorgânico dissolvido, b) Temperatura máxima, c) Oxigénio dissolvido mínimo, considerando o valor médio dos restantes agentes de stress. 32

Figura 10 - Resposta do Hill Shannon ao efeito combinado de pares de agentes de stress. a) Azoto inorgânico dissolvido e temperatura máxima, b) Azoto inorgânico dissolvido e oxigénio dissolvido mínimo, c) Temperatura máxima e oxigénio dissolvido mínimo. As cores nos gráficos representam os diferentes níveis dos agentes de stress: a cor verde representa um nível baixo, a cor azul representa um nível intermédio, a cor amarela representa um nível alto. 32

Figura 11 - Resposta do Hill Shannon a agentes de stress seleccionados em combinações duplas (azoto inorgânico dissolvido e temperatura máxima; azoto inorgânico dissolvido e oxigénio dissolvido mínimo) e triplas (azoto inorgânico dissolvido, temperatura máxima e oxigénio dissolvido mínimo). As diferentes cores representam as diferentes combinações entre agentes de stress. 33

Figura 12 - Resposta da riqueza funcional aos agentes de stress seleccionados ( $R^2=51,35\%$ ). a) Azoto inorgânico dissolvido, b) Temperatura máxima, c) Oxigénio dissolvido mínimo, considerando o valor médio dos restantes agentes de stress. 34

Figura 13 - Resposta da riqueza funcional ao efeito combinado de pares de agentes de stress. a) Azoto inorgânico dissolvido e temperatura máxima, b) Azoto inorgânico dissolvido e oxigénio dissolvido mínimo, c) Temperatura máxima e oxigénio dissolvido mínimo. As cores nos gráficos representam os diferentes níveis dos agentes de stress: a cor verde representa um nível baixo, a cor azul representa um nível intermédio, e a cor amarela representa um nível alto. 34

Figura 14 - Resposta da riqueza funcional a agentes de stress seleccionados em combinações duplas (azoto inorgânico dissolvido e temperatura máxima; azoto inorgânico dissolvido e oxigénio dissolvido mínimo) e triplas (azoto inorgânico dissolvido, temperatura máxima e oxigénio

dissolvido mínimo). As diferentes cores representam as diferentes combinações entre agentes de stress.	35
Figura 15 - Resposta da dispersão funcional a agentes de stress selecionados ( $R^2=36.03\%$ ). a) Velocidade média, b) Temperatura máxima, c) Oxigénio dissolvido mínimo, d) Azoto inorgânico dissolvido, considerando o valor médio dos restantes agentes de stress.	36
Figura 16 - Resposta da dispersão funcional ao efeito combinado de pares de agentes de stress. a) Velocidade média e temperatura máxima, b) Velocidade média e azoto inorgânico dissolvido, c) Temperatura máxima e oxigénio dissolvido mínimo. As cores nos gráficos representam os diferentes níveis dos agentes de stress: a cor verde representa um nível baixo, a cor azul representa um nível intermédio, e a cor amarela representa um nível alto.	37
Figura 17 - Resposta da dispersão funcional (FDis) a agentes de stress selecionados em combinações duplas (velocidade média e temperatura máxima e velocidade média e azoto inorgânico dissolvido) e triplas (velocidade média, temperatura máxima e azoto inorgânico dissolvido). As diferentes cores representam as diferentes combinações entre agentes de stress.	38
Figura 18 - Partição da variância das métricas de diversidade em função dos agentes de stress selecionados e considerando os melhores modelos com $\Delta AICc \leq 2$ .	40

## **Lista de Tabelas**

Tabela 1 - Variáveis ambientais caracterizadas em cada local de amostragem	17
Tabela 2 - Resumo dos resultados da identificação de macroinvertebrados bênticos nos 50 locais de amostragem nas bacias dos rios Ave, Cávado e Lima no norte de Portugal.	23
Tabela 3 – Quantidade de rios por classe (classificados usando o IBMWP para os macroinvertebrados).	25
Tabela 4 - Grupos funcionais obtidos e respetivas características biológicas.	27
Tabela 5 - Correlação entre métricas de diversidade taxonómica (riqueza, índice de diversidade de Shannon, número de Hill de Shannon) e métricas de diversidade funcional (riqueza funcional e dispersão funcional)	28
Tabela 6 – Variáveis selecionadas representativas de cada tipo de pressão	28
Tabela 7 - Melhor modelo global selecionado.	38

# **1. Introdução**

## **1.1. Ecossistemas de água doce**

Os ecossistemas de água doce compreendem apenas 0,01% da água do planeta, e ocupam cerca de 2,3% da área de superfície terrestre (Lehner & Döll, 2004). Estes ecossistemas são dependentes do ciclo hidrológico, sendo que numa fase inicial são ecossistemas lóticos, formados como resultado da precipitação em simultâneo com a contribuição da geomorfologia. Resultante da elevada altitude e inclinação, existe a formação de vários ribeiros de pequena dimensão, onde a água circula como resposta à gravidade. Eventualmente estes ribeiros podem continuar a ser ecossistemas lóticos, sendo que isto acontece quando existe uma aglutinação de cursos de água de menor dimensão, e que levam à formação de grandes rios que conseqüentemente formam uma bacia hidrográfica que flui em direção às zonas costeiras. No entanto, desta aglutinação podem resultar ecossistemas lênticos, como são o caso das lagoas e lagos, que são resultado da aglutinação de cursos de água que constituem bacias hidrográficas que fluem para zonas interiores, levando à formação dos ecossistemas referidos (Kuehn, 2016). Como referido, os ecossistemas de água doce podem ser divididos em duas categorias. As diferenças entre estas duas categorias resultam de condições hidrológicas e físico-químicas. Neste sentido, os ecossistemas lênticos são caracterizados por baixas velocidades de corrente e a ausência de um fluxo direcional da água (propriedades hidrológicas). Assim, resultante de períodos (estações do ano) em que existe variações das condições ambientais (e.g., temperatura), estes ecossistemas sofrem uma estratificação vertical da coluna de água resultante de parâmetros físico-químicos como a temperatura, a concentração de oxigénio dissolvido, e outras substâncias (e.g., nutrientes). Por outro lado, os ecossistemas lóticos apresentam elevadas velocidades de corrente e uma direção constante por onde flui a corrente, o que leva a que haja uma mistura da água resultante da turbulência, que impede a formação das camadas estratificadas de temperaturas, oxigénio dissolvido e das restantes substâncias (Mochev & Pavlov, 2021).

Os ecossistemas de água doce são compostos por água, sendo que esta é extremamente importante, pois é o elemento estrutural que pode ser vista como um serviço de ecossistema importante para diferentes ecossistemas (por exemplo, no caso do seu uso em irrigação de agroecossistemas, ou no fornecimento de água nas florestas) (Caro, Pinto, & Marques, 2018), e ao mesmo tempo pode atuar como suporte a outros serviços dos

ecossistemas aquáticos, como por exemplo servir de habitat para as espécies aquáticas, contribuir para o sequestro de carbono, e para o provisionamento de alimento (Guo & Xu, 2019).

Do ponto de vista biológico, estes ecossistemas possuem a mais dinâmica e a mais concentrada biodiversidade do planeta (Rolls, et al., 2018), no entanto, são considerados os mais ameaçados, necessitando urgentemente de conservação e restauro (Millennium Ecosystem Assessment, 2005; Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2006). Nos últimos anos, com o avançar da era proposta por Crutzen como “O Antropoceno” (Crutzen, 2006), resultaram ameaças à biodiversidade e a estes ecossistemas, que têm vindo a aumentar, tendo surgido também novas ameaças anteriormente desconhecidas (Reid, et al., 2019). Desta forma, surgem desafios que impactam diretamente o bem-estar humano e a sua subsistência a nível global (Díaz, et al., 2019). Na Figura 1 é possível observar que o declínio da biodiversidade em ecossistemas de água doce se tem acentuado mais do que nos restantes ecossistemas, particularmente desde 2003, e que o valor estimado de perda de biodiversidade a partir de 1970 é de 84%.

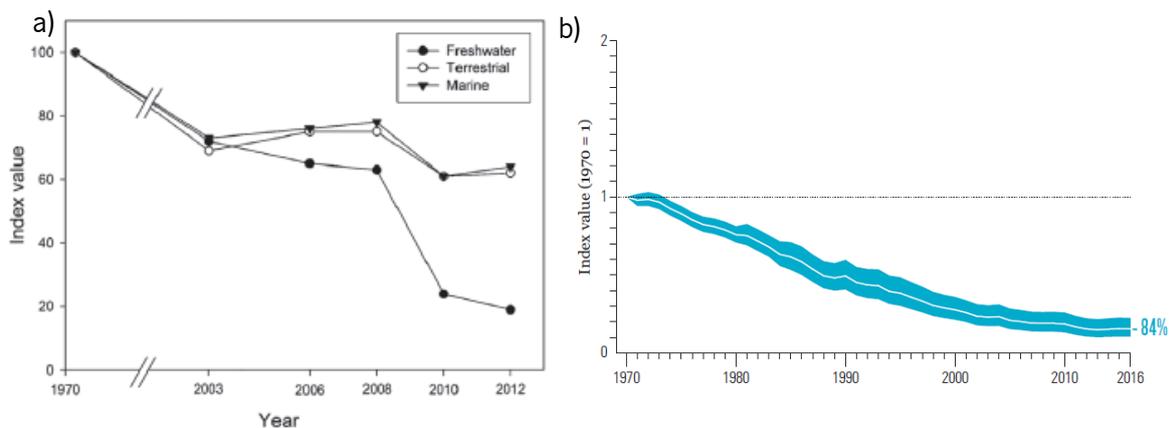


Figura 1 – a) Declínio da abundância das populações de vertebrados em diferentes ecossistemas usando o Living Planet Index (LPI), comparando de forma sistemática por densidade (WWF, 2016); b) Declínio da abundância das populações de vertebrados em diferentes ecossistemas usando o Living Planet Index (WWF, 2020).

Assim, perante um mundo pautado por alterações globais e distúrbios locais, existe a preocupação de como o funcionamento e a resiliência destes ecossistemas é afetada, e quais as implicações para os serviços de ecossistemas (Thornhill, et al., 2018), ou seja, para a subsistência e desenvolvimento do ser humano dada a dependência humana dos serviços providenciados pelos ecossistemas aquáticos (Aznar-Sánchez et al., 2019).

## 1.2. **Biodiversidade**

Existem várias formas de definir biodiversidade, sendo que o termo mais aceite e de maior facilidade de compreensão é a variedade de vida englobando a composição, estrutura e as funções (Savard, Clergeau, & Mennechez, 2000). Podemos até pensar na biodiversidade como um investimento estratégico realizado pela natureza que garante uma competição contínua e progressiva que leva ao melhoramento das formas de vida (Jaishanker, et al., 2021). Compreendemos, assim, que a biodiversidade é um termo abrangente, que inclui uma complexidade de organismos, assim como o seu habitat e todos os processos ecológicos associados, que pode ser estruturada em elementos/componentes como a diversidade de ecossistemas, a diversidade de espécies e a diversidade genética (Adom et al., 2019), onde cada componente tem potencial de oferecer informação complementar (McNeely et al., 1990). Assim, a biodiversidade pode ser estruturada em grupos de uma forma hierárquica, mas interligada entre as várias componentes dos diferentes níveis de organização biológica (Noss, 1992). Teoricamente, ao nível da comunidade, as diferentes componentes da biodiversidade não são independentes uma vez que as métricas de diversidade funcional e filogenéticas são necessariamente dependentes da presença das espécies (diversidade taxonómica) (Pavoine & Bonsall, 2011). Assim, existe a perceção de que o termo biodiversidade compreende todos os níveis de organização biológica, assim como todas as escalas temporais e espaciais (Noss, 1990; Savard, 1994).

### 1.2.1. **Diversidade taxonómica**

A diversidade taxonómica pode ser definida como o número de espécies diferentes presentes numa comunidade (Jarzyna & Jetz, 2016). Tradicionalmente tem sido usada com o intuito de avaliar o efeito de distúrbios antropogénicos e, conseqüentemente, como uma medida para avaliar a saúde do ecossistema (Asaad et al., 2017). Desta forma, as comunidades biológicas foram sendo caracterizadas através de métricas simples como a riqueza, a abundância ou composição em taxa (Sroczyńska et al., 2021).

No entanto, as métricas de diversidade taxonómica podem ser limitadas quando usadas como representativas da biodiversidade, isto porque não tem em consideração a identidade das espécies, assim como a diferença ecológica entre elas (Cisneros, Fagan, & Willig, 2015). Todavia, as alterações na diversidade taxonómica podem não implicar alterações no funcionamento do ecossistema (Friberg, et al., 2011). Mais recentemente, tem sido sugerido que

a diversidade funcional tenha uma maior influência no funcionamento do ecossistema do que a diversidade taxonómica (riqueza), considerando-se assim que a identidade das espécies, assim como as características morfológicas e fisiológicas inerentes, traduzam melhor as relações entre a diversidade e os processos ecológicos principalmente por algumas espécies terem contributos funcionais significativos (Díaz & Cabido, 2001). O uso da diversidade taxonómica também leva a perda de informação no que diz respeito às comunidades biológicas, isto porque estes grupos possuem taxa com diferentes histórias evolutivas e que podem desempenhar diferentes papéis nos ecossistemas (Cardoso, et al., 2014). Outra das limitações é que a diversidade taxonómica pode ser influenciada pelo tamanho da amostra e o esforço de amostragem, bem como pela variação ambiental natural que podem influenciar significativamente as métricas de diversidade (e.g., riqueza, índice de diversidade de Shannon) (Zhang, et al., 2020).

Nos últimos anos têm surgido novas métricas da biodiversidade, incluindo as componentes da diversidade funcional e genética. A base que levou ao surgimento dos novos índices de diversidade foi a quantificação das diferenças que são inerentes e variam entre os grupos dos níveis de organização biológica, e a quantificação das diferenças dentro do mesmo nível biológico, como no caso das espécies em que se pode considerar a variação intraespecífica (Cousins, 1991).

A diversidade taxonómica pode ser quantificada através de métricas de diversidade, que são usadas como indicadores ecológicos (Izsák, 2005). A riqueza taxonómica pode ser definida como o número de espécies presentes numa dada comunidade ou região (Mittelbach & Schemske, 2015). Atualmente, a riqueza taxonómica é categorizada como uma classe pertencente às variáveis essenciais da biodiversidade, que deve ser monitorizada e comparada ao longo do espaço e do tempo, considerando diferentes contextos ambientais (Grenié, Violle, & Munoz, 2020), com o intuito de compreender as causas responsáveis pelas variações dos padrões da biodiversidade (Mittelbach, 2012). Outra métrica é o índice de Shannon (Shannon & Weaver, 1949), que consiste em quantificar a variação entre os valores de abundância relativa das taxa presentes numa comunidade (Strong, 2016), e que tem em conta a riqueza e a equitabilidade (Smith & Wilson, 1996), sendo a equitabilidade representativa da variabilidade na abundância das espécies (Magurran, 2004). Este índice é definido como “o grau de incerteza associado à escolha da identidade de um indivíduo que é escolhido de forma aleatória de uma matriz de dados” (Tuomisto, 2012). Atualmente, o índice de Shannon tem sido incluído numa classe de medidas de diversidade designada como o número de Hill ou número efetivo de

espécies, sendo que este desenvolvimento tem demonstrado vantagens na quantificação da diversidade em espécies (Chao, Chiu, & Jost, 2014; Hill M. , 1973). O número de Hill permite considerar um número contínuo de medidas de diversidade que apenas difere em termos de sensibilidade à presença de espécies raras (Maturó, 2018). As vantagens associadas ao uso do número de Hill quando comparado com o índice de Shannon tradicional, são que com o aumento da ordem de diversidade, o número de Hill fica menos sensível à presença de taxa raras (Ricotta et al., 2003), e ao mesmo tempo permite uma representação efetiva do número de espécies (Jost, 2007), o que não acontece com o índice de Shannon, que exprime um valor cumulativo.

### 1.2.2. **Diversidade funcional**

A diversidade funcional é a componente da biodiversidade que permite estabelecer a ligação com o funcionamento do ecossistema (Petchey & Gaston, 2006). Esta componente encontra-se relacionada com os processos e as funções asseguradas pela comunidade de um ecossistema e, conseqüentemente, é moldada pelas condições ambientais e pelos distúrbios antropogénicos (Villéger, Mason, & Mouillot, 2008). A partir dos organismos e espécies é possível quantificar a magnitude das suas diferenças através das suas características morfológicas, permitindo assim descrever e quantificar as diferenças entre traços morfológicos e conseqüente perfil de traços (Chao, Chiu, & Jost, 2014). Os traços funcionais podem ser definidos como grupos morfológicos, fisiológicos e fenológicos que afetam de forma indireta a performance dos organismos (Liu et al., 2021), sendo assim possível pressupor que é possível prever as respostas funcionais dos indivíduos e como é que estes afetam o habitat que os rodeia (Wilman, et al., 2014). Os traços funcionais permitem desta forma compreender os mecanismos que resultam da coexistência e interação das espécies, entre si e com o ecossistema, o que explica a contribuição das espécies e traços no funcionamento do ecossistema (Cadotte, Carscadden, & Mirotnick, 2011). Muitos destes mecanismos são alvo de estudo da fisiologia, que estuda os diversos níveis de organização biológica, e tem como principal objetivo descrever como é que os organismos funcionam, desde um nível anatómico e estrutural (do organismo e órgãos), até à forma como adquirem os recursos, quais os seus metabolismos e fluxos de energia, quais os seus ajustes bioquímicos e fisiológicos (e.g., autorregulação e homeostasia), quais as suas respostas (e.g., processos de aclimatização a alterações ambientais, tolerância ambiental, performance) e conseqüentemente o impacto no ecossistema (Cooke, et al., 2013). Tendo em conta esta interação entre os traços funcionais e as condições ambientais, alguns

autores defendem que a diversidade funcional deve de ser mais fortemente determinada pelas variáveis ambientais (Ding, et al., 2017). Assim, a diversidade funcional é um termo amplamente usado, mas podemos ser mais precisos e falar em diversidade fenotípica ou de traços. Esta distinção conceptual baseia-se na falta de capacidade de atribuir um efeito direto entre a medição dos traços funcionais (e consequentemente de métricas funcionais) e um processo do ecossistema (Violle, et al., 2007), uma vez que o processo ecológico não é o alvo do estudo. A diversidade de traços deve incluir todas as diferenças intraespecíficas e interespecíficas dos traços funcionais (Fontana, Petchey, & Pomati, 2016). Ao nível de comunidade, a diversidade funcional reflete alterações bióticas e abióticas (já descrito anteriormente), mas também reflete pressões seletivas (Vogt, Peres-Neto, & Beisner, 2013).

As métricas de diversidade funcional, quantificam a distribuição dos traços numa comunidade ou a magnitude relativa da similaridade e diferenças entre as espécies, permitindo fornecer informações mais concisas do que a diversidade taxonómica (Cadotte, Carscadden, & Mirotchnick, 2011). Assim, são determinadas as estratégias funcionais das espécies, resultantes da consideração dos traços funcionais que são relevantes, o que permite construir o espaço multidimensional funcional que é usado para quantificar a estrutura funcional da comunidade, baseando-se na distribuição dos pontos das espécies e no seu peso (abundância) (Mouillot et al., 2013). Assim, através dos traços funcionais é possível obter o espaço multidimensional funcional, que permite caracterizar as mudanças funcionais ao nível da comunidade (Pakeman R. , 2011), permitindo testar hipóteses relacionadas com os mecanismos que explicam a relação entre processos do ecossistema e biodiversidade (complementaridade entre espécies vs. efeito de seleção) (Malaterre, et al., 2019). A riqueza funcional é uma métrica de diversidade funcional e representa a quantidade de espaço funcional que é ocupado pela comunidade. Esta métrica calcula o volume de invólucro convexo das espécies no espaço multidimensional funcional (Villéger, Mason, & Mouillot, 2008). A dispersão funcional (outra métrica), foi proposta por Laliberté & Legendre, 2010, e quantifica a amplitude dos papéis funcionais entre as espécies, pressupondo-se que um ecossistema com uma comunidade que represente uma elevada dispersão funcional deve possuir uma elevada dissimilaridade funcional e consequentemente uma ampla capacidade de resposta a distúrbios ambientais (Elmqvist, et al., 2003). Esta métrica quantifica a distância média ponderada entre as espécies presentes no espaço multidimensional e um centroide que representa a comunidade (todas as espécies) (Pakeman, 2014). A diversidade funcional também é afetada pelo tamanho e esforço de amostragem (van der Plas,

et al., 2017). Tanto a riqueza funcional como a dispersão funcional podem evidenciar diferentes padrões espaciais e temporais (Valdivia, et al., 2016).

### 1.2.3. **A biodiversidade com uma segurança para enfrentar a variabilidade ambiental**

A hipótese de segurança afirma que o aumento da diversidade assegura/protege o ecossistema contra declínios no seu funcionamento, resultante de variações ambientais (Yachi & Loreau, 1999). Esta hipótese pressupõe que diferentes espécies possuem diferentes fenótipos e diferentes graus de resistência às alterações ambientais, levando a que exista uma compensação entre as espécies perante os distúrbios ambientais. Desta forma, o contributo de algumas espécies nos processos de ecossistemas pode diminuir, mas ao mesmo tempo pode acontecer um efeito inverso na contribuição de outras espécies (Yachi & Loreau, 1999). Esta hipótese da biodiversidade afirma que a elevada diversidade taxonómica está associada a elevada redundância de traços funcionais que contribuem para um aumento da estabilidade das comunidades biológicas e dos processos dos ecossistemas (Teichert, et al., 2015). A estabilidade pode ser encarada na perspetiva da resistência a uma determinada alteração, assim como na perspetiva da resiliência, ou seja, da capacidade de recuperação após o distúrbio (Biggs, et al., 2020).

Neste contexto, salientamos a relevância da redundância funcional, onde a biodiversidade aumenta a probabilidade de uma comunidade ter espécies funcionalmente redundantes e com diferentes graus de sensibilidade aos fatores abióticos, o que contribui para o efeito compensatório das espécies dentro dos grupos funcionais em diferentes contextos ambientais (Naeem, 1996). Os grupos funcionais, por sua vez, são definidos como grupos com espécies que são ecologicamente equivalentes, ou seja, que asseguram processos semelhantes no ecossistema (Körner, 1993). Por exemplo, em sistemas multitróficos, os grupos funcionais podem ser definidos como grupos tróficos (Christiansen, 1997). Casualmente existem extinções de espécies dentro de grupos funcionais, no entanto, reservatórios de espécies ou a dispersão e colonização que ocorrem a partir de ecossistemas próximos, permitem que os grupos funcionais sejam repostos e que o declínio da biodiversidade, caso ocorra, seja temporário. Tendo em conta o declínio da biodiversidade global, é expectável a perda de espécies redundantes nos ecossistemas, o que significa que a diversidade dentro dos grupos funcionais se reduz, e quando associada à fragmentação de habitat diminui a capacidade de recolonização (Naeem, 1996). Desta forma, o declínio da biodiversidade diminui a redundância funcional e compromete o

funcionamento dos ecossistemas. A ligação entre a biodiversidade e o funcionamento dos ecossistemas é complexa e dependente de muitos fatores, como a estrutura da comunidade, a interação entre espécies, a identidade e os traços das espécies que se perdem ou ganham no sistema, e o contexto ambiental (Castro-Català, et al., 2020).

### 1.3. **Biomonitorização e conservação dos ecossistemas de água doce**

A Diretiva-Quadro da Água (Directiva 2000/60/CE, 2000) é uma diretiva europeia que estabelece que todos os países pertencentes à União Europeia têm o dever de proteger, melhorar e recuperar todas as massas de água superficiais com o intuito de que atinjam a classificação de Bom Estado (Artigo 4º, Directiva 2000/60/CE, 2000). Esta diretiva serviu de base para o estabelecimento de legislação que englobava elementos biológicos, hidromorfológicos, químicos e físico-químicos (Laranjeiro et al., 2015). Assim, de forma a avaliar o estado ecológico das massas de água, utilizam-se Elementos de Qualidade Biológica (e.g., peixes, macroinvertebrados, diatomáceas), e comparam-se as comunidades observadas, com comunidades referência (Larras & Usseglio-Polatera, 2020), com o intuito de classificar os cursos de água. Contudo, aproximadamente 60% dos cursos de água a nível europeu falham no que diz respeito à obtenção de uma boa classificação ecológica (European Environment Agency, 2018), o que demonstra que apesar da elevada e complicada legislação, muitos dos objetivos não têm sido cumpridos (Bieroza, Bol, & Glendell, 2021).

Na última década foram surgindo redes de trabalho globais com o intuito de desenvolver Sistemas de Observações na Terra, sendo um dos mais notáveis o “Group on Earth Observation - Biodiversity Observation Network”, que formaram um consórcio (GEO-BON; <https://geobon.org>) com o intuito de desenvolver sistemas de monitorização da biodiversidade (Turak, et al., 2017). Um dos maiores contributos desse grupo de trabalho foi a seleção das variáveis essenciais da biodiversidade (Pereira, et al., 2013) que propõe 6 classes abrangentes que representam a maioria das componentes da biodiversidade nomeadamente a composição genética (e.g., diversidade e diferenciação genética), as populações dentro das espécies (abundância e distribuição), os traços das espécies (e.g., morfológicos, fisiológicos, fenológicos), a composição das comunidades (e.g., diversidade taxonómica, filogenética ou de traços), estrutura dos ecossistemas (e.g., distribuição dos ecossistemas) e o funcionamento dos ecossistemas (e.g., produção primária) (Turak et al., 2017; Pereira et al., 2013; Lock et al., 2021).

A Figura 1 ilustra o declínio da abundância das populações de vertebrados nos ecossistemas de água doce, evidenciando a grande preocupação dos ecólogos e biólogos com os organismos vertebrados (Ceballos & Ehrlich, 2002; Pimm & Raven, 2000; Wilson, 2002). No entanto, mais recentemente começaram a surgir estas preocupações com o declínio das populações de invertebrados (Sánchez-Bayo & Wyckhuys, 2019), que pode resultar numa distribuição geográfica mais restrita das espécies, podendo mesmo resultar no início da extinção das mesmas (Diamond, 1989). Vários estudos demonstram uma tendência de declínio superior nas populações de vários taxa de insetos do que de outros grupos taxonómicos durante as últimas décadas em diferentes continentes (Thomas, et al., 2004), o que pode resultar em efeitos de cascata em diversos ecossistemas simultaneamente (Sánchez-Bayo & Wyckhuys, 2019).

A biomonitorização é usualmente realizada com baixa resolução taxonómica, definida como aproximação taxonómica (*taxonomic surrogacy*) (Bertrand, Pleijel, & Rouse, 2006), e com suficiência taxonómica (*taxonomic sufficiency*) (Ellis, 1985), apesar de não existir um consenso relativo ao uso de ambos os conceitos (Heino, 2014). A aproximação taxonómica é usada com o intuito de descrever os padrões na distribuição das populações e as suas relações ecológicas (Pires, et al., 2021), considerando que uma baixa resolução taxonómica permite retratar os mesmos padrões que um nível de resolução taxonómica elevado (e.g., nível de espécie) (Bertrand, Pleijel, & Rouse, 2006). Por outro lado, a suficiência taxonómica é usada com o intuito de que a identificação de organismos segundo determinado nível taxonómico estipulado (pretendido) permite cumprir o objetivo do estudo (Ellis, 1985). Alguns fatores contribuíram para que sejam adotados estes conceitos, tais como o impedimento taxonómico (Terlizzi et al., 2009; Bevilacqua, et al., 2012), nomeadamente o conhecimento limitado de vários grupos de taxa em simultâneo com a falta de suporte (falta de taxonomistas especializados) na identificação por parte de ecólogos (Wheeler, Raven, & Wilson, 2004), assim como as limitações a nível monetário e de tempo, que uma identificação ao nível de espécie requer (Marshall, Steward, & Harch, 2006; Jones, 2008). Apesar de muitos estudos em ecologia e biomonitorização adotarem uma baixa resolução taxonómica (e.g., ordem, família ou género) também existem vários estudos que advogam o uso de uma identificação mais fina nomeadamente ao nível da espécie (Pires, et al., 2021), isto porque é necessário considerar que diferentes níveis taxonómicos podem não ser sempre ecologicamente similares, e que as respostas dos taxa aos impactos ambientais podem não ser uniformes (Bastos et al., 2021; Bevilacqua et al., 2012). Assim, a biomonitorização e as

estratégias de conservação baseiam-se em métricas taxonómicas com o intuito de informar sobre decisões de gestão, o que consequentemente promove a conservação de espécies mais persistentes (Margules & Pressey, 2000). No entanto, mais recentemente tem surgido a ideia de que também as métricas funcionais podem ser relevantes ao nível de priorização, baseando-se no facto de se verificar que existe complementaridade entre as componentes da biodiversidade (Kuczynski et al., 2018; Morelli et al., 2018).

### 1.3.1 **Importância dos Macroinvertebrados**

A nível histórico, as comunidades dos macroinvertebrados de água doce foram usadas como uma ferramenta robusta para determinar a saúde das comunidades selvagens presentes num dado local, principalmente no que diz respeito à poluição. Isto porque estes organismos não conseguem fugir dos locais em que a água se encontra poluída, ao contrário de outros organismos que pertencem aos elementos de qualidade biológica, como os peixes e aves que possuem uma maior capacidade de dispersão (Johnson, 2019). Os macroinvertebrados são organismos ubíquos, referindo-se o termo “macro” a organismos com uma dimensão superior a 500- $\mu\text{m}$ , o que permite que sejam capturados por uma rede, apesar de em determinados ciclos de vida possuírem diferentes dimensões (Hauer & Resh, 2006). Estes organismos possuem um papel relevante nos ecossistemas aquáticos, pois alimentam-se de diferentes tipos de recursos (como por exemplo: algas, detritos grosseiros e partículas finas de matéria orgânica), sendo considerados engenheiros dos ecossistemas (Mermillod-Blondin, 2011), servindo de alimento para organismos de níveis tróficos superiores (Covich, Palmer, & Crowl, 1999). Desta forma, estes organismos permitem uma transferência de matéria orgânica alóctone e autóctone ao longo das teias alimentares (Hauer & Resh, 2017). Estes organismos contribuem para diversos serviços dos ecossistemas, compondo diferentes grupos funcionais de alimentação (Gál et al., 2019).

O termo macroinvertebrado é uma designação não lineana, que se refere a um grupo extremamente diverso e maioritariamente bêntico, constituído na sua maioria por insetos aquáticos pertencentes ao filo artrópodes. No entanto incluem outros filós como moluscos, nemátodes, anelídeos e platelmintos, o que permite perceber a elevada riqueza taxonómica presente nos macroinvertebrados (Hauer & Resh, 2006; Belle, Stoeckle, & Geist, 2019). A maioria das populações de macroinvertebrados apresenta sazonalidade (Giulivo, et al., 2019), que também resulta do tipo de recursos que consomem (Figuerola, López-Rodríguez, & Villar-

Argaiz, 2019). Consequentemente, o tipo de alimento que se encontra acessível num dado rio define muitas vezes a predominância do tipo de grupo funcional alimentar presente (Graça et al., 2002).

Uma vez que as comunidades de macroinvertebrados bênticos incluem taxa específicas, que possuem diversos traços e histórias de vida, e apresentam diferentes graus de sensibilidade à alteração ambiental, têm sido amplamente utilizados em estudos de biomonitorização com o objetivo de identificar e quantificar a magnitude de distúrbios antropogénicos e os respetivos fatores de stress associados (Bonada et al., 2006).

#### 1.4 **Impacto antropogénico e agentes múltiplos de stress**

A degradação dos rios é causada por diversas pressões antropogénicas que compreendem um conjunto de fatores de stress, com origem na agricultura, na urbanização, ou nas mudanças climáticas. Estas pressões que tendem a aumentar afetam os padrões ecológicos e os processos ecológicos, havendo necessariamente uma ligação de causalidade entre o agente de stress e o efeito na comunidade biológica (Hering, et al., 2015; Gieswein, Hering, & Feld, 2017). No passado, a maioria dos estudos avaliava o efeito de agentes de stress (por exemplo: poluição orgânica e cheias) que apresentavam uma forte pressão sobre as comunidades biológicas, sem ter em conta que muitos destes agentes de stress atuam de forma simultânea e podem interagir. Realmente, os ecossistemas estão expostos a uma mistura complexa de agentes de stress composta por pressões hidrológicas, geomorfológicas, químicas, e de quebra de conectividade que impactam a biodiversidade, o funcionamento e, consequentemente, os serviços providenciados pelos ecossistemas aquáticos (Schinegger et al., 2012; Hering et al., 2015). Uma pressão antropogénica não é necessariamente o resultado da ação de um agente de stress, por exemplo, a poluição inorgânica é uma pressão antropogénica que pode resultar em diversos agentes de stress como a elevada concentração de amónia, nitrato, nitrito, entre outros. Desta forma, define-se um fator de stress como uma variável mensurável que ultrapassa o seu intervalo de variação normal, e que, consequentemente, afeta o indivíduo, a espécie, a composição da comunidade e o funcionamento do ecossistema, podendo ser de origem natural ou antropogénica (Matthaei, Piggott, & Townsend, Multiple stressors in agricultural streams: interactions among sediment addition, nutrient enrichment and water abstraction, 2010; Segner, Schmitt-Jansen, & Sabater, 2014; Côté, Darling, & Brown, 2016). Os fatores de stress possuem potencial para influenciar os processos evolutivos se as alterações das condições persistirem

(Parsons, 2005). De facto, os ecossistemas naturais encontram-se sob a pressão simultânea de agentes de stress múltiplos, que podem ter efeitos interativos ou aditivos, sendo este tema uma das questões emergentes em ecologia (Crain, Kroeker, & Halpern, 2008). Assim, os desafios passam por perceber a natureza dos múltiplos fatores de stress, os seus efeitos nos organismos, nas espécies, nas populações, nas comunidades e nos ecossistemas, de forma a identificar e priorizar objetivos de conservação e, conseqüentemente, identificar os possíveis efeitos de interação entre os agentes de stress (Ormerod et al., 2010).

A evidência atual aponta para que tanto a identificação do(s) fator(es) de stress como as características da resposta ecológica (considerando determinado nível de organização biológica) são necessárias para prever as interações entre agentes de stress múltiplos e os seus efeitos nos ecossistemas de água doce (Jackson et al., 2016). De forma a prever as interações entre agentes de stress, são usados modelos conceptuais com o intuito de descrever a forma e direção das interações dos agentes de stress, e que de forma comum se focam na quantificação e qualificação dos desvios em relação aos efeitos dos modelos aditivos (Piggott et al., 2015). Os efeitos aditivos são resultantes da combinação do efeito dos agentes de stress, sendo quantificados como a soma entre o efeito de cada agente de stress em isolado (Gunderson, Armstrong, & Stillman, 2016). Por sua vez, o efeito sinérgico resulta da combinação do efeito dos agentes de stress, quando este efeito combinado ultrapassa a soma dos efeitos individuais (aditivo) (Côté, Darling, & Brown, 2016). Quando as respostas ecológicas resultam num efeito inferior à soma dos efeitos individuais dos agentes de stress, denomina-se como um efeito antagonístico (Spears B. , et al., 2021).

Nos ecossistemas aquáticos parece haver uma dominância de efeitos antagonísticos, apesar da causalidade subjacente a esta observação ainda ser pouco conhecida (Jackson et al., 2016). O mesmo se verifica, quando consideramos métricas que quantificam o nível biológico de comunidade (Côté, Darling, & Brown, 2016). A ligação direta entre as alterações ambientais e as respostas das espécies, com recurso aos traços funcionais, permite compreender os mecanismos dos distúrbios. Onde, o uso da diversidade funcional permite que esta compreensão seja melhorada (quando comparamos com a diversidade taxonómica), sendo que também permite a compreensão de efeitos mais globais e relevantes, que ultrapassam escalas biogeográficas (Aspin, et al., 2019). Assim, tendo em conta que cada fator de stress atua como filtro de determinados traços ambientais (Poff, 1997) e que existe uma relação entre o ambiente e os traços funcionais, podemos compreender como é que cada fator de stress rege

determinado conjunto de traços funcionais (McGill et al., 2006). Os efeitos nos ecossistemas aquáticos não são apenas resultantes do meio aquático, isto porque estes ecossistemas são sistemas abertos e extremamente complexos (Segurado et al., 2018), o que implica ter em consideração que estes sistemas se encontram ligados aos ecossistemas circundantes, como as zonas ripárias, através de fluxos de energia laterais e longitudinais (Nakano & Murakami, 2001). Por conseguinte, está bem aceite a ideia de que o estabelecimento de uma zona tampão de vegetação ripária pode ser uma medida de mitigação para reduzir os efeitos de vários agentes de stress que atuam em simultâneo, como os resultantes da eutrofização e das alterações hidromorfológicas (Birk et al., 2020).

O próprio meio aquático enquanto elemento estrutural e de habitat é afetado pelas pressões antropogénicas e naturais, como a urbanização, a agricultura, as alterações climáticas e o aumento da população humana (Oki & Kanae, 2006). Por exemplo, o uso de água como recurso para o consumo humano, para a agricultura ou para a produção de energia pode produzir stress associado à captação e regulação da água dos rios, o que inevitavelmente causa uma alteração nos ecossistemas lóticos para regimes de caudal não naturais, com prováveis alterações da qualidade da água e com consequências para a comunidade biológica e para o funcionamento dos ecossistemas de rio (Sabater, et al., 2018). Outro impacto que estes ecossistemas estão sujeitos estão relacionados com as invasões biológicas por espécies exóticas, introduzidas de forma antropogénica e que associadas aos restantes agentes de stress produzem grandes alterações nas populações nativas e no funcionamento dos ecossistemas (Dudgeon, et al., 2006).

Tendo em conta que os ecossistemas lóticos possuem a maior proporção de biodiversidade em relação à área total que ocupam (Wiens, 2015), tem sido proposto que estes ecossistemas sejam usados como modelo para a compreensão dos mecanismos que explicam os efeitos dos agentes de stress na biodiversidade e nas funções ecológicas (Rolls, et al., 2018).

### **1.5 Objetivo e hipóteses**

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de agentes de stress múltiplos na diversidade taxonómica e funcional de macroinvertebrados bênticos em ecossistemas fluviais. O gradiente de stress foi definido por pressões antropogénicas e naturais. As pressões antropogénicas resultam da intensificação do uso do solo, o que consequentemente resulta na perda de vegetação ripária, aumento da eutrofização e alterações hidrológicas, que constituem

diferentes ameaças aos ecossistemas lóticos. Assim, colocámos as hipóteses de que: (1) os agentes de stress de origem natural e antropogénica levassem à perda de biodiversidade (diversidade funcional e taxonómica); (2) a ação de agentes múltiplos de stress resultasse em efeitos antagonísticos, uma vez que estes são frequentemente observados nos ecossistemas aquáticos (Jackson, et al., 2016) quando se consideram os efeitos ao nível de comunidade (Côté, Darling, & Brown, 2016); (3) a diversidade funcional fosse mais sensível à maioria dos agentes de stress do que a taxonómica, uma vez que tem em consideração a identidade das espécies, assim como as suas diferenças ecológicas (Cisneros, Fagan, & Willig, 2015); e (4) os agentes de stress afetassem de forma diferente os traços funcionais, uma vez que os traços funcionais permitem identificar as diferenças entre perfil de traços das espécies (Chao, Chiu, & Jost, 2014), o que conseqüentemente permite esclarecer sobre os mecanismos subjacentes à coexistência das espécies ao nível da comunidade (Cadotte, Carscadden, & Mirotnick, 2011).

## 2. **Materiais e métodos**

### 2.1 **Área de estudo**

A área de estudo abrange três bacias hidrográficas do Norte de Portugal: a bacia do Lima, a do Cávado e a do Ave. Nestas bacias foi realizada uma amostragem em 50 locais no âmbito do projeto STREAMECO. Os locais foram selecionados com o objetivo de caracterizar um amplo gradiente de pressões ambientais que atuam sobre estas bacias, procurando caracterizar os agentes de stress (a priori presentes) associados à intensificação do uso do solo como são o caso do aumento dos nutrientes, variações hidrológicas e perda da vegetação ripária.

O rio Lima nasce na Serra de S. Mamede, desagua em Viana do Castelo no Oceano Atlântico, e possui uma extensão de 108 km. Este rio nasce a 950 metros de altitude, sendo a sua bacia repartida entre Espanha e Portugal, tendo o território português 46% da mesma, o que representa 1 140 km<sup>2</sup> de área (Agência Portuguesa do Ambiente, 2015). A precipitação média anual nesta área varia entre 1 300 e 4 200 mm, o que contribui para a elevada diversidade de vegetação ripária (Agência Portuguesa do Ambiente, 2015).

O rio Cávado nasce na Serra do Larouco e flui para o concelho de Esposende onde desagua. Assim, a bacia hidrográfica possui 1 699 km<sup>2</sup> de área, e a extensão do rio é de 129 km. Esta área possui uma precipitação média anual que varia entre 900 e 4 200 mm. Esta bacia apresenta uma degradação ecológica moderada, evidenciada nos setores mais a jusante, no entanto ainda é possível encontrar locais em situações quase pristinas, como são o caso dos rios Homem e Cávado que consequentemente apresentam uma elevada riqueza de vegetação ripária (Agência Portuguesa do Ambiente, 2016).

O rio Ave nasce na Serra da Cabreira e desagua no concelho de Vila de Conde. Esta bacia possui 1 391 km<sup>2</sup> de área, possuindo o rio 85 km de extensão. Por sua vez, esta área possui entre 900 e 3 900 mm de precipitação média anual. Efetivamente, esta é a bacia com menor riqueza, resultante das pressões antropogénicas que resultam na degradação da vegetação ripária e em alterações do canal (Agência Portuguesa do Ambiente, 2016). A bacia hidrográfica do rio Ave é a que apresenta a maior pressão humana, quer a nível nacional, como também se verifica o mesmo a nível europeu, sendo por isso, o rio Ave considerado um dos rios mais poluídos da Europa (Soares et al., 1999).

A nível de clima, Portugal encontra-se no limite inferior da faixa que delimita os climas temperados. Apesar da sua reduzida área geográfica, apresenta um território muito contrastante a nível climático, que resulta em gradientes de algumas variáveis climáticas (precipitação e radiação solar). Neste sentido, tanto a precipitação como a radiação solar, variam de noroeste para sudeste, onde a radiação solar associada a outros fatores resulta na variação da temperatura que se verifica no território continental. Em Portugal Continental, o clima é influenciado pela latitude, orografia e a proximidade ao Oceano Atlântico (Alcoforado, 1991). A área de estudo encontra-se associada à zona Noroeste de Portugal Continental, coincidindo com a área que regista a maior pluviosidade e uma das menores quantidades de radiação solar, sendo que a reduzida radiação solar resulta numa das áreas com menor temperatura a nível nacional. Estas bacias hidrográficas apresentam formações geológicas que resultam de afloramentos graníticos, o que caracteriza estes locais pela reduzida quantidade de sais dissolvidos na água (Agência Portuguesa do Ambiente, 2016).

Na Figura 2, apresentamos a área de estudo e os locais onde foram realizadas as amostragens. A Figura 2 apresenta os locais categorizados com a riqueza. Na Figura 2a é apresentada uma imagem mais aproximada dos locais de amostragem com a mesma categorização a cores da riqueza. Na Figura 2b é apresentada a imagem mais aproximada, mas com os locais categorizados com o índice BMWP. Na Figura 2c é apresentada a imagem mais aproximada, mas com a categorização dos locais com recurso a um índice de intensificação do uso do solo.

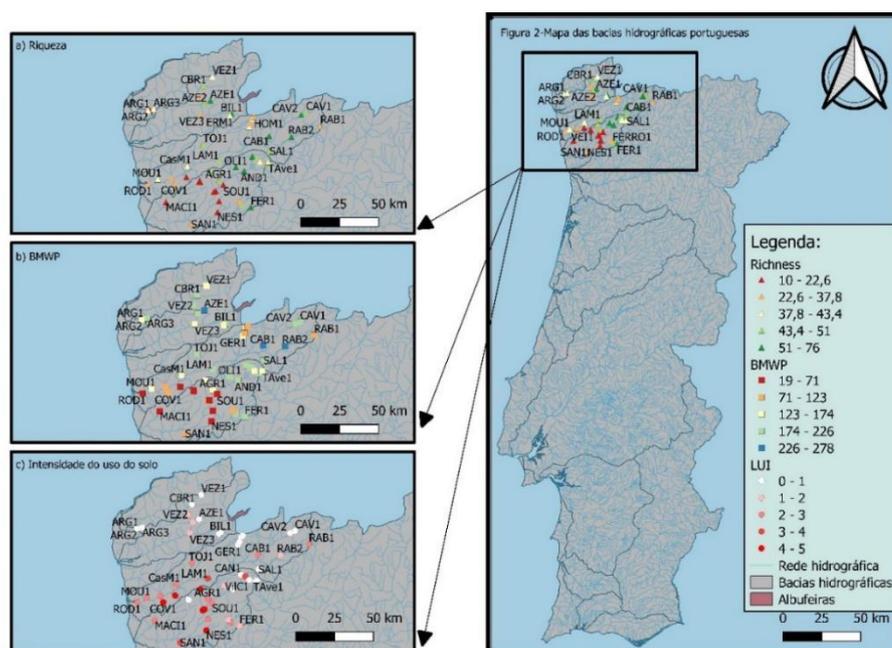


Figura 2 - Área de estudo. a) Riqueza de macroinvertebrados, b) Índice BMWP, c) Índice de intensificação do uso do solo. Os locais foram categorizados com recurso a dois índices de diversidade relativos à comunidade de macroinvertebrados (riqueza e BMWP) e um índice de intensificação do uso do solo (LUI) (Fonte: Atlas do Ambiente Digital - IA, 2021).

## 2.2 **Amostragem**

### 2.2.1 **Macroinvertebrados**

Os macroinvertebrados foram recolhidos de forma sistemática. O período de recolha decorreu de setembro a outubro de 2020. Para a recolha seguiu-se o protocolo do INAG, 2008, sendo a mesma realizada com uma rede de mão de 500 µm, e aplicando-se a técnica de amostragem “kick sampling”. O material recolhido foi armazenado em frascos de plástico, onde foi adicionado álcool 96°C para preservar a amostra, que foi posteriormente selada e rotulada. Após a recolha dos pontos totais da área de estudo, procedeu-se à fase de processamento laboratorial, que inclui a fase de triagem e identificação. Durante a triagem, realizou-se uma lavagem da amostra com recurso a água corrente e a um crivo de 500 µm. Por fim, realizou-se a identificação com recurso a uma lupa binocular. A identificação foi realizada com recurso à chave de identificação de Tachet et al., 2010, sendo a mesma realizada com a maior resolução possível.

### 2.2.2 **Variáveis ambientais abióticas e bióticas**

Durante o período de recolha de macroinvertebrados também foram caracterizadas algumas variáveis ambientais (in situ). No total foram quantificadas 25 variáveis ambientais, que foram reagrupadas nas categorias que se podem visualizar na Tabela 1. Essas categorias correspondem a variáveis geográficas, de uso do solo, de vegetação ripária, de habitat fluvial, hidrológicas e físico-químicas. Estas variáveis foram caracterizadas com o intuito de identificar os gradientes de pressões ambientais, sendo como tal relevantes do ponto de vista ecológico. Para além dos grupos de variáveis, na Tabela 1 é possível visualizar as variáveis ambientais que foram caracterizadas, assim como as metodologias e protocolos seguidos.

Tabela 1 - Variáveis ambientais caracterizadas em cada local de amostragem

<b>Grupo</b>	<b>Variável</b>	<b>Metodologia</b>	<b>Referência</b>
Geográfica	Latitude e Longitude	Google Maps e QGis	Qgis 3.10.1
	Inclinação e Altitude	Modelos Digitais de Elevação e Q GIS	Qgis 3.10.1
Uso do Solo	% Agricultura, % Pastorícia, % Natural e % Artificial (500 m)	Carta de uso do solo	Feld, 2004/Qgis 3.10.1
	Intensidade do Uso do Solo	Índice de uso do solo	Feld, 2004

		(LUI)	
Vegetação Ripária	QBR	Qualidade Bosque Ribeirinho	Munné et al., 2003
	Sombra	% de área com sombra (estimativa visual)	
	“Buffer”	Média da largura da faixa de vegetação (Google Maps e QGis)	
Habitat fluvial	IHF	Índice Habitat Fluvial	Pardo et al., 2002
Hidrológicas	Profundidade média e Largura	m	Gordon et al., 2004
	Velocidade Média	Valeport Electromagnetic Flow Meter-Model 801	Gordon et al., 2004
	Caudal	Q= área x velocidade média	Gordon et al., 2004
Físico-Química	Carência Química de Oxigénio, Azoto Inorgânico Dissolvido e Fósforo	Espetrofotometria	APHA, 2017
	pH e Condutividade	WTW- Multi 340i (sonda multiparamétrica)	
	Temperatura Máxima e Oxigénio Dissolvido Mínimo	PME-miniDo2T Logger	
	Radiação solar média	Onset- HOBO UA-002-64 Data Logger, Pendant Temperature/Light	

As variáveis geográficas foram calculadas com recurso ao software QGIS 3.10.1 “A Coruña” (QGIS.org, 2021). Para o cálculo da latitude e longitude, utilizou-se o plugin HCMGIS. A inclinação e altitude foram calculadas com recurso a modelos digitais de elevação do terreno, usando ferramentas pertencentes ao QGIS. No que diz respeito ao grupo de variáveis correspondentes ao uso do solo, a análise de uso do solo foi realizada a partir dos dados da carta de uso e ocupação do solo (COS 2018), sendo esta carta o mapa oficial para Portugal continental (Direção-Geral do Território – DGT, disponível em <http://www.dgterritorio.gov.pt>). O COS é um mapa vetorial com unidades mínimas cartográfica de um hectare, que permite obter uma elevada precisão ao nível espacial e temático, seguindo as políticas globais e europeias relacionadas com padronizações e qualidade de dados geográficos (Costa et al., 2018). Assim, calcularam-se as áreas de agricultura, natural, artificial e pastorícia, com base na percentagem relativa da ocupação referente a uma área de 500 metros ao redor do ponto de amostragem. O índice de uso do solo foi quantificado usando a seguinte fórmula  $LUI = (\% \text{ Artificial} * 5) + (\% \text{ Agricultura} * 3) + (\% \text{ Pastorícia})$ , proposta por Feld, 2004. O grupo de variáveis correspondente à

caracterização da vegetação ripária inclui o índice de qualidade da vegetação ripária (QBR), que foi quantificado seguindo a metodologia proposta por Munné et al., (2003). A percentagem de sombra foi calculada através de uma estimativa visual da área de sombra no ponto de amostragem, e a largura da vegetação ribeirinha (Buffer) foi calculada como a média da largura das faixas de vegetação das margens, com recurso ao QGIS e ao plugin HCMGIS. De forma a caracterizar o habitat fluvial presente em cada local, foi quantificado o índice de habitat fluvial (IHF), seguindo a metodologia proposta por (Pardo, et al., 2002). As variáveis hidrológicas foram quantificadas seguindo a metodologia proposta por Gordon et al. (2004). Assim, a largura e a profundidade foram calculadas com recurso a uma fita métrica. A velocidade média foi calculada com recurso a um medidor de corrente (Valeport Electromagnetic Flow Meter-Model 801). Para cada local de amostragem foram estimadas 5 medidas de profundidade e velocidade num transecto longitudinal (margem a margem). Estas medidas foram usadas para o cálculo posterior da largura total do espelho de água do respetivo transecto. Assim, o caudal foi calculado através da seguinte fórmula:

$$Q = V * A$$

Onde V= velocidade média; A= área de secção obtida a partir da área resultante entre o produto da profundidade e da largura.

Relativamente às variáveis físico-químicas, os nutrientes (azoto inorgânico dissolvido, carência química de oxigênio e o fosfato) foram calculados com recurso a um kit de espectrometria, seguindo a metodologia proposta por (A.P.H.A., A.W.W.A., & W.E.F, 2017). A condutividade e o pH foram calculados com recurso a uma sonda multiparamétrica (WTW- Multi 340i) nos locais de amostragem. A temperatura máxima e o oxigênio dissolvido mínimo foram obtidos a partir de um MiniDot (PME-miniDo<sub>2</sub>T Logger), durante o período de registo de 24 horas. A radiação solar média foi quantificada com recurso a um data logger (Onset- HOBO UA-002-64 Data Logger, Pendant Temperature/Light), durante o período de um mês.

### 2.3 **Análise de dados**

Todas as análises estatísticas foram realizadas no software R versão 4.1.1 (RStudio Team, 2021) como descrito abaixo.

### 2.3.1 **Estrutura da comunidade, traços e métricas de diversidade**

Numa fase inicial realizou-se uma análise da estrutura da comunidade de macroinvertebrados, de forma a identificar a existência e amplitude de gradientes de stress, com base nas diferenças entre a composição taxonómica das comunidades dos locais de amostragem. Para isso, foram calculadas as distâncias entre os perfis faunísticos dos locais usando o índice de dissimilaridade de Bray-Curtis com os dados logaritimizadas ( $\log(x+1)$ ) (package Vegan) (Oksanen, et al., 2020). Seguiu-se uma análise hierárquica, com o intuito de visualizar a organização dos locais em função do grau de similaridade das comunidades de macroinvertebrados. Posteriormente, determinou-se o número ideal de grupos, sendo a escolha baseada em dados estatísticos (soma dos quadrados dos resíduos), conhecimento *a priori* dos locais e reduzido número de grupos (de forma a reduzir a complexidade associada à interpretação dos resultados). Após a definição do número de grupos, realizou-se uma análise exploratória da comunidade, com recurso à técnica de ordenação *Detrended Correspondence Analysis* (DCA), sendo que os pontos da análise de ordenação foram categorizados com os grupos resultantes da análise hierárquica. Na DCA foi verificada a variância explicada pelos eixos. Posteriormente, foi calculado o índice biótico *Iberian Biological Monitoring Working Party* (IBMWP), seguindo a metodologia e a tabela de sensibilidade das famílias à poluição, adaptada para a Península Ibérica, proposta por Alba-Tercedor & Sánchez-Ortega, 1988. Após o cálculo do IBMWP, foi comparada a riqueza taxonómica e o valor obtido do índice biótico IBMWP entre os grupos de locais formados a partir da análise hierárquica, com recurso ao teste de Tukey HSD (package agricolae) (Mendiburu, 2021). Posteriormente, calcularam-se métricas de diversidade taxonómica como a riqueza, o índice de Shannon e o número de Hill de Shannon. A riqueza e o índice de Shannon foram calculados usando a matriz taxonómica e o package Vegan. O Hill de Shannon foi calculado a partir do índice de Shannon, com recurso ao package hillR (Li D. , 2021).

De forma a quantificar as métricas relativas à diversidade funcional, realizou-se uma análise dos traços funcionais da comunidade. Esta análise consistiu na criação do espaço multidimensional funcional. Para a criação do espaço multidimensional funcional importaram-se os dados de identificação da comunidade e a matriz de traços funcionais de Múrrria et al. (2020). Foi usado o package ade4 para o cálculo da distância entre os traços funcionais, sendo a mesma uma adaptação da distância de Gower (Dray, et al., 2021). Posteriormente, foi estimado o número ótimo de dimensões com uma versão simplificada do anexo S1 de Maire et al. (2015).

Após a seleção do número de dimensões foi criado o espaço funcional com recurso ao package Vegan, realizando-se uma análise de coordenadas principais (PCoA). Verificou-se a variância explicada resultante do número de dimensões selecionadas. Seguidamente, verificou-se a correlação entre os eixos principais (1,2 e 3) do espaço funcional e os traços funcionais. Para a criação dos grupos funcionais seguiu-se a mesma metodologia da análise da estrutura da comunidade, onde foi realizada uma hierarquização que serviu para selecionar o número de grupos. Mais uma vez, esta seleção baseou-se em métodos estatísticos, conhecimento dos taxa, e teve como intuito reduzir a complexidade associada (seleccionando um número reduzido de grupos). De seguida, sobrepuseram-se os grupos funcionais dos taxa no espaço multidimensional. Posteriormente calcularam-se os traços médios para cada grupo funcional, de forma a caracterizar os diferentes grupos funcionais. Numa fase final, usou-se o espaço multidimensional, e a matriz de abundância para calcular as métricas funcionais. Tanto a riqueza funcional (FRic), como a dispersão funcional (FDis), foram calculadas usando funções adaptadas do package FD (Laliberté & Legendre, 2010).

No fim, verificaram-se as correlações entre as métricas de diversidade (funcionais e taxonómicas) com recurso ao método de Pearson, de forma a identificar métricas correlacionadas entre componentes de diversidade.

### **2.3.2 Modelos múltiplos de diversidade e resposta a agentes de stress**

Numa fase inicial, foram identificados os agentes de stress para identificar as variáveis ambientais mais representativas. Usou-se o coeficiente de correlação de Pearson de forma a averiguar quais as variáveis ambientais que possuem uma relação com as métricas de diversidade e quais as variáveis ambientais que apresentam multicolinearidade. Assim, seleccionaram-se as variáveis ambientais que possuíam as maiores correlações ( $> 0,45$ , independentemente do sentido da correlação) com as métricas de diversidade, e as que possuíam relevância ecológica, procurando seleccionar variáveis que representem diferentes categorias de agentes de stress.

De forma a seleccionar os agentes de stress que foram incluídos nos modelos de regressão linear, consideraram-se os fatores de inflação da variância entre as variáveis ambientais pré-seleccionadas (com recurso ao package usdm). Assim, de forma a evitar multicolinearidade, removeram-se as variáveis ambientais com  $VIF > 2$  (Zuur et al., 2009), levando assim à determinação dos agentes de stress.

Numa segunda fase, foram realizados modelos de regressão linear, considerando uma abordagem de modelos múltiplos (Burnham & Anderson, 2002). Esta análise foi realizada com o intuito de identificar a importância dos agentes de stress nas respostas das métricas de diversidade. Usou-se a função dredge () do package MuMIn (Barton, 2020), para testar 64 modelos diferentes para cada métrica de diversidade, considerando todas as combinações possíveis entre preditores. Os modelos foram classificados com base na segunda ordem do critério de informação de Akaike, utilizado para pequenas amostras. Os modelos com um  $\Delta AICc \leq 2$  foram retidos. Para este conjunto de modelos (melhores modelos) foi realizada a partição da variância para cada preditor, considerando o peso médio do conjunto de melhores modelos (Hoffman & Schadt, 2016). Devido ao facto das métricas da biodiversidade possuírem diferentes valores de variância explicada, as métricas foram estandardizadas para comparação visual.

Após a identificação dos 3 agentes de stress que possuíam a maior importância na resposta das métricas de diversidade, realizaram-se modelos preditivos para cada agente de stress, considerando o peso médio resultante dos melhores modelos, com o intuito de identificar a resposta das métricas de diversidade a agentes de stress únicos. Estes modelos preditivos foram realizados com a função predict () do package Vegan e ade4. Após a visualização das respostas dos agentes de stress únicos, foram realizados modelos preditivos considerando o peso médio dos melhores modelos, com o intuito de visualizar o efeito resultante das combinações duplas e triplas entre os agentes de stress seleccionados.

### 3. **Resultados**

#### 3.1 **Estrutura da comunidade e traços dos macroinvertebrados bênticos**

Foram identificados um total de 107190 macroinvertebrados bênticos na área de estudo composta por 50 locais de amostragem em três bacias hidrográficas do norte de Portugal. Na Tabela 2 encontra-se resumida a informação resultante da etapa de identificação. Na bacia do rio Ave foram identificados 53988 indivíduos, na bacia do rio Cávado 30954 indivíduos e na bacia do rio Lima identificados 22248 indivíduos. No total foram identificados 172 taxa pertencentes a 8 classes, 19 ordens, 86 famílias, 152 géneros e 23 espécies. As classes identificadas foram Arachnida, Bivalvia, Clitellata, Gastropoda, Insecta, Malacostraca, Oligochaeta, Rhabditophora.

Tabela 2 - Resumo dos resultados da identificação de macroinvertebrados bênticos nos 50 locais de amostragem nas bacias dos rios Ave, Cávado e Lima no norte de Portugal.

Nº de Locais	Bacias	Nº de indivíduos identificados	Nº de Classes	Nº de Ordens	Nº de Famílias	Nº de Subfamílias	Nº de Géneros	Nº de Taxa
21	Ave	53988	8	16	75	23	115	131
20	Cávado	30954	8	16	79	26	131	147
9	Lima	22248	7	13	60	21	99	113
50	Total	107190	8	18	84	31	152	172

A ordenação DCA discriminou os locais de amostragem em função das comunidades de macroinvertebrados ao longo do eixo 1 e 2, que explicaram 26,22 % e 12,52 % da variância total, respetivamente, num total de 38,74 % da variância explicada pelos dois eixos principais (Fig 3). A ordenação DCA permitiu a separação em seis grupos, quatro dos quais (grupos 1,3,4 e 6) contendo comunidades com composição taxonómica mais semelhante. Por outro lado, os grupos 2 e 5 apresentam uma maior dispersão dos pontos, indicando que estes grupos representam os locais com comunidades mais diferentes entre si (indicativo da substituição de espécies).

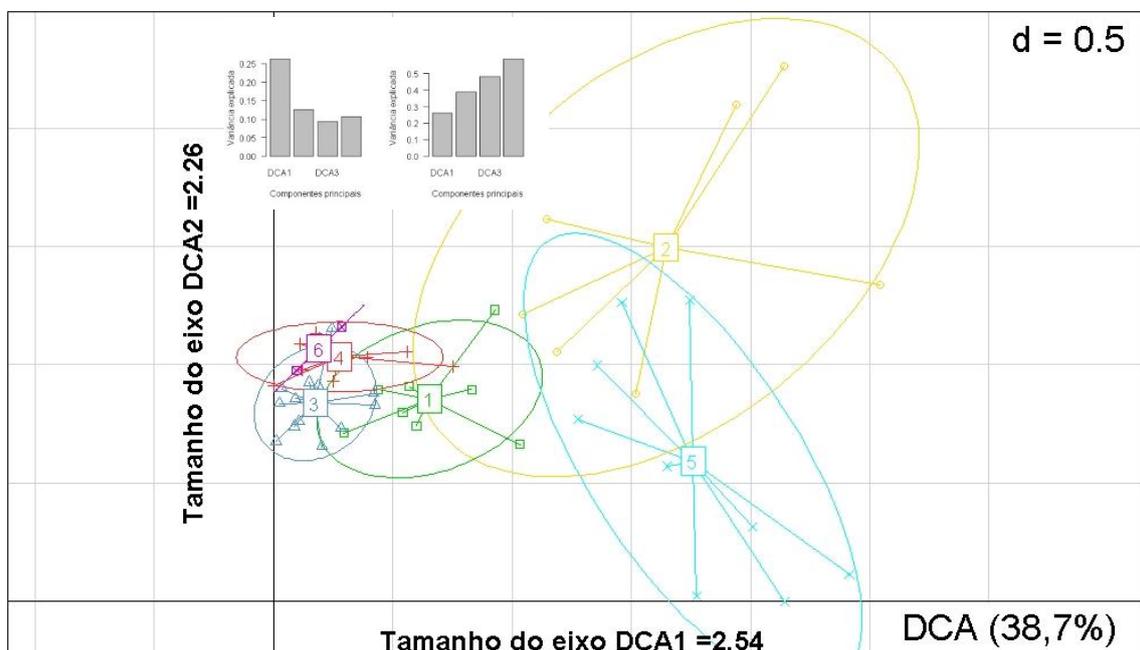


Figura 3 - Estrutura da comunidade de macroinvertebrados representada através de uma ordenação com recurso à técnica de ordenação DCA. As elipses sobrepostas correspondem aos grupos formados pela análise hierárquica dos locais da área de estudo, composta pelas bacias hidrográficas dos rios Ave, Cávado e Lima. No topo é possível observar a variância explicada por cada eixo, e a variância cumulativa dos mesmos. Os eixos estão identificados com os vetores correspondentes, assim como é indicada a dimensão dos dois vetores principais, que representa a substituição dos taxa.

A análise da riqueza taxonómica (Fig 4a) permitiu interpretar os resultados da DCA, que agrupou os locais com maior diversidade (Grupos 1,3 e 4), e separou os locais com menor diversidade (Grupos 2 e 5). O resultado do índice biótico IBMWP foi muito semelhante ao da riqueza, sendo que a análise do IBMWP também permitiu separar os locais nos mesmos 2 grupos: os locais com melhor qualidade de água e consequentemente maior IBMWP, que são incluídos nos grupos 1, 3 e 4 da DCA, e que são classificados como classe 1 (águas muito limpas; representados a azul na Fig 4b); e os locais com uma qualidade de água variável, desde rios classificados como classe 4 (águas muito contaminadas; e.g., TAVE2 e VEI1), a rios classificados como classe 1 (águas não alteradas de forma significativa; e.g., HOM1,VIZ1) incorporando nos grupos 2, 5 e 6 da DCA, e que se encontram representados na figura 4b a verde. Torna-se importante realçar que o grupo 6 é composto por dois locais, com comunidades associadas a condições oligotróficas, o que pode justificar a pouca diversidade e consequente valor mais baixo de IBMWP (e.g., HOM1).

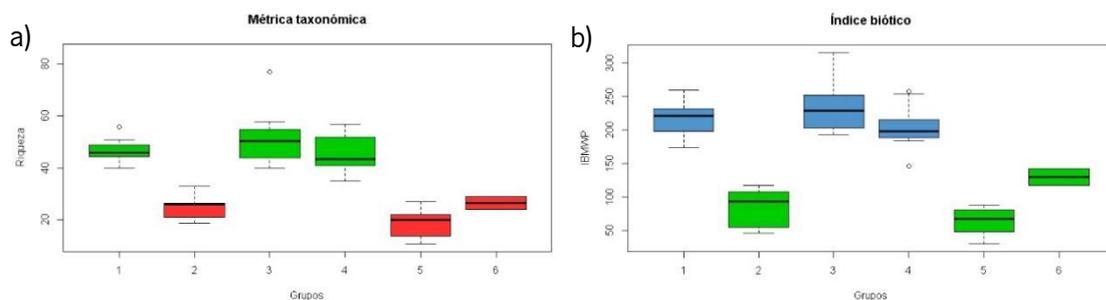


Figura 4 - a) Box plot da riqueza em função dos grupos da DCA, com as cores a representar os grupos discriminados pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), b) Box plot do índice IBMWP em função dos grupos da DCA, com as cores a representar os grupos discriminados pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Os valores dos testes de Tukey apresentam-se no Anexo A

Na Tabela 3 é possível observar o número de rios correspondente a cada classe de qualidade, considerando o significado dos valores de IBMWP (Alba-Tercedor & Sánchez-Ortega, 1988). Podemos observar que os nossos locais de amostragem retratam 5 classes de qualidade de água. O maior número de locais de amostragem da área de estudo correspondem à classe I (33 locais). Os restantes locais dividem-se pelas restantes classes, sendo que não existe nenhum local que retrate a classe V.

Tabela 3 – Quantidade de rios por classe (classificados usando o IBMWP para os macroinvertebrados).

Nº de Rios	Classe	Valor (IBMWP)	Significado	Simbologia
33	I	>120	Águas muito limpas	
4	I	101-120	Águas não contaminadas ou não alteradas de forma significativa	
7	II	61-100	Águas pouco contaminadas	
4	III	36-60	Águas contaminadas	
2	IV	16-35	Águas muito contaminadas	
0	V	<16	Água fortemente contaminadas	

No que diz respeito aos traços funcionais, resultaram 10 dimensões. Este número ótimo de dimensões resultou na construção do espaço multidimensional funcional, que explica 70,91% da variância. Os eixos principais (1,2 e 3) que resultam na visualização dos grupos funcionais da Figura 5 apresentam 15%, 10% e 9% da variância explicada, respetivamente. As variáveis que estão correlacionadas com o vetor 1 são a duração do ciclo de vida curto e longo, o tipo de hábito alimentar predador, a fase aquática de ninfa, o tamanho máximo entre 0,5 e 1 cm, e o tipo de respiração pelo tegumento. O vetor 2 possui uma maior correlação com o tamanho máximo entre 0,25 e 0,5 cm, sem forma de resistência, com o tipo de locomoção voadora, com o tipo de respiração por brânquias e com o tipo de reprodução fixa, cimentada e em grupo. O vetor 3 possui correlações com organismos sem forma de resistência, com brânquias e com o tipo de locomoção rastejante. A tabela de correlações (método de Pearson) entre os traços funcionais e os eixos resultantes da análise multivariada (PCoA) é apresentada em anexo (Anexo B). Na Figura 5a podemos observar a análise hierárquica com os taxa representados com as cores que correspondem a diferentes grupos funcionais. Esta análise serviu de base à seleção do número de grupos funcionais que se encontram representados nas restantes figuras (Fig 5b, c, d). Na Figura 5b é possível observar a distribuição dos grupos funcionais representado pelos eixos 1 e 2. Nas restantes figuras (Fig 5c e Fig 5d é possível observar as mudanças da distribuição dos grupos funcionais, resultante dos diferentes eixos visualizados (eixo 1 e 3 no caso da Fig 5c, e eixo 2 e 3 no caso da Fig 5d).

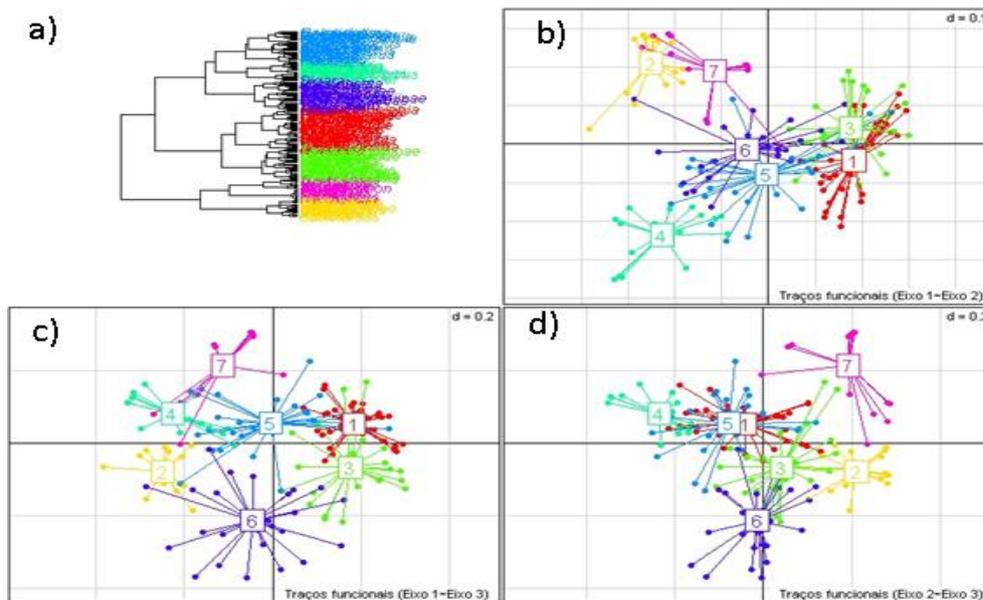


Figura 5 - Visualização dos grupos funcionais da comunidade de macroinvertebrados bênticos. a) Análise hierárquica dos grupos funcionais com base nos traços funcionais da comunidade, b) Distribuição dos grupos funcionais no espaço funcional (PCoA), representado a 2 dimensões, com recurso aos eixos 1 e 2, c) Representação dos grupos funcionais, num plano bidimensional, com recurso aos eixos 1 e 3, d) Representação dos grupos funcionais, num plano bidimensional, com recurso aos eixos 2 e 3.

Na Tabela 4 são apresentados os grupos funcionais, assim como os taxa e as respetivas características biológicas que compõe esses grupos. Desta forma podemos perceber que há traços que são muito frequentes e comuns aos vários grupos, como o caso do ciclo de vida (maior e inferior a um ano), o número de gerações por ano, não possuírem formas de resistência e o tipo de locomoção rastejante. Por outro lado existem traços que são específicos de determinados grupos, como são o caso do tamanho máximo entre 0,5 e 1 cm (grupo funcional 1), o tamanho máximo entre 0,25 e 0,5 cm (grupo funcional 7), possuir menos de uma geração por ano (grupo funcional 4), a fase aquática do tipo larva (grupo funcional 4), o tipo de reprodução ser fixa, cimentada e em grupo (grupos funcionais 1,2 e 3), o tipo de respiração por tegumento (grupos funcionais 3 e 5), o tipo de respiração por brânquias (grupo funcional 4), o tipo de respiração aérea por espiráculo (grupos funcionais 2 e 6), a forma de dispersão ser aérea ativa (grupo funcional 2), e possuir o hábito alimentar do tipo predador (grupos funcionais 2 e 4).

Tabela 4 - Grupos funcionais obtidos e respectivas características biológicas.

Grupos funcionais	Características predominantes dos organismos	Exemplo de taxa presentes
1	Tamanho entre 0,5 a 1 cm, ciclo de vida inferior a 1 ano, uma geração por ano, reprodução fixa, cimentada e em grupos, sem forma de resistência, com locomoção do tipo rastejante	Protonemura, Leuctra, Caenis, Lepidostoma, Mesophylax
2	Ciclo de reprodução superior a um ano, com uma geração por ano, com tipo de reprodução fixa, cimentada e em grupos, sem forma de resistência, com respiração aérea por espiráculo, com uma dispersão aérea ativa, com hábito alimentar de predador	Dytiscus, Meladema, Agabus, Hydrovatus, Deronectes
3	Ciclo de vida inferior a 1 ano, tipo de reprodução fixa, cimentada e em grupo, sem tipo de resistência, com o tipo de respiração por tegumento	Oxyethira, Thremma, Psychomyia, Lype, Hydroptila
4	Ciclo de vida superior a 1 ano, com quase uma geração por ano, com fase aquática do tipo larva, com respiração por brânquias, com locomoção do tipo rastejante, com hábito alimentar do tipo predador	Perla, Ephemera, Boyeria, Sialis, Cordulegaster, Anax
5	Uma geração por ano, com respiração pelo tegumento, com locomoção do tipo rastejante	Asellus, Isoperla, Pisidium, Gammarus, Helobdella, Dina
6	Ciclo de vida inferior a 1 ano, com uma geração por ano, com respiração aérea por espiráculo	Oligochaeta, Sigara, Gerris, Tabanidae, Hexatomini, Eriopterini
7	Com tamanho entre 0,25 e 0,5 cm, com um ciclo de vida superior a 1 ano, com uma geração por ano, sem forma de resistência, com tipo de locomoção rastejante	Elodes, Scirtes, Normandia, Hydraena, Oulimnius, Esolus

O grupo 1 é composto por taxa maioritariamente da ordem Plecoptera e Trichoptera. O grupo 2 é maioritariamente composto por taxa da família Dytiscidae (Coleoptera). O grupo 3 é maioritariamente composto por Trichoptera. O grupo 4 é composto maioritariamente por Ephemeroptera e Odonata. Os grupos 5 e 6 são compostos por taxa muito diversos (Oligochaeta, Bivalvia, etc.). O grupo 7 é composto maioritariamente pela ordem Coleoptera, família Elmidae.

Na Tabela 5 é apresentada a tabela com as correlações entre as métricas de diversidade. A dispersão funcional é a métrica que possui as menores correlações ( $r = 0,34$ ,  $0,43$  e  $0,69$  com riqueza funcional, riqueza e Hill Shannon, respetivamente). As restantes métricas de diversidade apresentam correlações elevadas entre si, com  $r$  a variar entre  $0,76$  e  $0,96$ . A

riqueza funcional apresenta uma elevada correlação com a riqueza taxonómica (0,92). As métricas funcionais (riqueza funcional e dispersão funcional) apresentam correlação baixa.

*Tabela 5 - Correlação entre métricas de diversidade taxonómica (riqueza, Índice de diversidade de Shannon, número de Hill de Shannon) e métricas de diversidade funcional (riqueza funcional e dispersão funcional)*

Pearson	Riqueza	Shannon	Hill Shannon	FRic	FDis
Riqueza	1	0,78	0,76	0,92	0,43
Shannon	0,78	1	0,96	0,70	0,68
Hill Shannon	0,76	0,96	1	0,70	0,69
FRic	0,92	0,70	0,70	1	0,34
FDis	0,43	0,68	0,69	0,34	1

### 3.2 **Resposta da biodiversidade a agentes de stress múltiplos**

As correlações entre as variáveis ambientais quantificadas no nosso estudo e as métricas de diversidade apresentam-se no Anexo C. Na Tabela 6 é apresentado um resumo com as variáveis selecionadas como agentes de stress. A variável azoto inorgânico dissolvido (DIN) foi a que apresentou maior correlação com as métricas de diversidade (exceto a FDis). A velocidade média foi a única variável que apresentou correlação com a dispersão funcional. A concentração mínima de oxigénio dissolvido (DOmin) foi selecionada como agente de stress para as análises posteriores porque apresentava correlações elevadas com as métricas de diversidade. A sombra foi selecionada porque representa uma diferente tipologia de variável, neste caso relacionada com a vegetação ripária. A temperatura máxima (Tmax) foi selecionada por ser uma variável que representa uma diferente tipologia de agente de stress. Apesar de na tabela de correlações (Anexo C) o oxigénio dissolvido mínimo e a temperatura máxima apresentarem uma elevada colineariedade, quando foi verificado o fator de inflação da variância entre os 5 agentes de stress selecionados, verificou-se que não existia colineariedade entre os agentes de stress pelo que se mantiveram ambas as variáveis nas análises subseqüentes.

*Tabela 6 – Variáveis selecionadas representativas de cada tipo de pressão*

Tipo de pressão	Variável	Motivo da seleção
Eutrofização	Azoto Inorgânico Dissolvido (DIN)	Correlação elevada com a diversidade e análise de colineariedade
Hidrológica	Velocidade média	
Vegetação Ripária	Sombra	
Geoclimática	Temperatura Máxima (TMax)	
Hidrológica/ Eutrofização	Oxigénio Dissolvido Mínimo (DOmin)	

### 3.2.1 Resposta da diversidade taxonómica aos agentes de stress

Na Figura 6 é possível observar a resposta da riqueza taxonómica a agentes de stress individuais, considerando o valor médio dos restantes agentes de stress. Podemos assim observar que a riqueza diminuía com o aumento da concentração de azoto inorgânico dissolvido (Fig 7a) e com a diminuição de oxigénio dissolvido mínimo (Fig 7c). Por outro lado, a riqueza apresentava uma resposta à temperatura máxima em forma de sino (função quadrática) (Fig 7b). Assim, a riqueza apresentava valores máximos para valores intermédios de temperatura máxima, e estes valores foram diminuindo a partir do valor intermédios até aos valores mínimos e máximos da temperatura.

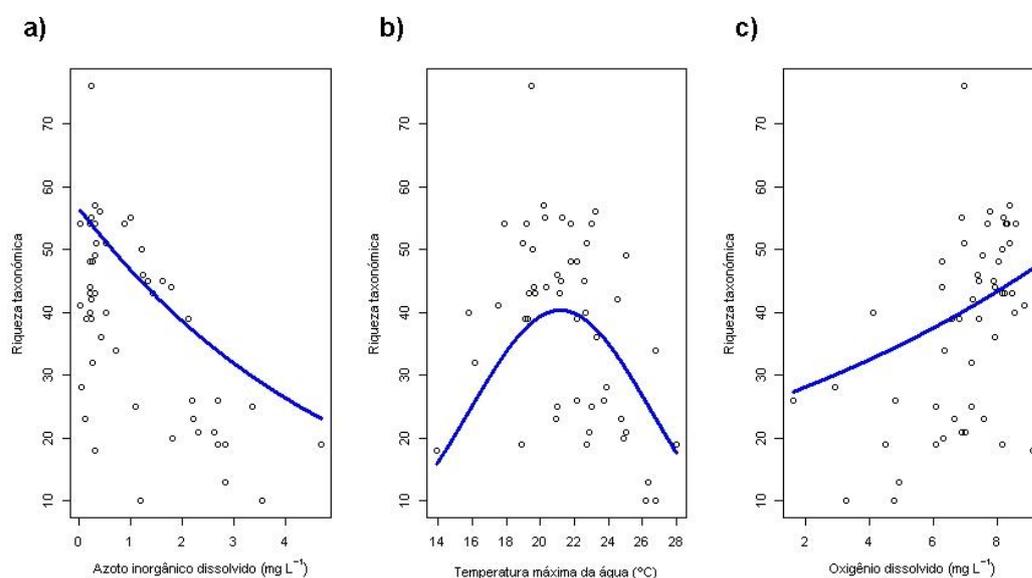


Figura 6 - Resposta da riqueza taxonómica aos agentes de stress selecionados ( $R^2=67,52\%$ ). a) Azoto inorgânico dissolvido, b) Temperatura máxima, c) Oxigénio dissolvido mínimo, considerando o valor médio dos restantes agentes de stress.

Na Figura 7, podemos observar a resposta da riqueza taxonómica à combinação de pares de agentes de stress. Podemos observar que as três combinações apresentadas (azoto inorgânico dissolvido e temperatura máxima, azoto inorgânico dissolvido e oxigénio dissolvido mínimo, e temperatura máxima e oxigénio dissolvido mínimo) resultaram em efeitos aditivos porque a forma e força da relação entre a riqueza taxonómica e cada agente de stress se mantém para diferentes níveis do segundo agente stress. Especificamente, o efeito combinado da concentração de azoto inorgânico dissolvido e da temperatura máxima mostrou que a riqueza diminuiu como resposta ao aumento de azoto inorgânico dissolvido e que os níveis altos de temperatura máxima resultaram na menor riqueza observada para todos os níveis de azoto

inorgânico dissolvido. No que diz respeito à combinação entre o azoto inorgânico dissolvido e o oxigénio dissolvido mínimo, podemos observar que níveis baixos de oxigénio dissolvido mínimo resultaram na maior perda de riqueza (para os diferentes níveis deste agente de stress), sendo que a riqueza diminuiu como resposta ao aumento da concentração de azoto inorgânico dissolvido. Na combinação entre a temperatura máxima e o oxigénio dissolvido mínimo, podemos observar que os níveis baixos de oxigénio dissolvido mínimo resultaram na maior perda de riqueza (para os diferentes níveis deste agente de stress), sendo que a riqueza apresentava uma resposta em forma de sino à temperatura máxima.

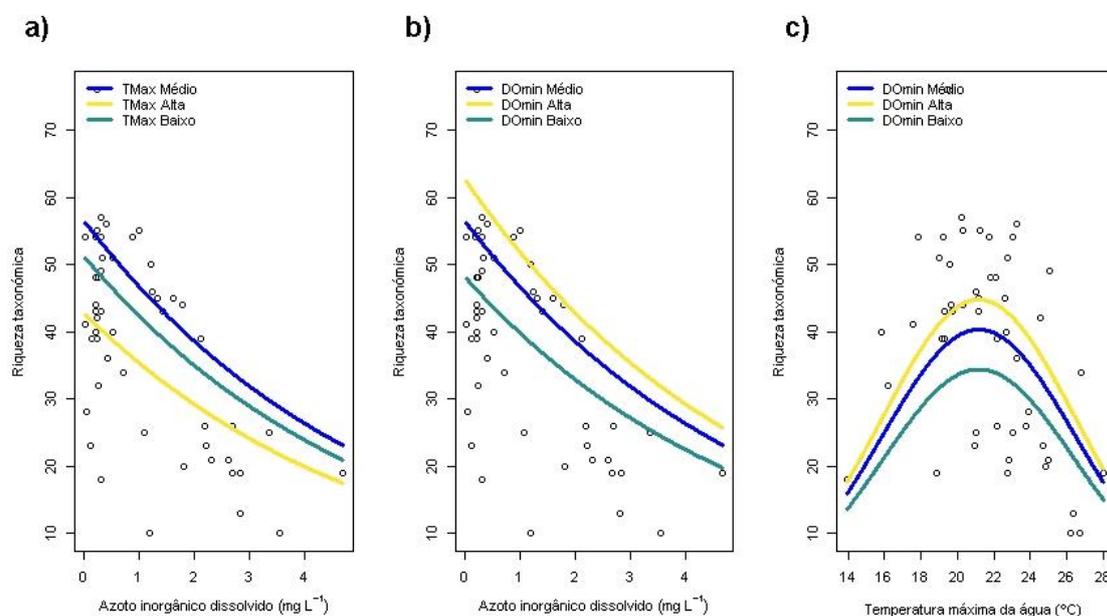


Figura 7 - Resposta da riqueza taxonómica ao efeito combinado de pares de agentes de stress. a) Azoto inorgânico dissolvido e temperatura máxima, b) Azoto inorgânico dissolvido e oxigénio dissolvido mínimo, c) Temperatura máxima e oxigénio dissolvido mínimo. As cores nos gráficos representam os diferentes níveis dos agentes de stress: a cor verde representa um nível baixo, a cor azul representa um nível intermédio, a cor amarela representa um nível alto.

Na Figura 8, podemos observar que o efeito combinado de 3 e de 2 agentes de stress resultaram na maior perda de riqueza taxonómica. Podemos observar que o efeito combinado dos 3 agentes de stress (azoto inorgânico dissolvido, temperatura máxima e oxigénio dissolvido mínimo) era aditivo, uma vez que a resposta da riqueza taxonómica ao azoto inorgânico dissolvido se manteve para diferentes níveis de temperatura máxima e de oxigénio dissolvido mínimo. Quando comparamos a resposta da riqueza para os diferentes efeitos combinados, foi observado que o efeito dos 3 agentes de stress (azoto inorgânico dissolvido, temperatura máxima e oxigénio dissolvido mínimo) resultou na menor riqueza observada (Figura 8). No que

diz respeito às combinações entre os pares de agentes de stress, podemos observar que a combinação entre azoto inorgânico dissolvido e níveis altos de temperatura máxima resultava numa maior perda de riqueza comparativamente ao efeito do azoto inorgânico dissolvido e níveis baixos de oxigénio dissolvido mínimo.

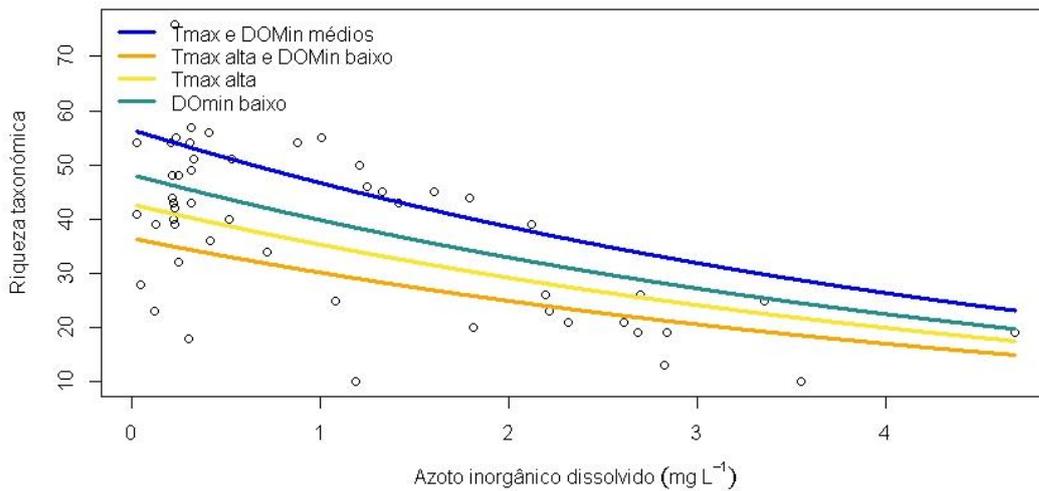


Figura 8 - Resposta da riqueza taxonómica a agentes de stress selecionados em combinações duplas (azoto inorgânico dissolvido e temperatura máxima; azoto inorgânico dissolvido e oxigénio dissolvido mínimo) e triplas (azoto inorgânico dissolvido, temperatura máxima e oxigénio dissolvido mínimo). As diferentes cores representam as diferentes combinações entre agentes de stress.

A métrica de diversidade Hill Shannon apresentou as mesmas respostas aos agentes de stress individuais, e às combinações duplas e triplas dos agentes de stress. Assim o Hill Shannon diminuiu como resposta ao aumento de azoto inorgânico dissolvido e à diminuição do oxigénio dissolvido mínimo (Fig 9a e Fig 9c, respetivamente). A resposta à temperatura máxima resultou num padrão em forma de sino, que indica que níveis intermédios de temperatura máxima correspondem a valores elevados de diversidade, e onde os valores extremos de temperatura máxima correspondem aos menores valores de diversidade (Fig 9b).

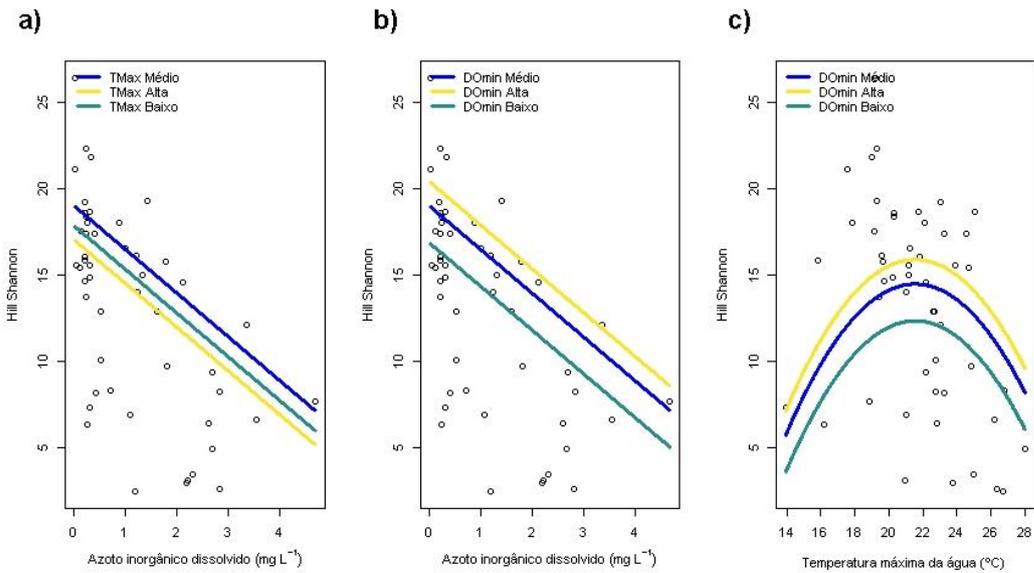


Figura 9 - Resposta do índice de diversidade Hill Shannon aos agentes de stress seleccionados ( $R^2=61,31\%$ ). a) Azoto inorgânico dissolvido, b) Temperatura máxima, c) Oxigénio dissolvido mínimo, considerando o valor médio dos restantes agentes de stress.

No que diz respeito aos efeitos combinados de 2 agentes de stress, foram observados apenas efeitos aditivos (o mesmo verificado para a riqueza taxonómica). Nas combinações verificaram-se os mesmos fatores de stress, que foram os níveis altos de temperatura máxima e os níveis baixos de oxigénio dissolvido mínimo. Na Figura 10 é apresentada a resposta do Hill Shannon à combinação de pares de agentes de stress.

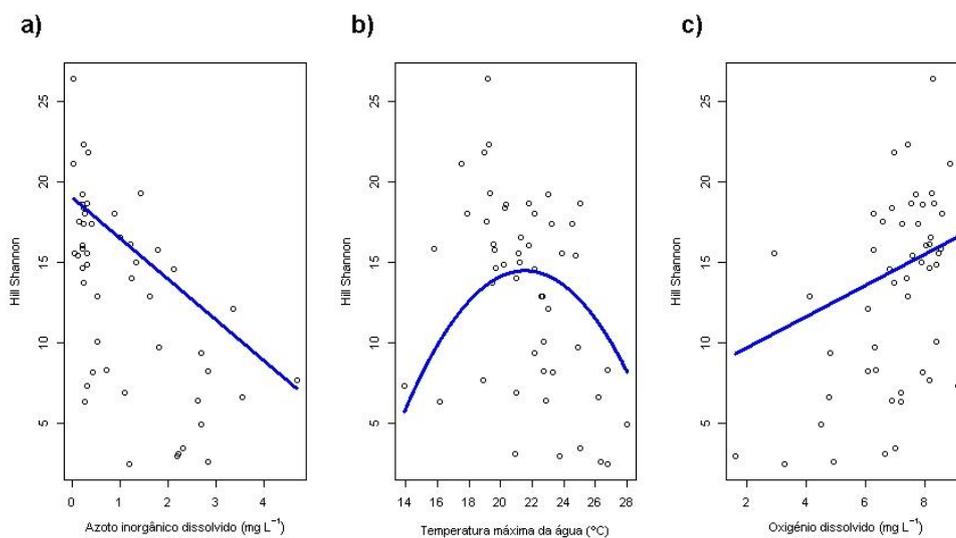


Figura 10 - Resposta do Hill Shannon ao efeito combinado de pares de agentes de stress. a) Azoto inorgânico dissolvido e temperatura máxima, b) Azoto inorgânico dissolvido e oxigénio dissolvido mínimo, c) Temperatura máxima e oxigénio dissolvido mínimo. As cores nos gráficos representam os diferentes níveis dos agentes de stress: a cor verde representa um nível baixo, a cor azul representa um nível intermédio, a cor amarela representa um nível alto.

Na Figura 11 podemos observar que a combinação dos 3 agentes de stress também resultou em efeitos aditivos, e que resultaram na maior perda de diversidade. No entanto, nas combinações de 2 agentes de stress, os níveis baixos de oxigénio dissolvido mínimo resultaram numa menor diversidade, quando comparado com os níveis altos de temperatura máxima. As combinações entre os diferentes pares de agentes de stress resultaram numa perda de diversidade muito parecida.

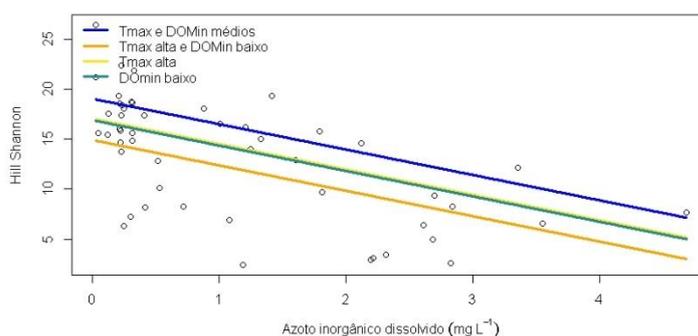


Figura 11 - Resposta do Hill Shannon a agentes de stress selecionados em combinações duplas (azoto inorgânico dissolvido e temperatura máxima; azoto inorgânico dissolvido e oxigénio dissolvido mínimo) e triplas (azoto inorgânico dissolvido, temperatura máxima e oxigénio dissolvido mínimo). As diferentes cores representam as diferentes combinações entre agentes de stress.

### 3.2.2 **Resposta da diversidade funcional aos agentes de stress**

A riqueza funcional apresentou uma resposta semelhante à da riqueza taxonómica e ao Hill Shannon, aos agentes de stress sozinhos ou em combinação. A riqueza funcional diminuiu a resposta ao aumento de nutrientes e à diminuição do oxigénio dissolvido mínimo (Fig 12a e Fig 12c, respetivamente). A resposta à temperatura máxima seguiu uma função quadrática, com valores máximos de riqueza funcional associados a valores intermédios de temperatura máxima (Fig 12b).

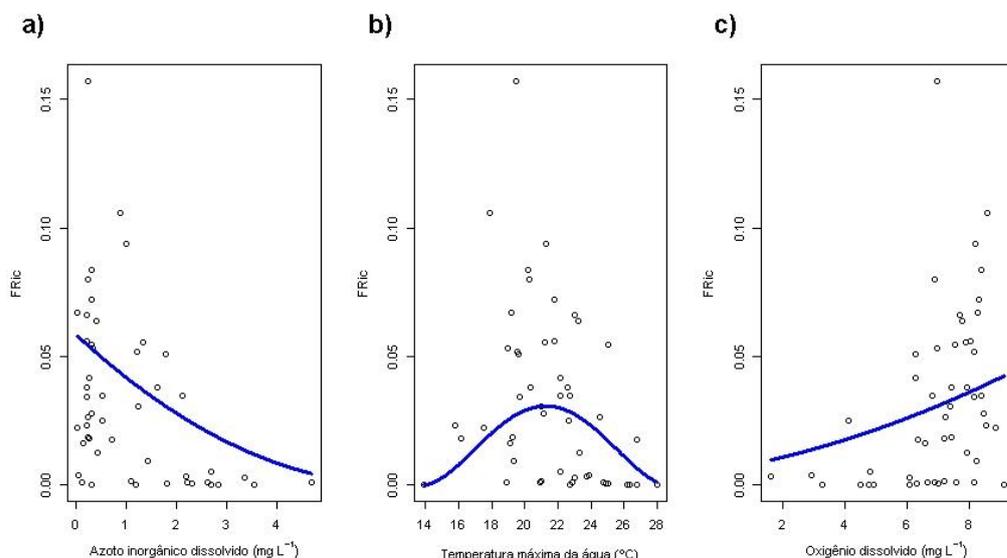


Figura 12 - Resposta da riqueza funcional aos agentes de stress selecionados ( $R^2=51,35\%$ ). a) Azoto inorgânico dissolvido, b) Temperatura máxima, c) Oxigênio dissolvido mínimo, considerando o valor médio dos restantes agentes de stress.

Os efeitos de agentes de stress em combinações duplas resultaram em efeitos aditivos, sendo que os fatores que mais diminuíram a riqueza funcional foram os níveis altos de temperatura máxima e os níveis baixos de oxigênio dissolvido mínimo, tal como se pode observar na Figura 13.

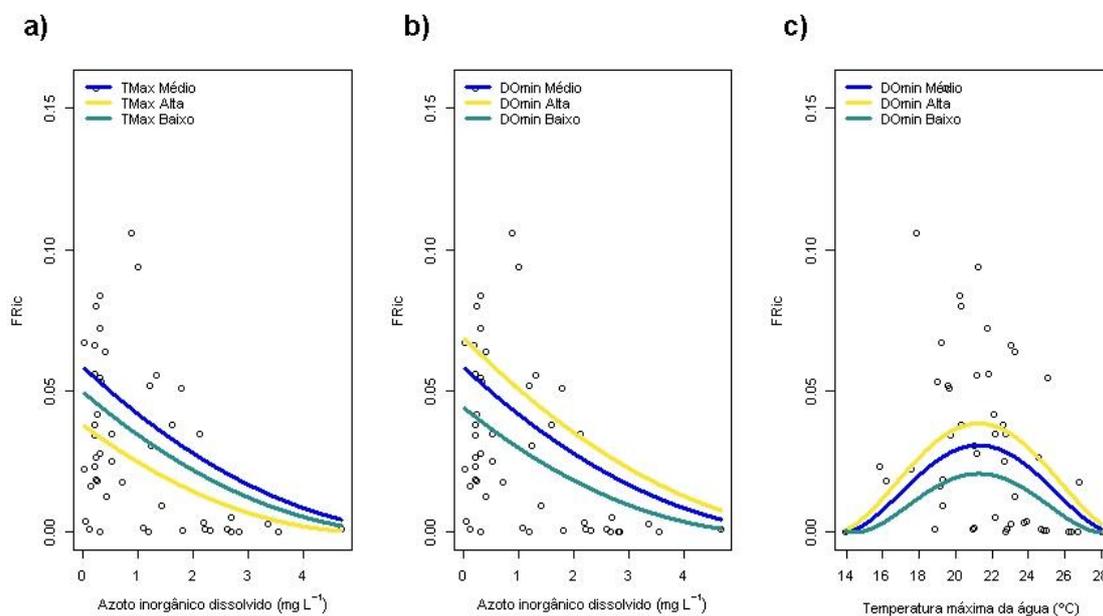


Figura 13 - Resposta da riqueza funcional ao efeito combinado de pares de agentes de stress. a) Azoto inorgânico dissolvido e temperatura máxima, b) Azoto inorgânico dissolvido e oxigênio dissolvido mínimo, c) Temperatura máxima e oxigênio dissolvido mínimo. As cores nos gráficos representam os diferentes níveis dos agentes de stress: a cor verde representa um nível baixo, a cor azul representa um nível intermédio, e a cor amarela representa um nível alto.

Na Figura 14 podemos observar que a combinação dos 3 agentes de stress também resultou em efeitos aditivos, e que resultaram na menor riqueza funcional observada. O efeito

combinado dos níveis altos de temperatura máxima e do azoto inorgânico dissolvido resultou numa perda superior de riqueza funcional, quando comparado com o efeito combinado do azoto inorgânico dissolvido e níveis baixos de oxigénio dissolvido mínimo.

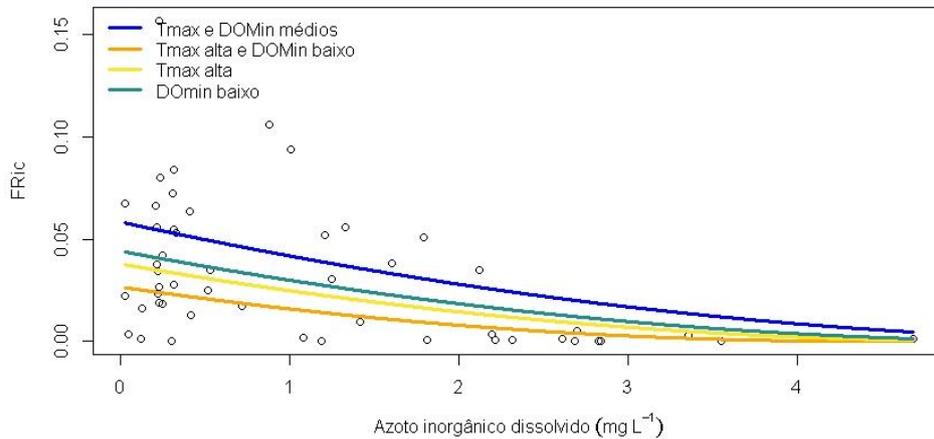


Figura 14 - Resposta da riqueza funcional a agentes de stress selecionados em combinações duplas (azoto inorgânico dissolvido e temperatura máxima; azoto inorgânico dissolvido e oxigénio dissolvido mínimo) e triplas (azoto inorgânico dissolvido, temperatura máxima e oxigénio dissolvido mínimo). As diferentes cores representam as diferentes combinações entre agentes de stress.

A dispersão funcional diminuiu com o aumento da velocidade média (Fig 15a) e apresentou uma relação quadrática com temperatura máxima com valores máximos associados aos valores intermédios da temperatura máxima (Fig 15b). No entanto, a resposta da dispersão funcional à diminuição do oxigénio dissolvido mínimo (Fig 15c) e ao aumento da concentração de azoto inorgânico dissolvido (Fig 15d) foi pouco acentuada.

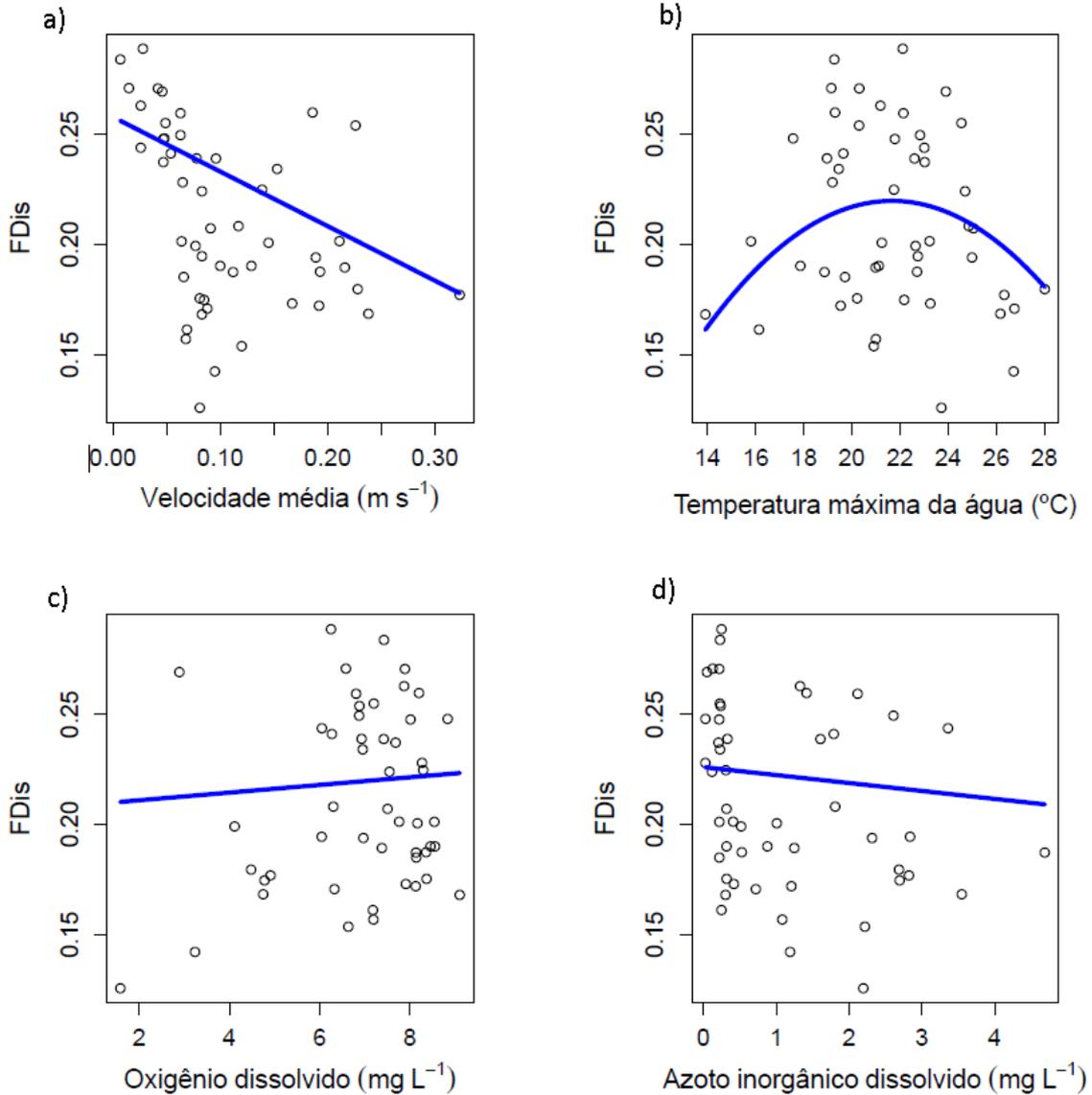


Figura 15 - Resposta da dispersão funcional a agentes de stress selecionados ( $R=36.03\%$ ). a) Velocidade média, b) Temperatura máxima, c) Oxigênio dissolvido mínimo, d) Azoto inorgânico dissolvido, considerando o valor médio dos restantes agentes de stress.

Na Figura 16 podemos observar a resposta da dispersão funcional à combinação de pares de agentes de stress. Podemos observar que as três combinações apresentadas (velocidade média + temperatura máxima, velocidade média + azoto inorgânico dissolvido e temperatura máxima + azoto inorgânico dissolvido) resultaram em efeitos aditivos porque a forma da relação entre a dispersão funcional e cada agente de stress se mantém para diferentes níveis do segundo agente stress. Especificamente o efeito combinado da velocidade média e temperatura máxima mostrou que a dispersão funcional diminuía em resposta ao aumento de velocidade média e que os níveis altos de temperatura máxima resultaram na menor riqueza observada para todos os níveis de velocidade média (Fig 16a). No que diz respeito à combinação

entre a velocidade média e o azoto inorgânico dissolvido, podemos observar que níveis altos de azoto inorgânico dissolvido resultaram na maior perda de dispersão funcional (para os diferentes níveis deste agente de stress), sendo que a dispersão funcional diminuiu em resposta ao aumento de azoto inorgânico dissolvido (Fig 16b). Na combinação entre a temperatura máxima e o azoto inorgânico dissolvido, podemos observar que os níveis altos de azoto inorgânico dissolvido resultaram na maior perda de dispersão funcional (para os diferentes níveis deste agente de stress), sendo que a riqueza apresentava uma resposta em forma de sino à temperatura máxima.

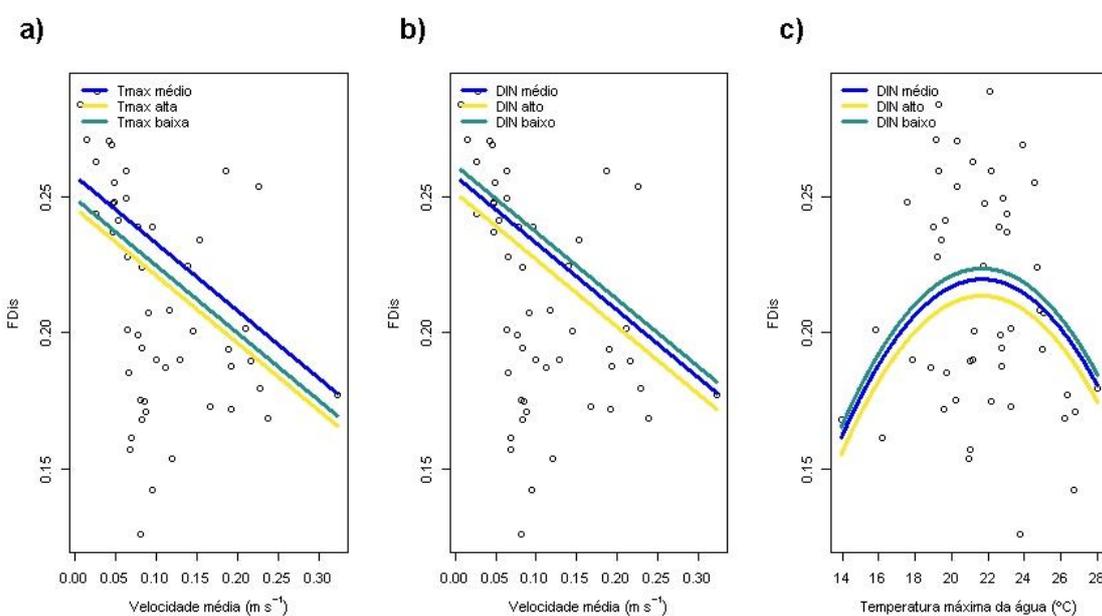


Figura 16 - Resposta da dispersão funcional ao efeito combinado de pares de agentes de stress. a) Velocidade média e temperatura máxima, b) Velocidade média e azoto inorgânico dissolvido, c) Temperatura máxima e oxigénio dissolvido mínimo. As cores nos gráficos representam os diferentes níveis dos agentes de stress: a cor verde representa um nível baixo, a cor azul representa um nível intermédio, e a cor amarela representa um nível alto.

Na Figura 17 podemos observar o efeito combinado de 2 e de 3 agentes de stress na perda de dispersão funcional. Podemos observar que o efeito dos 3 agentes de stress (velocidade média, temperatura máxima e azoto inorgânico dissolvido) era aditivo, uma vez que a resposta da dispersão funcional à velocidade média se manteve para diferentes níveis de temperatura máxima e de azoto inorgânico dissolvido. Quando comparamos a resposta da dispersão funcional para os diferentes efeitos combinados, foi observado que o efeito dos 3 agentes de stress (velocidade média, temperatura máxima e azoto inorgânico dissolvido), resultava na menor dispersão funcional observada (Figura 17). No que diz respeito às combinações entre os pares de agentes de stress, podemos observar que a combinação entre velocidade média e níveis altos de temperatura máxima resultava numa maior perda de

dispersão funcional comparativamente ao efeito da velocidade média e níveis altos de azoto inorgânico dissolvido.

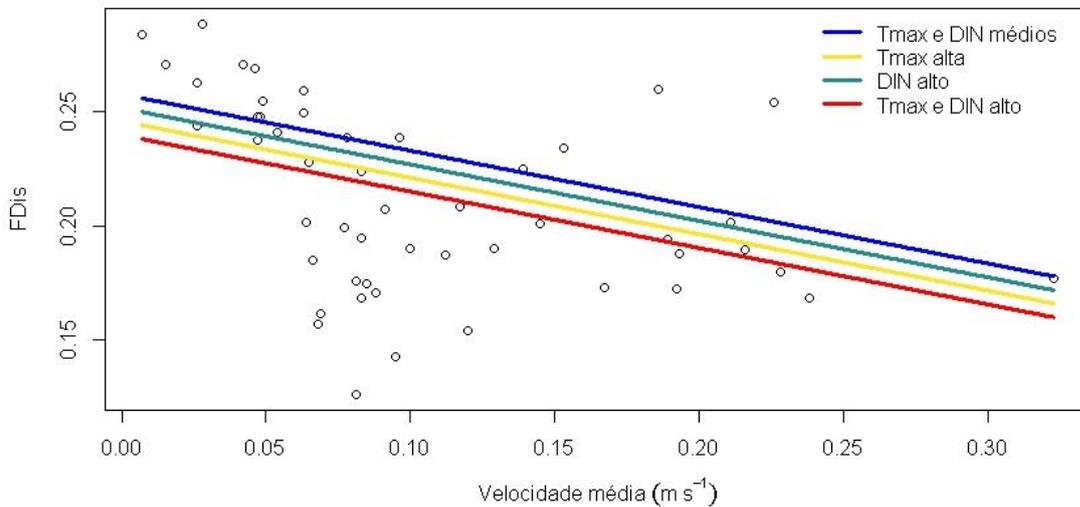


Figura 17 - Resposta da dispersão funcional (FDis) a agentes de stress selecionados em combinações duplas (velocidade média e temperatura máxima e velocidade média e azoto inorgânico dissolvido) e triplas (velocidade média, temperatura máxima e azoto inorgânico dissolvido). As diferentes cores representam as diferentes combinações entre agentes de stress.

### 3.2.3 Partição da variância

Na Tabela 7, são apresentados os melhores modelos globais selecionados. Os modelos globais consideraram os agentes de stress selecionados anteriormente, assim como a relação quadrática entre a resposta da biodiversidade e a temperatura máxima.

Tabela 7 - Melhor modelo global selecionado.

Métricas da biodiversidade	Melhor modelo linear global	AICc
Riqueza	$y \sim \text{DIN} + \text{Tmax} + I(\text{Tmax}^2) + \text{DOmin} + \text{mean.Velocity} + \text{shadow}$	25,606
Hill Shannon	$y \sim \text{DIN} + \text{Tmax} + I(\text{Tmax}^2) + \text{DOmin} + \text{mean.Velocity} + \text{shadow}$	288,26
FRic	$y \sim \text{DIN} + \text{Tmax} + I(\text{Tmax}^2) + \text{DOmin} + \text{mean.Velocity} + \text{shadow}$	-106,83
FDis	$y \sim \text{DIN} + \text{Tmax} + I(\text{Tmax}^2) + \text{DOmin} + \text{mean.Velocity} + \text{shadow}$	-185,34

DIN- Azoto inorgânico dissolvido; Tmax- Temperatura máxima; DOmin- oxigênio dissolvido mínimo; mean.Velocity- velocidade média; shadow- sombra

No Anexo D é apresentada a tabela com os melhores modelos obtidos a partir da inferência de modelos múltiplos. Nesta tabela é apresentado o efeito e os coeficientes dos agentes de stress para todas as métricas de diversidade.

Para a riqueza, obtiveram-se 6 modelos. Os melhores preditores foram o azoto inorgânico dissolvido (variância média explicada 36,7%), a temperatura máxima (quadrática, variância média explicada 20,5%) e o oxigénio dissolvido mínimo (variância média explicada 9,4%). O azoto inorgânico dissolvido e a temperatura máxima mostravam uma relação negativa com a riqueza ( $r$  médio  $\pm$  EP =  $-0,24 \pm 0,005$  e  $-0,16 \pm 0,004$ , respetivamente). Por oposição, o oxigénio mínimo possuía uma relação positiva ( $r$  médio  $\pm$  EP =  $0,13 \pm 0,01$ ). Os melhores modelos obtidos para a riqueza tinham um valor médio de ajuste de 23,12 (AICc) e uma variância média explicada de 67,52%.

Para o Hill Shannon obtiveram-se 5 modelos. Os melhores preditores para o Hill Shannon foram o azoto inorgânico dissolvido (variância média explicada 42,1%), a temperatura máxima (variância média explicada 9,5%) e o oxigénio dissolvido mínimo (variância média explicada 7,2%). O azoto inorgânico dissolvido apresentava uma relação negativa com o Hill Shannon ( $r$  médio  $\pm$  EP =  $-3,08 \pm 0,07$ ). Por oposição, a temperatura máxima e o oxigénio dissolvido mínimo possuíam uma relação positiva ( $r$  médio  $\pm$  EP =  $0,61 \pm 0,04$  e  $1,54 \pm 0,01$ ). Os melhores modelos obtidos para o Hill Shannon apresentavam um valor médio de ajuste de 284,89 (AICc) e uma variância média explicada de 61,31%.

Para a riqueza funcional obtiveram-se 7 modelos. Os melhores preditores para a riqueza funcional foram o azoto inorgânico dissolvido (variância média explicada 27,7%), a temperatura máxima (variância média explicada 13,5%) e o oxigénio dissolvido mínimo (variância média explicada 7,3%). O azoto inorgânico dissolvido possuía uma relação negativa com a riqueza funcional ( $r$  médio  $\pm$  EP =  $-0,05 \pm 0,001$ ). Por oposição, a temperatura máxima e o oxigénio dissolvido mínimo possuíam uma relação positiva ( $r$  médio  $\pm$  EP =  $0,51 \pm 0,001$  e  $0,03 \pm 0,002$ ). Os melhores modelos obtidos para a riqueza funcional apresentavam um valor médio de ajuste de -109,04 (AICc) e uma variância média explicada de 51,35%.

Para a dispersão funcional obtiveram-se 4 modelos. Os melhores preditores para a dispersão funcional foram a velocidade média (variância média explicada 20%), a temperatura máxima (variância média explicada 8,4%) e o azoto inorgânico dissolvido (variância média explicada 6,3%). A velocidade média e a temperatura máxima possuíam uma relação negativa com a dispersão funcional ( $r$  médio  $\pm$  EP =  $-0,02 \pm 0,0006$  e  $-0,008 \pm 0,0001$ ). Por oposição, o oxigénio dissolvido mínimo possuía uma relação positiva (média do coeficiente  $\pm$  EP:  $0,006 \pm$

0,0007). Os melhores modelos obtidos para a dispersão funcional possuem um valor médio de ajuste de -190,78 (AICc) e uma variância média explicada de 36,03%.

Na Figura 18, é apresentada a partição da variância para as métricas da biodiversidade. É possível observar que a métrica FDis respondeu de forma diferente aos agentes de stress, uma vez que a variável com maior contribuição para explicar esta métrica foi a velocidade da corrente, com uma contribuição acima de 50%. Tanto a temperatura máxima, como a sombra, tinham contribuições residuais para a variância explicada pelos melhores modelos em todas as métricas de diversidade.

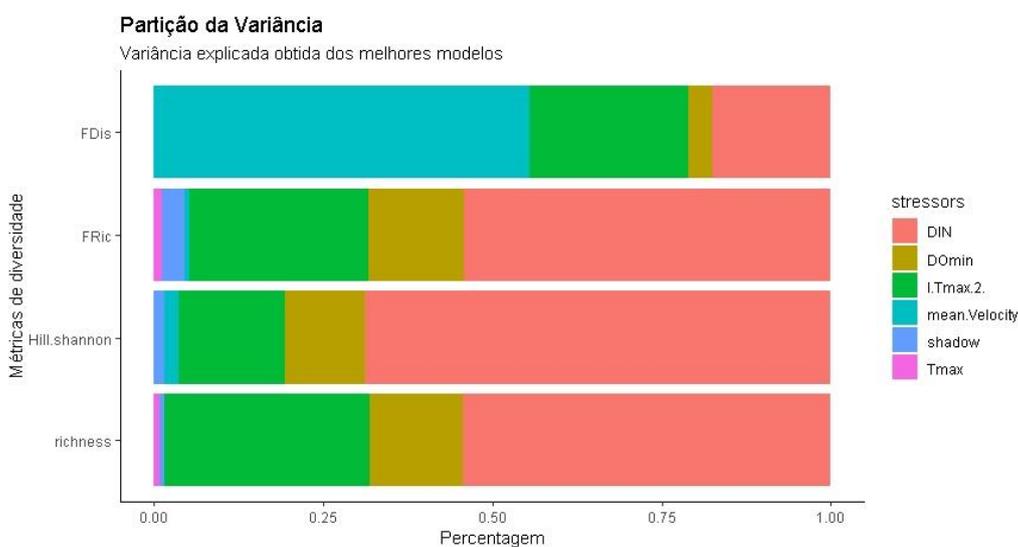


Figura 18 - Partição da variância das métricas de diversidade em função dos agentes de stress selecionados e considerando os melhores modelos com  $\Delta AICc \leq 2$ .

#### 4. **Discussão**

No nosso estudo, as métricas de diversidade taxonómica e a riqueza funcional responderam de forma similar aos diferentes agentes de stress identificados, em particular ao azoto inorgânico dissolvido, ao oxigénio dissolvido e à temperatura, quando foram analisados sozinhos ou em combinação. Surpreendentemente, a dispersão funcional apresentou uma resposta diferente, principalmente pela sua sensibilidade à hidrologia do rio, traduzida pela velocidade da corrente.

Apesar da prevalência de efeitos antagonísticos dos agentes de stress nas comunidades dos ecossistemas de água doce (Jackson, Loewen, Vinebrooke, & Chimimba, 2016)), a nossa resposta ao nível da comunidade de macroinvertebrados aponta para a existência de efeitos

aditivos, resposta que foi consistente para todas as métricas da biodiversidade analisadas. No entanto, e tal como esperado, a intensificação do stress levou à perda de biodiversidade taxonómica e funcional das comunidades de macroinvertebrados bênticos, salientando a importância de analisar as respostas ao nível funcional.

#### **4.1 Efeitos isolados dos agentes de stress**

As comunidades de macroinvertebrados responderam de forma negativa ao aumento da concentração de nutrientes como resultado da intensificação do uso do solo (Weijters et al., 2009), nomeadamente ao aumento de nutrientes associados às zonas agrícolas (Zhang, et al., 2018; Liu, et al., 2020). Desta forma, a eutrofização pode resultar em efeitos diretos e indiretos na comunidade de macroinvertebrados (Spears B. , et al., 2021). Os nutrientes podem levar ao aumento da biomassa de perifiton, levando a uma resposta positiva da densidade da comunidade de macroinvertebrados (e.g., efeito indireto), uma vez que o perifiton pode ser o seu recurso alimentar (Biggs B. , 2000; Elbrecht, et al., 2016). Por outro lado, a comunidade de macroinvertebrados pode responder de forma negativa ao aumento da concentração de nutrientes, pois reflete a toxicidade a que os taxa estão sujeitos, assim como o seu tempo de exposição (e.g., efeito direto) (Camargo, Alonso, & Salamanca, 2005), e que aparenta ser o motivo da resposta das diferentes métricas. As consequências dos gradientes de eutrofização ultrapassam efeitos abióticos, uma vez que resultam na alteração das posições dos diferentes consumidores nas cadeias tróficas (van der Lee, et al., 2021). Estas mudanças tróficas resultam da alteração dos hábitos alimentares dos macroinvertebrados associados ao aumento da produtividade (e.g., recurso alimentar dos omnívoros) (Wootton, 2017) e das alterações da abundância das presas (Lancaster et al., 2005). Desta forma, a eutrofização pode resultar em comunidades menos diversas e temporalmente mais homogêneas, uma vez que provoca desequilíbrios no balanço competitivo associado à exploração temporal dos recursos alimentares (Cook et al., 2018), o que pode explicar a nossa resposta taxonómica e funcional.

A biodiversidade respondeu de forma negativa à diminuição do oxigénio dissolvido. O oxigénio dissolvido possui variações associadas a gradientes de altitude como demonstrado por Jacobsen (2008). O aumento de carga de nutrientes leva à eutrofização e à diminuição da concentração de oxigénio dissolvido (Weijters et al., 2009). No nosso estudo, a resposta da comunidade de macroinvertebrados pode dever-se quer ao excesso de nutrientes quer à diminuição da disponibilidade de oxigénio (condições associadas à poluição orgânica). A

comunidade de macroinvertebrados é suscetível a baixas concentrações de oxigénio, sendo por isso observado em vários estudos os efeitos letais resultantes de condições de hipóxia (Connolly, Crossland, & Pearson, 2004). Os efeitos letais resultam do facto dos organismos heterotróficos necessitarem de oxigénio (e.g., Dixidae, Culicidae) para realizar os seus processos metabólicos (e.g., alimentação/assimilação, crescimento e dissipação) (Kooijman, 2010) e das estratégias de evitamento alimentar (Wiley & Kohler, 1980; Lowell & Culp, 1999). Contudo, alguns organismos mais tolerantes podem sobreviver, usando, por exemplo, estratégias de dispersão (Calapez et al., 2017). A tolerância dos organismos a condições de hipóxia e a limites mínimos de oxigénio varia de forma considerável entre os taxa (Ekau et al., 2010), uma vez que depende do estágio de vida e das características das espécies (Calapez, et al., 2017). É importante considerar que estes organismos estão associados a flutuações diárias de oxigénio dissolvido (Carpenter, et al., 1998), o que salienta a necessidade de compreender a ação deste agente de stress nos organismos.

No que diz respeito à temperatura, a resposta da comunidade segue a clássica curva de resposta da distribuição Gaussiana, sendo esta resposta à temperatura geralmente a mais observada (Gauch & Whittaker, 1972). A altitude é um fator que está relacionado com a temperatura da água nos ecossistemas de água doce (principalmente nos rios de montanha, e.g., ARG1; VEZ1; FOR1) (Min & Kong, 2020; Beauchard, Gagneur, & Brosse, 2003), sendo potencialmente o fator responsável pelo gradiente de temperatura observado. A temperatura condiciona o crescimento, o metabolismo e o sincronismo de eventos do ciclo de vida, sendo que até taxa filogeneticamente relacionados podem demonstrar diferentes ótimos de condições térmicas (Wood et al., 2005; Min & Kong, 2020). Assim, as respostas mais comuns a este fator são mecanismos de sobrevivência, como os ajustes fisiológicos (e.g., comportamentos de termoregulação), ou a dispersão para áreas que causam menos stress (Kärcher et al., 2019). Assim, perante as perspectivas de aquecimento global, e pela possibilidade de interação com outros agentes de stress, é provável que este fator selecione taxa que possuam adaptações associadas a um crescimento rápido durante as diversas etapas do ciclo de vida (Vannote & Sweeney, 1980). Isto pode resultar na dominância de taxa adaptados a temperaturas maiores através de processos fisiológicos ou por competição exclusiva (Somero, 2010), o que inevitavelmente conduzirá a uma alteração do fluxo de energia nestes ecossistemas (Harper & Peckarsky, 2006).

A velocidade da corrente foi identificada como um agente de stress responsável pela perda de dispersão funcional. As restantes métricas da biodiversidade não responderam à velocidade da corrente, apesar de alguns estudos evidenciarem a sua relação com as comunidades de macroinvertebrados (Elbrecht et al., 2016; Wagner et al., 2011; Allan & Castillo, 2007). Pan et al. (2015) verificaram que a velocidade era um dos fatores que mais afetava a estrutura da comunidade de macroinvertebrados do Rio Yangtze. Min & Kong, (2020) verificaram diferenças na composição taxonómica e de grupos funcionais, evidenciando que é o declive que determina a velocidade, e, conseqüentemente, a velocidade é um dos fatores que determina o tipo de microhabitats presentes. Burgazzi et al., (2020) identificaram uma resposta temporal da velocidade da corrente, como uma variável preditora da abundância e biomassa de macroinvertebrados, assim como de alguns grupos funcionais alimentares. No nosso trabalho, a resposta da diversidade taxonómica à velocidade da corrente pode ter sido mascarada, uma vez que a tendência temporal observada por Burgazzi et al., (2020) ocorreu durante o inverno, enquanto que a nossa amostragem decorreu entre setembro e outubro. Durante o período de verão, os autores não detetam essa tendência, o que pode indicar uma influência sazonal na capacidade das métricas de diversidade taxonómica detetarem a influência da velocidade. Tendo em conta que quantificámos um gradiente de velocidade da corrente, é possível que determinadas tipologias de meso-habitats presente num rio (e.g., *riffle*, *pool*, *run*) estejam associadas a um conjunto de taxa e de traços funcionais (Monk, et al., 2018) sem afetar a riqueza e a abundância de taxa, o que pode justificar a ausência de resposta no nosso estudo por parte de algumas métricas taxonómicas, como a riqueza e o Hill Shannon. O aumento da velocidade de corrente aparenta beneficiar alguns grupos funcionais alimentares, como é o caso dos filtradores passivos que consomem matéria orgânica particulada fina, e os fitófagos que beneficiam do aumento da biomassa das algas quando a velocidade concentra os nutrientes inorgânicos (Schoen, Merten & Wellnitz, 2013; Theodoropoulos et al., 2017). Estas alterações dos grupos funcionais alimentares podem justificar a resposta de métricas funcionais, no nosso caso dispersão funcional, resultante da alteração dos traços funcionais na comunidade. Tendo em conta que a velocidade é afetada pelo caudal ( $Q=V*A$ ), a resposta da comunidade pode refletir a região bioclimática, uma vez que a nossa área de estudo está associada a um aumento de caudal no inverno, e a estabilidade ao nível de caudal (devido à elevada presença de água durante todo o ano).

A sombra foi a única variável que não exerceu um efeito na biodiversidade. No nosso caso, a sombra visava caracterizar a presença de vegetação ripária, uma vez que se pressupõe que influencie a presença da riqueza de macroinvertebrados (Allan, 1995; Giller & Malmqvist, 1998). A riqueza e abundância de alguns macroinvertebrados pode aumentar como resposta ao aumento de micro-habitats, que é uma consequência da presença da vegetação ripária (Briers & Gee, 2004). No nosso caso, a ausência do efeito da sombra nas métricas da biodiversidade pode-se dever a uma das seguintes hipóteses: (1) a nossa variável sombra não caracterizou de forma representativa o gradiente de vegetação ripária; ou, (2) a presença de vários agentes de stress pode ter mascarado a resposta da comunidade à presença de vegetação ripária, pois a resposta da comunidade pode refletir melhor a tolerância das espécies ao stress do que a resposta à disponibilidade de recursos (e.g., habitat e alimento). Assim, perante um gradiente de stress, a biodiversidade local pode ser determinada pelas respostas funcionais, por oposição às interações bióticas (e.g., interações entre espécies, competição por recursos: habitat e alimento, mecanismos de adaptação). Se assim for, as respostas funcionais poderão refletir melhor a biodiversidade (riqueza, abundância, riqueza e abundância de traços funcionais) na nossa área de estudo.

Assim, as métricas da biodiversidade ao nível da comunidade sugerem uma dominância de respostas fisiológicas ao nível da espécie, o que leva a que as métricas de biodiversidade reflitam a tolerância dos taxa associados a gradientes de stress. Isto pode indicar que numa área de estudo associada a gradientes com vários agentes de stress, as respostas ao nível de comunidade possam refletir a tolerância das espécies, em vez da disponibilidade de recursos (e.g., habitat e alimento), o que pode justificar os resultados observados para todos os agentes de stress no nosso estudo.

#### **4.2 Efeitos combinados dos agentes de stress**

Os nossos resultados refutam a hipótese de que as combinações entre os agentes de stress resultam em efeitos antagonísticos, uma vez que apenas se visualizaram efeitos aditivos. Os efeitos antagonísticos são amplamente descritos como dominantes nos ecossistemas de água doce, através de meta-análises (Jackson, et al., 2016; Isaza, Cramp & Franklin, 2020; Côté, Darling & Brown, 2016).

Contudo, poucos estudos fazem uma ligação entre a predominância de efeitos antagonísticos nos ecossistemas de água doce, em simultâneo com a quantificação de métricas

de diversidade ao nível da comunidade, de forma a que uma generalização de ambas as situações em simultâneo possa ser realizada. Isto porque a complexidade que está associada à interpretação dos agentes de stress múltiplos pode resultar em interações que variam entre organismos e métricas de resposta (Côté, Darling & Brown, 2016). Birk et al., (2020) consideram que a presença e combinação dos agentes de stress associados aos ecossistemas de água doce são muito variáveis entre rios e fortemente afetados pelas escalas espaciais, o que leva a um aumento da complexidade associada ao efeito de agentes de stress. Alguns estudos procuram a resposta global da biodiversidade nos diferentes ecossistemas, outros procuram uma resposta dos diferentes níveis de organização biológica dentro de um ecossistema, e isto pode levar a alguma confusão.

Como referido anteriormente, poucos estudos quantificam a diversidade (e.g., riqueza) da comunidade nos ecossistemas de água doce, de forma a compreender a resposta aos agentes múltiplos de stress. Por exemplo, no artigo de Côté, Darling, & Brown, (2016) são identificadas combinações aditivas (2 meta-análises) e antagonísticas (4 meta-análises). Do conjunto de meta-análises que evidenciam uma resposta antagonística ao nível da comunidade (Côté, Darling & Brown, 2016), poucas quantificam a diversidade (e.g., riqueza, Hill Shannon) e consideram diferentes grupos taxonómicos. Wu, et al., (2011) e Dieleman et al., (2012) demonstram a dominância de efeitos antagonísticos para as plantas como resposta a agentes de stress como a temperatura, CO<sub>2</sub>, e precipitação, mas não usam nenhuma métrica que quantifique o nível de diversidade da comunidade (no estudo quantificam os efeitos na biomassa total, fotossíntese do ecossistema, balanço líquido do ecossistema, respiração do ecossistema, área total de biomassa, biomassa da raiz, etc.). Crain, Kroeker, & Halpern, (2008) é a única meta-análise que utiliza a riqueza (entre outras métricas) como variável resposta e demonstra a dominância de efeitos antagonísticos ao nível da comunidade como resposta a múltiplos agentes de stress abiótico em ecossistemas marinhos. Isto reforça a necessidade de quantificar métricas de diversidade ao nível da comunidade nos ecossistemas de água doce, para perceber a ação dos agentes de stress abióticos.

Por outro lado, estudos como Jackson et al. (2016) realçam a dominância de efeitos antagonísticos entre as interações de agentes de stress, visualizando em específico esse efeito para métricas que quantificam o desempenho funcional, contudo, ao nível da comunidade identificam a dominância de efeitos aditivos. Recentemente, vários estudos apontam para a prevalência de efeitos aditivos ao nível da comunidade de macroinvertebrados. Gieswein, Hering

& Feld (2017) demonstram a prevalência de efeitos aditivos ao nível da comunidade para vários indicadores ecológicos (e.g., macroinvertebrados, peixes e macrófitas), referindo que as interações obtidas eram raras ou fracas. Estes efeitos aditivos são observados ao nível da comunidade, como a resposta à salinidade, assim como a sua combinação com outros agentes de stress (Velasco et al., 2019). Estes efeitos têm sido visualizados em experiências em mesocosmos, resultando maioritariamente em efeitos aditivos, enaltecendo a ideia de que poderá ser possível prever as respostas da comunidade de macroinvertebrados da área em estudo com base no conhecimento dos efeitos individuais dos agentes de stress (Elbrecht et al., 2016). Todos estes estudos suportam os resultados que observámos para a comunidade de macroinvertebrados, evidenciando a prevalência de efeitos aditivos. Os efeitos aditivos podem emergir ao nível da comunidade, uma vez que diferentes agentes de stress atuam sobre diferentes mecanismos, indivíduos e espécies que possuem capacidade de resistir a um agente de stress, mas não a todos em simultâneo, o que pode levar a que as espécies possuam respostas divergentes a um agente de stress e a que não haja uma sobreposição ao nível da resposta da comunidade (Côté, Darling, & Brown, 2016). Assim, surge a necessidade de perceber os mecanismos que resultam em respostas como a tolerância e suscetibilidade a diversos níveis de organização biológica (Todgham & Stillman, 2013), o que contribuiria para aumentar a capacidade de interpretar as observações ecológicas (Burgess et al., 2021). A compreensão dos mecanismos não é fácil, uma vez que os agentes de stress possuem perfis temporais e espaciais idiossincráticos (Kath, et al., 2018), e estão associados a diferentes contextos ambientais, o que influenciar tanto a deteção dos agentes de stress, como as suas interações (Jackson et al., 2016; Kath et al., 2018).

Outro dos desafios associados aos agentes de stress múltiplo são as suas interações abióticas, uma vez que podem exacerbar ou atenuar determinado agente de stress. Por exemplo, pequenos níveis de oxigénio dissolvido, favorecem a desnitrificação, o que resulta na redução de níveis de oxigénio e numa diminuição dos níveis de azoto inorgânico dissolvido com impactos nos macroinvertebrados (Spears B. , et al., 2021). A interação entre o nitrato e o oxigénio dissolvido pode resultar num efeito superior que afeta a sobrevivência dos organismos (Ortiz-Santaliestra & Marco, 2015), sendo o mecanismo anteriormente descrito, o responsável por exacerbar o efeito da disponibilidade de oxigénio (Isaza, Cramp, & Franklin, 2020), podendo resultar num efeito sinérgico. No entanto, o mesmo mecanismo pode levar à redução de azoto inorgânico dissolvido, produzindo um efeito antagonístico. Existem outras interações abióticas,

por exemplo, a velocidade da corrente afeta a disponibilidade de oxigênio dissolvido (Min & Kong, 2020), uma vez que elevada velocidade de corrente promove a capacidade de autodepuração e de oxigenação (e.g., reaeração), e, conseqüentemente, reduz o impacto da degradação microbiana da matéria orgânica no oxigênio dissolvido (Friberg et al., 2010), produzindo um efeito sinérgico já demonstrado experimentalmente (Matthaei et al., 2006). A interação entre o oxigênio dissolvido e a temperatura é também relevante, uma vez que a solubilidade do oxigênio na água é dependente da temperatura (White, et al., 2012). Desta forma, os agentes de stress possuem interações abióticas, o que resulta no aumento da complexidade associada à interpretação dos agentes múltiplos de stress. A poluição orgânica pode ser responsável pela ação de vários agentes de stress na comunidade de macroinvertebrados, no entanto, pode não ter sido o agente de stress responsável pela resposta da biodiversidade no nosso estudo, uma vez que se visualizaram em simultâneo diferentes agentes de stress (azoto inorgânico dissolvido; temperatura máxima; e oxigênio dissolvido) nos locais da área de estudo.

Os pontos anteriores visam evidenciar a complexidade associada ao efeito dos agentes de stress múltiplos. Para além da complexidade, existe a tendência de procura de respostas globais da biodiversidade que misturam respostas entre diversos níveis de organização biológica, com diferentes grupos de organismos e componentes da biodiversidade, sendo que ao nível da comunidade muitos dos estudos atribuem a dominância de efeitos antagonísticos, mas falham na premissa de caracterizar a diversidade (e.g., riqueza). Quando se procura respostas dentro de um ecossistema, aparenta ser possível observar efeitos antagonísticos, contudo, visualizam-se efeitos aditivos ao nível da comunidade. A complexidade, a desordenação e a necessidade de precisão associada à interpretação da ação dos agentes de stress, levam a considerar que é necessário refinar o pensamento por detrás dos agentes de stress múltiplos e o seu impacto na biodiversidade, levando à necessidade de simplificar e contextualizar de forma cuidada as respostas que estamos a observar (e.g., componente da diversidade, nível de organização biológica, métrica usada e agente de stress).

A nossa hipótese não se verificou, contudo, os resultados assim como os recentes estudos sugerem que ao nível de comunidade de macroinvertebrados de ecossistemas de água doce os efeitos possam ser predominantemente aditivos (por oposição aos efeitos antagonísticos). Tendo em conta o declínio da biodiversidade nos ecossistemas de água doce (WWF, 2016; WWF, 2020), a ideia da prevalência de efeitos antagonísticos na biodiversidade, em especial ao nível de comunidade, parece ser uma reflexão contra-intuitiva. Isto porque a

prevalência de efeitos antagonísticos poderia atenuar a perda de diversidade, onde provavelmente resultaria numa atenuação do declive de erosão da biodiversidade.

#### **4.3 Diversidade funcional versus diversidade taxonómica**

É importante realçar que os agentes de stress influenciam a biodiversidade, contudo, os nossos resultados comprovam a hipótese de que determinadas componentes da biodiversidade conseguem identificar mais agentes de stress, como a diversidade funcional (no nosso caso a métrica dispersão funcional), quando associadas a gradientes de pressão antropogénica e natural. A análise da partição da variância mostrou que as métricas de diversidade funcional e de diversidade taxonómica respondem aos agentes de stress, pese embora a influencia residual de alguns agentes de stress. Contudo, as métricas de diversidade taxonómica apenas responderam aos agentes de stress azoto inorgânico dissolvido, oxigénio dissolvido e temperatura. A métrica de diversidade funcional permitiu identificar mais do que um agente de stress, uma vez que a dispersão funcional respondeu ao aumento da velocidade da corrente. Isto permite colocar a hipótese de que a diversidade funcional poderá ser uma excelente métrica representativa da biodiversidade. Apesar de muita da literatura, associada à ecologia, explorar a diversidade taxonómica como uma medida unidimensional da biodiversidade (Eduardo, 2016), o uso desta componente pode resultar na perda de uma parte importante de informação (Lyashevskaya & Farnsworth, 2012). Desta forma, uma vez que é difícil conservar todas as componentes da biodiversidade em simultâneo, é necessário perceber como é que as componentes (diversidade funcional, estrutural, taxonómica) se relacionam entre si (Pardo, et al., 2017), sendo por isso proposto uma componente representativa da biodiversidade. Assim, as componentes capazes de representar a biodiversidade (e.g., biodiversidade global), resultam em soluções representativas, compreensivas e adequadas que se traduzem em benefícios no estabelecimento de objetivos de conservação específicos, independentemente do número ou identidade dos organismos considerados (Brumm et al., 2021). Pollock et al (2017), demonstram que a biodiversidade pode ser alvo de medidas (como por exemplo, aumento da área de proteção em 5%) que resultam em benefícios importantes na proteção das diversas componentes da biodiversidade. Contudo, é necessário perceber a ligação entre as diversas componentes, uma vez que estas medidas podem ter limitações, como referido pelos autores. Assim, realça-se a importância de compreender as várias componentes da biodiversidade de forma a melhorar as estratégias de conservação e a alertar para a sua complexidade, uma vez que duas métricas de biodiversidade podem responder de forma diferente a um gradiente

ambiental (Gascón et al., 2009). Alguns estudos referem que as componentes da biodiversidade são complementares e fornecem informações adicionais no que diz respeito à estruturação da comunidade (Li, et al., 2019), melhorando assim a nossa compreensão sobre os mecanismos que moldam os padrões da biodiversidade (Hill et al., 2019).

Neste caso em particular, os resultados podem sugerir que a diversidade funcional é representativa da biodiversidade, se o objetivo for identificar agentes de stress associados a um gradiente. Ao mesmo tempo, convém reconhecer que as várias componentes da biodiversidade oferecem informação complementar sobre diferentes processos ecológicos e estão associadas a uma elevada complexidade (e.g., diferentes escalas espaciais e temporais, diferentes níveis de organização biológica e organismos, diferentes fatores abióticos e bióticos), como referido acima.

#### **4.4 Ambiguidade funcional: dispersão funcional vs. riqueza funcional**

Os nossos resultados indicaram que a dispersão funcional e a riqueza funcional respondem de forma diferente aos agentes de stress. Para além disso, a dispersão funcional respondeu à velocidade da corrente, enquanto que a riqueza funcional respondeu aos restantes agentes de stress (azoto inorgânico dissolvido, oxigénio dissolvido, e temperatura). Isto suporta a hipótese de que os agentes de stress afetam de forma diferente os diferentes traços funcionais.

A interpretação da resposta da dispersão funcional tem sido realizada de forma cautelosa, contudo, já foi sugerido que a dispersão pode representar um padrão não aleatório e ser determinada por variáveis regionais e locais (Colzani et al., 2013). Tendo em conta que o foco são os agentes de stress, os padrões não aleatórios que resultam dos traços funcionais devem ser interpretados como assinaturas que refletem mecanismos que usualmente são característicos da estruturação da comunidade e estão associados à determinação do nicho ecológico (Mayfield & Levine, 2010). Os filtros ambientais são resultantes de fatores abióticos ou bióticos que impedem o estabelecimento e a sobrevivência de determinados taxa (Wong, Guénard, & Lewis, 2019), e, conseqüentemente, representam um dos mecanismos que estruturam uma comunidade, resultando em grupos específicos de traços funcionais ('functional clustering', (Maire, et al., 2012). Tem sido sugerido que a dispersão funcional é capaz de revelar este agrupamento de traços funcionais (Villéger, Mason, & Mouillot, 2008; Wong, Guénard, & Lewis, 2019). A dispersão funcional é uma métrica que reflete a dominância de determinados taxa e, conseqüentemente, a abundância e a similaridade de traços funcionais, uma vez que para o cálculo da métrica é considerada a abundância das espécies, assim como a distância

(ponderada em função da abundância) entre as espécies em relação a um centroide da comunidade (Laliberté & Legendre, 2010). Estas características da dispersão funcional permitem lidar em simultâneo com dois problemas associados ao conceito de 'filtro ambiental', que são a ligação direta entre uma condição abiótica e a ausência da espécie num local (se a espécie não estiver presente não é calculada a distância, nem ponderada no estabelecimento do centroide da comunidade), assim como a interpretação das mudanças de abundância das espécies ou dos traços funcionais associados a gradientes (Kraft, et al., 2015), o que pode realçar a importância desta métrica. Desta forma, espera-se que locais com pouca dispersão funcional possuam uma maior similaridade funcional, que reflita a ação dos filtros ambientais que removem as espécies pouco adaptadas, levando à coexistência de taxa funcionalmente similares (Li, et al., 2017) e ao aumento da abundância das espécies dominantes (Maire, et al., 2012). Os filtros ambientais produzem uma convergência de cada traço funcional para valores ótimos, sendo por isso verificado uma homogeneização funcional de diferentes taxa (Gutiérrez-Cánovas et al., 2015). Firmiano et al., (2021) afirmam que os agentes de stress são capazes de selecionar um conjunto de traços da comunidade de macroinvertebrados dos ecossistemas de água doce associados à savana no Brasil, por oposição à seleção de apenas um traço funcional. Assim, pressupõe-se que a dispersão funcional é uma métrica que revela similaridade funcional, e que é capaz de traduzir os filtros ambientais.

Consequentemente, pode surgir a ideia de que similaridade funcional (perda de variabilidade de traços) pode implicar um conflito entre nichos realizados de diferentes espécies nestas comunidades. Isto leva a supor que as espécies se deveriam excluir por competição (princípio da competição exclusiva). Contudo, verificou-se em florestas tropicais que o aumento de similaridade funcional pode levar a uma vantagem competitiva de alguns traços (Craven et al., 2018). Assim, a similaridade funcional pode ser vista como uma vantagem competitiva, sendo justificada a coexistência de espécies com traços funcionais similares através da partilha de nichos preferidos, que é um conceito que supõe a coexistência entre as espécies através de um balanço ('tradeoff's) entre a capacidade de tolerar condições e a capacidade de se tornarem competitivamente dominantes (McGill et al., 2006). No estudo de Gutiérrez-Cánovas et al., (2015), os autores afirmam que a intensificação dos agentes de stress resulta em comunidades mais homogêneas (como referido anteriormente), compostas por taxa com nichos funcionais mais amplos (generalistas), o que permite inferir que a intensificação de alguns agentes de stress resulta na perda de espécies funcionalmente especializadas (Clavel, Julliard, & Devictor,

2010; Pool & Olden, 2012). Desta forma, a resposta da dispersão funcional a determinado agente de stress (e.g., hidrologia ligada à velocidade da corrente), pode indicar a provável perda de um conjunto de espécies especialistas que compõem outras áreas do espaço funcional. Como tal, a dispersão funcional pode oferecer simultaneamente informação sobre um conjunto de taxa com elevada similaridade funcional, e pressupor que dentro deste conjunto de taxa existe a prevalência de generalistas.

No nosso estudo, a riqueza funcional foi a métrica da diversidade funcional que apresentou a mesma resposta aos agentes de stress que a diversidade taxonómica. Assim, convém refletir sobre o porquê destas métricas responderem de maneira similar. Para isso, importa lembrar como é calculada a riqueza funcional, sendo considerado o espaço multidimensional que permite representar as espécies num plano com recurso à simplificação dos traços funcionais da comunidade (Villéger, Mason, & Mouillot, 2008). Por este motivo, a riqueza funcional apresenta algumas limitações, pois o cálculo não considera todas as espécies da comunidade (Legras, Loiseau, & Gaertner, 2018). Isto deve-se ao facto desta métrica ser muito sensível a *outliers*, o que leva a que se considere como homogéneo o volume resultante do cálculo da riqueza funcional (Mammola et al., 2021). Outro problema da riqueza funcional é que é influenciada pelos taxa presentes numa comunidade, o que se traduz num volume funcional dependente da quantidade de taxa presentes (Standish et al., 2021), em que alterações na diversidade de espécies pode não resultar na colonização de novas partes do espaço funcional (Ordóñez & Svenning, 2018), e consequentemente não afetar o volume funcional. Neves et al., (2019), constatou uma resposta cumulativa da riqueza funcional, que resulta num aumento pequeno do volume funcional como resposta ao aumento da riqueza. A resposta da riqueza funcional observada no nosso estudo reflete as limitações enumeradas anteriormente, e pode ter sido exacerbada pelo facto da área de estudo considerar amplos gradientes de stress. Assim, o recurso a esta técnica multivariada pode dissipar a importância da identidade das espécies, e promover a importância da riqueza em taxa. Isto leva a refletir sobre a forma como a riqueza funcional deve ser interpretada. Gutiérrez-Cánovas et al. (2015) sugerem que esta métrica espelhe filtros ambientais que resultem em padrões não aleatórios, uma vez que os filtros ambientais e a redundância funcional podem determinar a relação entre a riqueza taxonómica e a riqueza funcional (Carscadden, & Mirotnick, 2011).

Assim surge um dilema, pois a riqueza funcional e a dispersão funcional aparentam discriminar filtros ambientais. Para tal, sugerem-se três hipóteses alternativas: (1) a riqueza

funcional reflete filtros ambientais de traços funcionalmente divergentes; ou (2) a riqueza funcional não reflete filtros ambientais; ou (3) a riqueza funcional pode refletir o princípio da competição exclusiva, devido à substituição de taxa funcionalmente similares dentro de grupos funcionais. Caso a hipótese (1) seja comprovada, implica que os filtros ambientais atuem com base em dois mecanismos, um que seleciona traços funcionalmente similares (FDis) e outro que seleciona traços funcionalmente divergentes (FRic). Para o caso da FRic, os agentes de stress têm de atuar sobre os traços funcionais redundantes entre taxa e grupos funcionais, de forma a que os traços extremos sejam removidos de forma aleatória do espaço funcional, para produzir variações no volume funcional. No entanto, os traços funcionalmente redundantes têm de ser removidos com base na tolerância fisiológica, levando a um padrão aleatório de seleção de taxa com características morfológicas divergentes no espaço funcional.

Independentemente da hipótese comprovada, a riqueza funcional deverá refletir a redundância funcional nas comunidades (Súarez, et al., 2017; Schmera, Baur, & Erős, 2012). Assim, a riqueza funcional deve ser interpretada como uma métrica de abundância de grupos funcionais e de amplitude de grupos funcionais. Desta forma, a resposta da riqueza funcional no nosso estudo deve refletir a tolerância dos taxa a um determinado agente de stress, pois foram comparados locais associados a gradientes de stress.

No entanto, a interpretação sugerida da dispersão funcional não pretende misturar conceitos de ecologia funcional com conceitos de evolução, e fazer uma ligação à conservação de nicho filogenético, que se caracteriza pela transferência de nicho ecológico e traços associados ao nicho ecológico entre gerações (Prinzing et al., 2001). Pretende-se apenas alertar para o facto de apesar de haver estudos que usam o conceito de conservação de nicho filogenético com o intuito de aproximar as relações filogenéticas a métricas de dispersão de traços numa comunidade (dispersão funcional), isto pode nem sempre ser verdade (Gerhold, et al., 2015) e a comparação entre medidas filogenéticas e a dispersão funcional pode informar sobre esse pressuposto.

No nosso caso em particular, a similaridade funcional parece ser a resposta da comunidade à velocidade da corrente num determinado momento, e que pode traduzir ou não uma resposta evolutiva da comunidade. Assim, a resposta da dispersão funcional à intensificação de um agente de stress pode informar sobre a similaridade de traços funcionais numa comunidade e sobre a probabilidade de uma abundância e riqueza de taxa generalistas.

Tendo em conta as limitações do cálculo da riqueza funcional e o nosso amplo gradiente de stress, é provável que a resposta da riqueza funcional reflita a riqueza taxonómica, e como tal uma variação associada a traços que refletem a tolerância das espécies. A diferença entre as respostas das métricas funcionais, pressupõe que os diferentes agentes de stress afetam de forma diferente os traços funcionais, comprovando a hipótese inicialmente proposta.

## 5. **Conclusão**

Os agentes de stress identificados no nosso estudo, relacionados com as pressões antropogénicas e as pressões naturais, têm sido observados a nível global, e, no nosso caso, conduziram ao declínio da biodiversidade taxonómica e funcional. Os nossos resultados estão de acordo com as observações ao nível Europeu, onde o estado ecológico dos rios pode ser explicado por múltiplos agentes de stress. Estes agentes de stress podem resultar de diferentes combinações espaciais (e.g., pressões locais e ao nível de bacia) e refletem diferentes pressões antropogénicas (e.g., alterações hidromorfológicas, nutrientes e uso do solo (Grizzetti, et al., 2017) e naturais. No nosso caso, os resultados indicaram que o azoto inorgânico dissolvido foi o agente de stress com maior impacto na biodiversidade e reflete a maior pressão antropogénica observada na área de estudo.

O impacto de agentes de stress múltiplos na biodiversidade é um tema complexo e tem sido abordado de uma forma pouco sistematizada, que resulta da elevada complexidade da biodiversidade, assim como da complexidade associada aos potenciais efeitos interativos entre os agentes de stress. Os nossos resultados apontaram para a prevalência de efeitos aditivos ao nível da diversidade da comunidade nos ecossistemas aquáticos, ao contrário dos efeitos antagonistas inicialmente previstos. Na discussão surgiu a ideia de que poucos estudos estabelecem a ligação entre a quantificação de métricas de diversidade ao nível da comunidade (e.g., riqueza, Hill Shannon) nos ecossistemas fluviais. Os macroinvertebrados podem ser um grupo de organismos alvo para este tipo de estudos, uma vez que são um grupo com uma elevada riqueza. Assim, estes organismos permitem estabelecer a ligação entre métricas de diversidade ao nível de comunidade e a resposta a agentes de stress múltiplos nos ecossistemas de água doce de uma forma robusta devido à sua elevada riqueza taxonómica e funcional.

O uso da dispersão funcional pode ser relevante, uma vez que permite caracterizar as alterações da abundância de taxa e respetivos traços funcionais. Desta forma, a dispersão funcional permite identificar filtros ambientais, assim como locais com taxa funcionalmente similares, podendo também oferecer informação relativa à perda de taxa especialistas (ou a probabilidade de dominância de taxa generalistas).

Este estudo procura enfatizar a importância de estabelecer componentes da biodiversidade que funcionam como aproximação à biodiversidade global, de forma a facilitar a biomonitorização e a conservação. Contudo, é necessário continuar a estudar as diferentes

componentes da biodiversidade uma vez que providenciam informação ecologicamente relevante e complementar. Tendo em conta que é provável que as pressões antropogénicas e climáticas aumentem no futuro, é certamente importante projetar as consequências para o futuro. Assim, é esperado que vários problemas como o aumento da exposição a novos agentes de stress ou o aumento de efeitos devido a eventos extremos (e.g., secas, cheias, ondas de calor) levem ao agravamento dos efeitos observados e ao aumento da perda de biodiversidade.

## 6. **Referências bibliográficas**

- A.P.H.A., A. P., A.W.W.A., A. W., & W.E.F, W. E. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Vol. 23rd Edition). (R. Baird, A. Eaton, & E. Rice, Edits.) Washington, DC: American Public Health Association.
- Adom, D., Umachandran, K., Ziarati, P., Sawicka, B., & Sekyere, P. (2019). The concept of biodiversity and its relevance to mankind: a short review. *Journal of Agriculture and Sustainability* 12, pp. 219-231.
- Agência Portuguesa do Ambiente. (2015). *Plano de Gestão de Região Hidrográfica, Parte 2 - Caracterização e Diagnóstico*. Região Hidrográfica do Minho e Lima (RH1).
- Agência Portuguesa do Ambiente. (2016). *Plano de Gestão de Região Hidrográfica, Parte 2 - Caracterização e Diagnóstico*. Região Hidrográfica do Cávado, Ave e Leça (RH2).
- Alba-Tercedor, J., & Sánchez-Ortega, A. (1988). Un método rápido y simple para evaluar la calidad biológica de las aguas corrientes basado en el de Hellawell (1978). *Limnética* 4, pp. 51-56.
- Alcoforado, M.-J. (1991). O Clima de Portugal. Diversidade climática de Portugal Continental. Em S. Reis, J. A. França, J. P. Brito, J. Gaspar, A. Carvalho, M. Mota, . . . F. Lourenço, *Enciclopédia Temática de Portugal Moderno* (Vol. 7: Geografia, p. 217). Lisboa, Portugal: POMO.
- Allan, J. (1995). *Stream ecology, structure and function in running waters*. London: Chapman & Hall.
- Allan, J., & Castillo, M. (2007). *Stream Ecology*. Netherlands, Dordrecht: Springer.
- Asaad, I., Lundquist, C., Erdmann, M., & Costello, M. (2017). Ecological criteria to identify areas for biodiversity conservation. *Biological Conservation* 213, pp. 309-316. doi:10.1016/j.biocon.2016.10.007.
- Aspin, T., Khamis, K., Matthews, T. J., Milner, A., O'Callaghan, M., Trimmer, M., . . . Ledger, M. (2019). Extreme drought pushes stream invertebrate communities over functional thresholds. *Global Change Biology* 25, pp. 230-244. doi:10.1111/gcb.14495.

- Aznar-Sánchez, J., Velasco-Muñoz, J., Belmonte-Ureña, L., & Manzano-Agugliaro, F. (2019). The worldwide research trends on water ecosystem services. *Ecological Indicators* 99, pp. 310-323. doi:10.1016/j.ecolind.2018.12.045.
- Barton, K. (2020). MuMIn: Multi-Model Inference. *R package version 1 (43)*, p. 17. Obtido de <https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn>.
- Bastos, R., Brasil, L., Oliveira-Junior, J., Carvalho, F., Lennox, G., Barlow, J., & Juen, L. (2021). Morphological and phylogenetic factors structure the distribution of damselfly and dragonfly species (Odonata) along an environmental gradient in Amazonian streams. *Ecological Indicators* 124, p. (107388). doi:10.1016/j.ecolind.2021.107388.
- Beauchard, O., Gagneur, J., & Brosse, S. (2003). Macroinvertebrate richness patterns in North African streams. *Journal of Biogeography* 30, pp. 1821–1833.
- Belle, C., Stoeckle, B., & Geist, J. (2019). Taxonomic and geographical representation of freshwater environmental DNA research in aquatic conservation. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, pp. 1996-2009. doi:10.1002/aqc.3208.
- Bertrand, Y., Pleijel, F., & Rouse, G. (2006). Taxonomic surrogacy in biodiversity assessments, and the meaning of Linnaean ranks. *Systematics and Biodiversity* 4, pp. 149–159. doi:10.1017/S1477200005001908.
- Bevilacqua, S., Terlizzi, A., Claudet, J., Fraschetti, S., & Boero, F. (2012). Taxonomic relatedness does not matter for species surrogacy in the assessment of community responses to environmental drivers. *Journal of Applied Ecology* 49, pp. 357–366. doi:10.1111/j.1365-2664.2011.02096.x.
- Bieroza, M., Bol, R., & Glendell, M. (2021). What is the deal with the Green Deal: Will the new strategy help to improve European freshwater quality beyond the Water Framework Directive? *Science of the Total Environment* 791, pp. 1-8(148080). doi:10.1016/j.scitotenv.2021.148080.
- Biggs, B. (2000). Eutrophication of streams and rivers: dissolved nutrient–chlorophyll relationships for benthic algae. *Journal of the North American Benthological Society* 19, pp. 17–31.

- Biggs, C., Yeager, L., Boiser, D., Bonsell, C., Dichiera, A., Hou, Z., . . . Erisman, B. (2020). Does functional redundancy affect ecological stability and resilience? A review and meta-analysis. *Ecosphere* *11*, p. e03184. doi:10.1002/ecs2.3184.
- Birk, S., Chapman, D., Carvalho, L., & et al. (2020). Impacts of multiple stressors on freshwater biota across spatial scales and ecosystems. *Nature Ecology & Evolution* *4*, pp. 1060-1068. doi:10.1038/s41559-020-1216-4.
- Bonada, N., Prat, N., Resh, V., & Statzner, B. (2006). Developments in aquatic insect biomonitoring: a comparative analysis of recent approaches. *Annual Review of Entomology* *51*, pp. 495-523. doi:10.1146/annurev.ento.51.110104.151124.
- Briers, R., & Gee, J. (2004). Riparian forestry management and adult stream insects. *Hydrology and Earth System Sciences* *8*, pp. 545–549. doi:10.5194/hess-8-545-2004.
- Brumm, K., Hanks, R., Baldwin, R., & Peoples, B. (2021). Accounting for multiple dimensions of biodiversity to assess surrogate performance in a freshwater conservation prioritization. *Ecological Indicators* *122*, p. 107320. doi:10.1016/j.ecolind.2020.107320.
- Burgazzi, G., Laini, A., Ovaskainen, O., Saccò, M., Stubbington, R., & Viaroli, P. (2020). Communities in high definition: Spatial and environmental factors shape the micro-distribution of aquatic invertebrates. *Freshwater Biology* *65*, pp. 2053–2065. doi:10.1111/fwb.13599.
- Burgess, B., Purves, D., Mace, G., & Murrell, D. (2021). Classifying ecosystem stressor interactions: Theory highlights the data limitations of the additive null model and the difficulty in revealing ecological surprises. *Global Change Biology* *27*, pp. 3052–3065. doi:10.1111/gcb.15630.
- Burnham, K., & Anderson, D. (2002). *Model Selection and Multimodel Inference*. New York, NY, USA: Springer-Verlag.
- Cadotte, M., Carscadden, K., & Mirotnick, N. (2011). Beyond species: functional diversity and the maintenance of ecological processes and services. *Journal of Applied Ecology* *48*, pp. 1079–1087. doi: 10.1111/j.1365-2664.2011.02048.x.
- Calapez, A., Branco, P., Santos, J., Ferreira, T., Hein, T., Brito, A., & Feio, M. (2017). Macroinvertebrate short-term responses to flow variation and oxygen depletion: A

- mesocosm approach. *Science of the Total Environment*, pp. 1202–1212. doi:10.1016/j.scitotenv.2017.05.056.
- Camargo, J., Alonso, A., & Salamanca, A. (2005). Nitrate toxicity to aquatic animals: a review with new data for freshwater invertebrates. *Chemosphere* 58, pp. 1255-1267. doi:10.1016/j.chemosphere.2004.10.044.
- Cardoso, P., Rigal, F., Carvalho, J., Fortelius, M., Borges, P., Podani, J., & Schmera, D. (2014). Partitioning taxon, phylogenetic and functional beta diversity into replacement and richness difference components. *Journal of Biogeography* 41, pp. 749-761. doi:10.1111/jbi.12239
- Caro, C., Pinto, R., & Marques, J. (2018). Use and usefulness of open source spatial databases for the assessment and management of European coastal and marine ecosystem services. *Ecological Indicators* 95, pp. 41-52. doi:10.1016/j.ecolind.2018.06.070.
- Carpenter, S., Caraco, N., Correll, D., Howarth, R., Sharpley, A., & Smith, V. (1998). NONPOINT POLLUTION OF SURFACE WATERS WITH PHOSPHORUS AND NITROGEN. *Ecological Applications* 8, pp. 559-568. doi:10.1890/1051-0761(1998)008[0559:NPOSWW]2.0.CO;2.
- Castro-Català, N., Dolédec, S., Kalogianni, E., Skoulikidis, N., Paunovic, M., Vasiljević, B., . . . Muñoz, I. (2020). Unravelling the effects of multiple stressors on diatom and macroinvertebrate communities in European river basins using structural and functional approaches. *Science of the Total Environment* 742, pp. 1-12. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.140543.
- Ceballos, G., & Ehrlich, P. (2002). Mammal population losses and the extinction crisis. *Science* 296, pp. 904–907. doi:10.1126/science.1069349.
- Chao, A., Chiu, C., & Jost, L. (2014). Unifying species diversity, phylogenetic diversity, functional diversity, and related similarity and differentiation measures through hill numbers. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 45, pp. 297–324. doi:10.1146/annurev-ecolsys-120213-091540.

- Christiansen, N. (1997). *The Ecological Basis of Conservation*. (S. Pickett, R. Ostfeld, M. Schachak, & G. Likens, Edits.) New York, U.S.A.: Chapman and Hall. doi:10.1007/978-1-4615-6003-6.
- Cisneros, L., Fagan, M., & Willig, M. (2015). Effects of human-modified landscapes on taxonomic, functional and phylogenetic dimensions of bat biodiversity. *Diversity and Distributions* 21, pp. 523-533. doi:10.1111/ddi.12277.
- Clavel, J., Julliard, R., & Devictor, V. (2010). Worldwide decline of specialist species: toward a global functional homogenization? *Frontiers in Ecology and the Environment* 9, pp. 222-228. doi:10.1890/080216.
- Colzani, E., Siqueira, T., Suriano, M., & Roque, F. (2013). Responses of Aquatic Insect Functional Diversity to Landscape Changes in Atlantic Forest. *Biotropica* 45, pp. 343-350. doi:10.1111/btp.12022.
- Connolly, N., Crossland, M., & Pearson, R. (2004). Effect of low dissolved oxygen on survival, emergence, and drift of tropical stream macroinvertebrates. *Journal of the North American Benthological Society* 23, pp. 251-270. doi:10.1899/0887-3593(2004)023<0251:EOLDOO>2.0.CO;2.
- Cook, S., Housley, L., Back, J., & King, R. (2018). Freshwater eutrophication drives sharp reductions in temporal beta diversity. *Ecology* 99, pp. 47–56. doi:10.1002/ecy.2069.
- Cooke, S., Sack, L., Franklin, C., Farrell, A. B., Wikelski, M., & Chown, S. (2013). What is conservation physiology? Perspectives on an increasingly integrated and essential science. *Conservation Physiology* 1, pp. 1-23 (cot001). doi:10.1093/conphys/cot001.
- Costa, H., Almeida, D., Vala, F., Marcelino, F., & Caetano, M. (2018). Land Cover Mapping from Remotely Sensed and Auxiliary Data for Harmonized Official Statistics. *ISPRS International Journal of Geo-Information* 7, p. (157). doi:10.3390/ijgi7040157.
- Côté, I., Darling, E., & Brown, C. (2016). Interactions among ecosystem stressors and their importance in conservation. *Proceedings of the Royal Society B* 283(20152592). doi:10.1098/rspb.2015.2592.
- Cousins, S. (1991). Species diversity measurement: Choosing the right index. *Trends in Ecology & Evolution* 6, pp. 190-192. doi:10.1016/0169-5347(91)90212-G.

- Covich, A., Palmer, M., & Crowl, T. (1999). The Role of Benthic Invertebrate Species in Freshwater Ecosystems: Zoobenthic species influence energy flows and nutrient cycling. *BioScience* 49, pp. 119-127. doi:10.2307/1313537.
- Crain, C., Kroeker, K., & Halpern, B. (2008). Interactive and cumulative effects of multiple human stressors in marine systems. *Ecology Letters* 11, pp. 1304-1315. doi:10.1111/j.1461-0248.2008.01253.x.
- Craven, D., Hall, J., Berlyn, G., Ashton, M., & Breugel, M. (2018). Environmental filtering limits functional diversity during succession in a seasonally wet tropical secondary forest. *Journal of Vegetation Science* 29, pp. 511-520. doi:10.1111/jvs.12632.
- Crutzen, P. J. (2006). The 'Anthropocene'. In E. Ehlers, T. Krafft, & (Eds.), *Earth System Science in the Anthropocene* (pp. 13-18). Berlin, Heidelberg: Springer. doi:10.1007/3-540-26590-2\_3.
- Diamond, J. (1989). The present, past and future of human-caused extinctions. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B. Biological Sciences* 325, pp. 469-477. doi:10.1098/rstb.1989.0100.
- Díaz, S., & Cabido, M. (2001). Vive la différence: plant functional diversity matters to ecosystem processes. *Trends in Ecology & Evolution* 16, pp. 646-655. doi:10.1016/S0169-5347(01)02283-2
- Díaz, S., Settele, J., Brondizio, E., Ngo, H., Guèze, M., Agard, J., . . . Purvis, A. (2019). *Summary for policymakers of the global assessment report on biodiversity and ecosystem services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services - assessment Key messages.*
- Dieleman, W., Vicca, S., Dijkstra, F., Hagedorn, F., Hovenden, M., Larsen, K., . . . Janssens, I. (2012). Simple additive effects are rare: a quantitative review of plant biomass and soil process responses to combined manipulations of CO<sub>2</sub> and temperature. *Global Change Biology* 18, pp. 2681-2693. doi:10.1111/j.1365-2486.2012.02745.x.
- Ding, N., Yang, W., Zhou, Y., González-Bergonzoni, I., Zhang, J., Chen, K., . . . Wang, B. (2017). Different responses of functional traits and diversity of stream macroinvertebrates to environmental and spatial factors in the Xishuangbanna watershed of the upper Mekong

- River Basin, China. *Science of The Total Environment* 574, pp. 288-299. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.09.053.
- Dray, S., Dufour, A.-B., Thioulouse, J., Jombart, T., Pavoine, S., Lobry, J., . . . Chessel, D. (2021). Analysis of Ecological Data: Exploratory and Euclidean Methods in Environmental Sciences. *R package version 1.7-18*. Obtido de <http://pbil.univ-lyon1.fr/ADE-4/>
- Dudgeon, D., Arthington, A., Gessner, M., Kawabata, Z., Knowler, D., Lévêque, C., . . . Stiassny, M. S. (2006). Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Reviews* 81, pp. 163-182. doi:10.1017/S1464793105006950.
- Eduardo, A. (2016). Multiple dimensionsofbiodiversityandecosystemprocesses: Exploring thejointinfluence ofintraspecific, specific andinterspecific diversity. *Journal of Theoretical Biology* 404, pp. 215–221. doi:10.1016/j.jtbi.2016.06.004.
- Ekau, W., Auel, H., Pörtner, H.-O., & Gilbert, D. (2010). Impacts of hypoxia on the structure and processes in pelagic communities (zooplankton, macro-invertebrates and fish). *Biogeosciences* 7, pp. 1669–1699. doi:10.5194/bg-7-1669-2010.
- Elbrecht, V., Beermann, A., Goessler, G., Neumann, J., Tollrian, R., Wagner, R., . . . Leese, F. (2016). Multiple-stressor effects on stream invertebrates: a mesocosm experiment manipulating nutrients, fine sediment and flow velocity. *Freshwater Biology* 61, pp. 362-375. doi:10.1111/fwb.12713.
- Ellis, D. (1985). Taxonomic sufficiency in pollution assessment. *Marine Pollution Bulletin* 16, p. 459. doi:10.1016/0025-326X(85)90362-5.
- Elmqvist, T., Folke, C., Nystrom, M., Peterson, G., Bengtsson, J., Walker, B., & Norberg, J. (2003). Response diversity, ecosystem change, and resilience. *Frontiers in Ecology and the Environment* 1, pp. 488-494. doi:10.1890/1540-9295(2003)001[0488:RDECAR]2.0.CO;2.
- European Environment Agency. (2018). *European waters: Assessment of status and pressures 2018*. Luxemburgo: Publications Office of the European Union. doi:10.2800/303664.
- Feld, C. (2004). Identification and measure of hydromorphological degradation in Central European lowland streams. *Hydrobiologia* 516, pp. 69-90.

- Figuerola, J., López-Rodríguez, M., & Villar-Argaiz, M. (2019). Spatial and seasonal variability in the trophic role of aquatic insects: An assessment of functional feeding group applicability. *Freshwater Biology* 64, pp. 1-13. doi:10.1111/fwb.13277.
- Firmiano, K., Castro, D., Linares, M., & Callisto, M. (2021). Functional responses of aquatic invertebrates to anthropogenic stressors in riparian zones of Neotropical savanna streams. *Science of The Total Environment* 753, p. 141865. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.141865.
- Fontana, S., Petchey, O., & Pomati, F. (2016). Individual-level trait diversity concepts and indices to comprehensively describe community change in multidimensional trait space. *Functional Ecology* 30, pp. 808–818. doi:10.1111/1365-2435.12551.
- Friberg, N., Bonada, N., Bradley, D., Dunbar, M., Edwards, F., Grey, J., . . . Woodward, G. (2011). Biomonitoring of human impacts in freshwater ecosystems: the good, the bad and the ugly. *Advances in Ecological Research* 44, pp. 1-68. doi:10.1016/B978-0-12-374794-5.00001-8.
- Friberg, N., Skriver, J., Larsen, S., Pedersen, M., & Buffagni, A. (2010). Stream macroinvertebrate occurrence along gradients in organic pollution and eutrophication. *Freshwater Biology* 55, pp. 1405–1419. doi:10.1111/j.1365-2427.2008.02164.x.
- Gál, B., Szivák, I., Heino, J., & Schmera, D. (2019). The effect of urbanization on freshwater macroinvertebrates – Knowledge gaps and future research directions. *Ecological Indicators* 104, pp. 357-364. doi:10.1016/j.ecolind.2019.05.012.
- Gascón, S., Boix, D., Sala, J., & Quintana, X. (2009). Are different biodiversity metrics related to the same factor? A case study from Mediterranean wetlands. *Biological Conservation* 142, pp. 2602–2612. doi:10.1016/j.biocon.2009.06.008
- Gauch, H. J., & Whittaker, R. (1972). Coenocline Simulation. *Ecology* 53, pp. 446-451. doi:10.2307/1934231.
- Gerhold, P., Cahill Jr., J., Winter, M., Bartish, I., & Prinzing, A. (2015). Phylogenetic patterns are not proxies of community assembly mechanisms (they are far better). *Functional Ecology* 29, pp. 600-614. doi:10.1111/1365-2435.12425.

- Gieswein, A., Hering, D., & Feld, C. (2017). Additive effects prevail: The response of biota to multiple stressors in an intensively monitored watershed. *Science of the Total Environment* 593-594, pp. 27-35. doi:10.1016/j.scitotenv.2017.03.116.
- Giller, P., & Malmqvist, B. (1998). *The biology of streams and rivers*. Oxford: Oxford University Press.
- Giulivo, M., Stella, E., Capri, E., Esnaola, A., Alda, M., Diaz-Cruz, S., . . . Bellin, A. (2019). Assessing the effects of hydrological and chemical stressors on macroinvertebrate community in an Alpine river: The Adige River as a case study. *River Research and Applications* 35, pp. 78-87. doi:10.1002/rra.3367.
- Gordon, N., McMahon, T., Finlayson, B., Gippel, C., & Nathan, R. (2004). *Stream Hydrology An Introduction for Ecologists*. The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex, England: John Wiley & Sons, Ltd.
- Graça, M., Coimbra, N., Carvalho, M., Oliveira, R., & Abelho, M. (2002). Freshwater macroinvertebrates in the Mondego river basin. Em M. Pardal, J. Marques, & M. Graça, *Aquatic ecology of the Mondego River Basin: Global importance of local experience* (pp. 115-124). Coimbra, Portugal: Imprensa da Universidade de Coimbra.
- Grenié, M., Violle, C., & Munoz, F. (2020). Is prediction of species richness from stacked species distribution models biased by habitat saturation? *Ecological Indicators* 111, pp. 1-8. doi:10.1016/j.ecolind.2019.105970.
- Grizzetti, B., Pistocchi, A., Liqueste, C., Udias, A., Bouraoui, F., & van de Bund, W. (2017). Human pressures and ecological status of European rivers. *Scientific Reports* 7, p. 205. doi:10.1038/s41598-017-00324-3.
- Gunderson, A., Armstrong, E., & Stillman, J. (2016). Multiple Stressors in a Changing World: The Need for an Improved Perspective on Physiological Responses to the Dynamic Marine Environment. *Annual Review of Marine Science* 8, pp. 357-378. doi:10.1146/annurev-marine-122414-033953.
- Guo, C., & Xu, H. (2019). Use of functional distinctness of periphytic ciliates for monitoring water quality in coastal ecosystems. *Ecological Indicators* 96, pp. 213-218. doi:10.1016/j.ecolind.2018.09.008.

- Gutiérrez-Cánovas, C., Sánchez-Fernández, D., Velasco, J., Millán, A., & Bonada, N. (2015). Similarity in the difference: changes in community functional features along natural and anthropogenic stress gradients. *Ecology* *96*, pp. 2458–2466. doi:10.1890/14-1447.1.
- Harper, M., & Peckarsky, B. (2006). Emergence cues of a mayfly in a high-altitude stream ecosystem: potential response to climate change. *Ecological Applications* *16*, pp. 612-621. doi:10.1890/1051-0761(2006)016[0612:ecoami]2.0.co;2.
- Hauer, F. R., & Resh, V. (2017). Chapter 15 - Macroinvertebrates. Em F. Hauer, & G. Lamberti, *Methods in Stream Ecology* (p. 506). Cambridge, Massachusetts, U.S.A.: Academic Press.
- Hauer, F., & Resh, V. (2006). Chapter 20 - Macroinvertebrates. Em F. Hauer, & G. Lamberti, *Methods in Stream Ecology* (Second Edition ed., p. 896). Cambridge, Massachusetts, U.S.A.: Academic Press, Elsevier.
- Heino, J. (2014). Taxonomic surrogacy, numerical resolution and responses of stream macroinvertebrate communities to ecological gradients: Are the inferences transferable among regions? *Ecological Indicators* *36*, pp. 186– 194. doi:10.1016/j.ecolind.2013.07.022.
- Hering, D., Carvalho, L., Argillier, C., Beklioglu, M., Borja, A., Cardoso, A., . . . Birk, S. (2015). Managing aquatic ecosystems and water resources under multiple stress-an introduction to the MARS project. *Science of the Total Environment* *503-504*, pp. 10-21. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.06.106.
- Hill, M. (1973). Diversity and evenness: a unifying notation and its consequences. *Ecology* *54*, pp. 427–432. doi:10.2307/1934352.
- Hill, M., Heino, J., White, J., Ryves, D., & Wood, P. (2019). Environmental factors are primary determinants of different facets of pond macroinvertebrate alpha and beta diversity in a human-modified landscape. *Biological Conservation* *237*, pp. 348–357. doi:10.1016/j.biocon.2019.07.015.
- Hoffman, G., & Schadt, E. (2016). variancePartition: interpreting drivers of variation in complex gene expression studies. *BMC Bioinformatics* *17*, pp. 1-13. doi:10.1186/s12859-016-1323-z.

- INAG, I. (2008). *Manual para a avaliação biológica da qualidade da água em sistemas fluviais segundo a Directiva Quadro da Água Protocolo de amostragem e análise para os macroinvertebrados bentónicos*. Instituto da Água, I.P., Ministério do Ambiente, Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional.
- Isaza, D., Cramp, R., & Franklin, C. (2020). Living in polluted waters: A meta-analysis of the effects of nitrate and interactions with other environmental stressors on freshwater taxa\*. *Environmental Pollution* 261, p. 114091. doi:10.1016/j.envpol.2020.114091.
- Izsák, J. (2005). Parameter dependence of correlation between the Shannon index and members of parametric diversity index family. *Ecological Indicators* 7, pp. 181-194. doi:10.1016/j.ecolind.2005.12.001
- Jackson, M. (2015). Interactions among multiple invasive animals. *Ecology* 96, pp. 2035–2041. doi:10.1890/15-0171.1.
- Jackson, M., Loewen, C., Vinebrooke, R., & Chimimba, C. (2016). Net effects of multiple stressors in freshwater ecosystems: a meta-analysis. *Global Change Biology* 22, pp. 180-189. doi:10.1111/gcb.13028.
- Jacobsen, D. (2008). Low oxygen pressure as a driving factor for the altitudinal decline in taxon richness of stream macroinvertebrates. *Oecologia* 154, pp. 795–807. doi:10.1007/s00442-007-0877-x.
- Jaishanker, R., Vishnu, M., Sajeev, C., Sooraj, N., Athira, K., Sarojkumar, V., . . . Dadhwal, V. (2021). Biodiversity clock and conservation triangle: Integrative platform for biodiversity monitoring, evaluation, and preemptive conservation intervention. *Environmental and Sustainability Indicators* 11: (100137), pp. 1-10. doi:10.1016/j.indic.2021.100137.
- Jarzyna, M., & Jetz, W. (2016). Detecting the Multiple Facets of Biodiversity. *Trends in Ecology & Evolution* 31, pp. 527-538. doi:10.1016/j.tree.2016.04.002.
- Johnson, A. (2019). Is freshwater macroinvertebrate biodiversity being harmed by synthetic chemicals in municipal wastewater? *Current Opinion in Environmental Science & Health* 11, pp. 8-12. doi:10.1016/j.coesh.2019.05.005.

- Jones, F. (2008). Taxonomic sufficiency: The influence of taxonomic resolution on freshwater bioassessments using benthic macroinvertebrates. *Environmental Reviews* 16, pp. 45-69. doi:10.1139/A07-010.
- Jost, L. (2007). Partitioning diversity into independent alpha and beta components. *Ecology* 88, pp. 2427-2439. doi:10.1890/06-1736.1.
- Kärcher, O., Hering, D., Frank, K., & Markovic, D. (2019). Freshwater species distributions along thermal gradients. *Ecology and Evolution* 9, pp. 111–124. doi:10.1002/ece3.4659.
- Kath, J., Thomson, J., Thompson, R., Kefford, B., Dyer, F., & Nally, R. (2018). Interactions among stressors may be weak: Implications for management of freshwater macroinvertebrate communities. *Diversity and Distributions* 24, pp. 939–950. doi:10.1111/ddi.12737.
- Kooijman, S. (2010). *Dynamic energy budget theory for metabolic organisation*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Körner, C. (1993). *Biodiversity and Ecosystem Functioning*. (E.-D. Schulze, & H. Mooney, Edits.) Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. doi:10.1007/978-3-642-58001-7.
- Kraft, N., Adler, P., Godoy, O., James, E., Fuller, S., & Levine, J. (2015). Community assembly, coexistence and the environmental filtering metaphor. *Functional Ecology* 29, pp. 592–599. doi:10.1111/1365-2435.12345.
- Kuczynski, L., Côte, J., Toussaint, A., Brosse, S., Buisson, L., & Grenouillet, G. (2018). Spatial mismatch in morphological, ecological and phylogenetic diversity, in historical and contemporary European freshwater fish faunas. *Ecography* 41, pp. 1665-1674. doi:10.1111/ecog.03611.
- Kuehn, K. (2016). Lentic and lotic habitats as templates for fungal communities: traits, adaptations, and their significance to litter decomposition within freshwater ecosystems. *Fungal Ecology* 19, pp. 135-154. doi:10.1016/j.funeco.2015.09.009.
- Laliberté, E., & Legendre, P. (2010). A distance-based framework for measuring functional diversity from multiple traits. *Ecology* 91, pp. 299-305. doi:10.1890/08-2244.1.

- Lancaster, J., Bradley, D., Hogan, A., & Waldron, S. (2005). Intraguild omnivory in predatory stream insects. *Journal of Animal Ecology* 74, pp. 619-629. doi:10.1111/j.1365-2656.2005.00957.x.
- Laranjeiro, F., Sánchez-Marín, P., Galante-Oliveira, S., & Barroso, C. (2015). Tributyltin pollution biomonitoring under the Water Framework Directive: Proposal of a multi-species tool to assess the ecological quality status of EU water bodies. *Ecological Indicators* 57, pp. 525-535. doi:10.1016/j.ecolind.2015.04.039.
- Larras, F., & Usseglio-Polatera, P. (2020). Heterogeneity in macroinvertebrate sampling strategy introduces variability in community characterization and stream trait-based biomonitoring: Influence of sampling effort and habitat selection criteria. *Ecological Indicators* 119, p. (106758). doi:10.1016/j.ecolind.2020.106758.
- Legras, G., Loiseau, N., & Gaertner, J.-C. (2018). Functional richness: Overview of indices and underlying concepts. *Acta Oecologica* 87, pp. 34–44. doi:10.1016/j.actao.2018.02.007.
- Lehner, B., & Döll, P. (2004). Development and validation of a global database of lakes, reservoirs and wetlands. *Journal of Hydrology* 296, pp. 1-22. doi:10.1016/j.jhydrol.2004.03.028.
- Li, D. (2021). Diversity Through Hill Numbers. *R package version 0.5.1*. Obtido de <https://github.com/daijiang/hillR>.
- Li, Y., Shipley, B., Price, J., Dantas, V., Tamme, R., Westoby, M., . . . Cianciar. (2017). Habitat filtering determines the functional niche occupancy of plant communities worldwide. *Journal of Ecology* 106, pp. 1001-1009. doi:10.1111/1365-2745.12802.
- Li, Z., Jiang, X., Wang, J., Meng, X., Heino, J., & Xie, Z. (2019). Multiple facets of stream macroinvertebrate alpha diversity are driven by different ecological factors across an extensive altitudinal gradient. *Ecology and Evolution* 9, pp. 1306–1322. doi:10.1002/ece3.4841.
- Liu, C., Li, Y., Yan, P., & He, N. (2021). How to Improve the Predictions of Plant Functional Traits on Ecosystem Functioning? *Frontiers in Plant Science* 12, pp. 1-5. doi:10.3389/fpls.2021.622260.

- Liu, L., Xu, Z., Yang, F., Yin, X., Wu, W., & Li, J. (2020). Comparison of Fish, Macroinvertebrates and Diatom Communities in Response to Environmental Variation in the Wei River Basin, China. *Water* 12, p. 3422. doi:10.3390/w12123422.
- Lock, M., Skidmore, A., van Duren, I., & Mùcher, C. (2021). Evidence-based alignment of conservation policies with remote sensing-enabled essential biodiversity variables. *Ecological Indicators* 132, p. (108272). doi:10.1016/j.ecolind.2021.108272.
- Lowell, R., & Culp, J. (1999). Cumulative effects of multiple effluent and low dissolved oxygen stressors on mayflies at cold temperatures. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 56, pp. 1624–1630.
- Lyashevskaya, O., & Farnsworth, K. (2012). How many dimensions of biodiversity do we need? *Ecological Indicators* 18, pp. 485–492. doi:10.1016/j.ecolind.2011.12.016.
- Magurran, A. (2004). *Measuring Biological Diversity*. Oxford: Blackwell Publishing Company.
- Maire, E., Grenouillet, G., Brosse, S., & Villéger, S. (2015). How many dimensions are needed to accurately assess functional diversity? A pragmatic approach for assessing the quality of functional spaces. *Global Ecology and Biogeography* 24, pp. 728-740. doi:10.1111/geb.12299.
- Maire, V., Gross, N., Börger, L., Proulx, R., Wirth, C., Pontes, L., . . . Louault, F. (2012). Habitat filtering and niche differentiation jointly explain species relative abundance within grassland communities along fertility and disturbance gradients. *New Phytologist* 196, pp. 497–509. doi:10.1111/j.1469-8137.2012.04287.x.
- Malaterre, C., Dussault, A., Mermans, E., Barker, G., Beisner, B., Bouchard, F., . . . Suttle, C. (2019). Functional Diversity: An Epistemic Roadmap. *BioScience* 69, pp. 800-811. doi:10.1093/biosci/biz089.
- Mammola, S., Carmona, C., Guillerme, T., & Cardoso, P. (2021). Concepts and applications in functional diversity. *Functional Ecology* 35, pp. 1869-1885. doi:10.1111/1365-2435.13882.
- Margules, C., & Pressey, R. (2000). Systematic conservation planning. *Nature* 405, pp. 243-253. doi:10.1038/35012251.

- Marshall, J., Steward, A., & Harch, B. (2006). Taxonomic Resolution and Quantification of Freshwater Macroinvertebrate Samples from an Australian Dryland River: The Benefits and Costs of Using Species Abundance Data. *Hydrobiologia* 572, pp. 171–194. doi:10.1007/s10750-005-9007-0.
- Matthaei, C., Piggott, J., & Townsend, C. (2010). Multiple stressors in agricultural streams: interactions among sediment addition, nutrient enrichment and water abstraction. *Journal of Applied Ecology* 47, pp. 639-649. doi:10.1111/j.1365-2664.2010.01809.x.
- Matthaei, C., Weller, F., Kelly, D., & Townsend, C. (2006). Impacts of fine sediment addition to tussock, pasture, dairy and deer farming streams in New Zealand. *Freshwater Biology* 51, pp. 2154-2172. doi:10.1111/j.1365-2427.2006.01643.x.
- Maturo, F. (2018). Unsupervised classification of ecological communities ranked according to their biodiversity patterns via a functional principal component decomposition of Hill's numbers integral functions. *Ecological Indicators* 90, pp. 305-315. doi:10.1016/j.ecolind.2018.03.013.
- Mayfield, M., & Levine, J. (2010). Opposing effects of competitive exclusion on the phylogenetic structure of communities. *Ecology Letters* 13, pp. 1085-1093. doi:10.1111/j.1461-0248.2010.01509.x.
- McGill, B., Enquist, B., Weiher, E., & Westoby, M. (2006). Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology & Evolution* 21, pp. 178-185. doi:10.1016/j.tree.2006.02.002.
- McNeely, J., Miller, K., Reid, W., Mittermeier, R., & Werner, T. (1990). *Conserving the World's Biological Diversity*. IUCN, World Resources Institute, Conservation International, WWF-US and the World Bank: Washington, DC.
- Mendiburu, F. (2021). Statistical Procedures for Agricultural Research. *R package version 1.3-5*.
- Mermillod-Blondin, F. (2011). The functional significance of bioturbation and biodeposition on biogeochemical processes at the water–sediment interface in freshwater and marine ecosystems. *Journal of the North American Benthological Society (1986-2011)*, pp. 770-778. doi:10.1899/10-121.1.

- Millennium Ecosystem Assessment. (2005). *Ecosystems and Human Well-being: Synthesis*. Washington, DC: Island Press.
- Min, J.-K., & Kong, D.-S. (2020). Distribution patterns of benthic macroinvertebrate communities based on multispatial-scale environmental variables in the river systems of Republic of Korea. *Journal of Freshwater Ecology* 35, pp. 323–347. doi:10.1080/02705060.2020.1815599.
- Mittelbach, G. (2012). *Community Ecology*. Sunderland, Massachusetts, U.S.A.: Sinauer Associates.
- Mittelbach, G., & Schemske, D. (2015). Ecological and evolutionary perspectives on community assembly. *Trends in Ecology & Evolution* 30, pp. 241-247. doi:10.1016/j.tree.2015.02.008.
- Moček, A., & Pavlov, D. (2021). Comparative Analysis of Fish Distribution in Lentic and Lotic Ecosystems (Review). *Inland Water Biology* 14, pp. 196-204. doi:10.1134/S1995082921020103.
- Monk, W., Compson, Z., Armanini, D., Orlofske, J., Curry, C., Peters, D., . . . Baird, D. (2018). Flow velocity–ecology thresholds in Canadian rivers: A comparison of trait and taxonomy-based approaches. *Freshwater Biology* 63, pp. 891–905. doi:10.1111/fwb.13030.
- Morelli, F., Benedetti, Y., Perna, P., & Santolini, R. (2018). Associations among taxonomic diversity, functional diversity and evolutionary distinctiveness vary among environments. *Ecological Indicators* 88, pp. 8-16. doi:10.1016/j.ecolind.2018.01.022.
- Mouillot, D., Graham, N., Villéger, S., Mason, N., & Bellwood, D. (2013). A functional approach reveals community responses to disturbances. *Trends in Ecology & Evolution* 28, pp. 167-77. doi:10.1016/j.tree.2012.10.004.
- Munné, A., Prat, N., Solà, C., Bonada, N., & Rieradevall, M. (2003). A simple field method for assessing the ecological quality of riparian habitat in rivers and streams: QBR index. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 13, pp. 147-163. doi:10.1002/aqc.529.

- Múrria, C., Iturrarte, G., & Gutiérrez-Cánovas, C. (2020). A trait space at an overarching scale yields more conclusive macroecological patterns of functional diversity. *Global Ecology and Biogeography* 29, pp. 1729-1742. doi:10.1111/geb.13146.
- Naeem, S. (1996). Species Redundancy and Ecosystem Reliability. *Conservation Biology* 12, pp. 39-45. doi:10.1111/j.1523-1739.1998.96379.x.
- Nakano, S., & Murakami, M. (2001). Reciprocal subsidies: Dynamic interdependence between terrestrial and aquatic food webs. *Proceedings of the National Academy of Science* 98, pp. 166-170. doi:10.1073/pnas.98.1.166.
- Neves, K., Moura, M., Maravalhas, J., Pacheco, R., Pie, M., Schultz, T., & Vasconcelos, H. (2019). Functional richness shows spatial scale dependency in Pheidole ant assemblages from Neotropical savannas. *Ecology and Evolution* 9, pp. 11734–11741. doi:10.1002/ece3.5672.
- Noss, R. (1990). Indicators for monitoring biodiversity: a hierarchical approach. *Conservation Biology* 4, pp. 355-364.
- Noss, R. (1992). Issues of scale in conservation biology. Em P. Fieldler, S. Jain, & (Eds.), *Conservation Biology: The Theory and Practice of Nature Conservation, Preservation and Management* (pp. 240-241). New York: Chapman & Hall.
- Oki, T., & Kanae, S. (2006). Global Hydrological Cycles and World Water Resources. *Science* 313, pp. 1068-1072. doi:10.1126/science.1128845.
- Oksanen, J., Blanchet, F., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlenn, D., . . . Wagner, H. (2020). Community Ecology Package. *R package version 2.5-7*. Obtido de <https://cran.r-project.org>, <https://github.com/vegandevs/vegan>.
- Ordonez, A., & Svenning, J.-C. (2018). Greater tree species richness in eastern North America compared to Europe is coupled to denser, more clustered functional trait space filling, not to trait space expansion. *Global Ecology and Biogeography* 27, pp. 1288-1299. doi:10.1111/geb.12785.
- Ormerod, S. J., Dobson, M., Hildrew, A., & Townsend, C. (2010). Multiple stressors in freshwater ecosystems. *Freshwater Biology* 55, pp. 1-4. doi:10.1111/j.1365-2427.2009.02395.x.

- Ortiz-Santaliestra, M., & Marco, A. (2015). Influence of dissolved oxygen conditions on toxicity of ammonium nitrate to larval natterjack toads. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 69, pp. 95-103. doi:10.1007/s00244-014-0126-3.
- Pakeman, R. (2011). Multivariate identification of plant functional response and effect traits in an agricultural landscape. *Ecology* 92, pp. 1353–1365. doi:10.1890/10-1728.1.
- Pakeman, R. (2014). Functional trait metrics are sensitive to the completeness of the species' trait data? *Methods in Ecology and Evolution* 5, pp. 9-15. doi:10.1111/2041-210X.12136.
- Pan, B., Wang, H.-Z., Ban, X., & Yin, X.-A. (2015). An exploratory analysis of ecological water requirements of macroinvertebrates in the Wuhan branch of the Yangtze River. *Quaternary International* 380-381, pp. 256-261. doi:10.1016/j.quaint.2014.10.011.
- Pardo, I., & García, L. (2016). Water abstraction in small lowland streams: Unforeseen hypoxia and anoxia effects. *Science of The Total Environment* 568, pp. 226-235. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.05.218.
- Pardo, I., Álvarez, M., Casas, J., Moreno, J., Vivas, S., Bonada, N., . . . Vidal-Abarca, M. (2002). El hábitat de los ríos mediterráneos. Diseño de un índice de diversidad de hábitat. *Limnetica* 21, pp. 115-133.
- Pardo, I., Roquet, C., Lavergne, S., Olesen, J., Gómez, D., & García, M. (2017). Spatial congruence between taxonomic, phylogenetic and functional hotspots: True pattern or methodological artefact? *Diversity and Distributions* 23, pp. 209–220. doi:10.1111/ddi.12511.
- Parlamento Europeu e do Conselho. (23 de outubro de 2000). Directiva 2000/60/CE. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias* 327:1-72.
- Parsons, P. (2005). Environments and evolution: interactions between stress, resource inadequacy and energetic efficiency. *Biological Reviews* 80, pp. 589-610. doi:10.1017/S1464793105006822.
- Pavoine, S., & Bonsall, M. (2011). Measuring biodiversity to explain community assembly: a unified approach. *Biological Reviews* 86, pp. 792-812. doi:10.1111/j.1469-185X.2010.00171.x

- Pereira, H., Ferrier, S., Walters, M., Geller, G., Jongman, R., Scholes, R., . . . Wegmann, M. (2013). Essential biodiversity variables. *Science* 339, pp. 277–278. doi:10.1126/science.1229931.
- Petchey, O., & Gaston, K. (2006). Functional diversity: back to basics and looking forward. *Ecology Letters* 9, pp. 741-758. doi:10.1111/j.1461-0248.2006.00924.x.
- Piggott, J., Salis, R., Lear, G., Townsend, C., & Matthaei, C. (2015). Climate warming and agricultural stressors interact to determine stream periphyton community composition. *Global Change Biology* 21, pp. 206-222. doi:10.1111/gcb.12661.
- Pimm, S., & Raven, P. (2000). Extinction by numbers. *Nature* 403, p. 843. doi:10.1038/35002708.
- Pires, M., Grech, M., Stenert, C., Maltchik, L., Epele, L., McLean, K., . . . Batzer, D. (2021). Does taxonomic and numerical resolution affect the assessment of invertebrate community structure in New World freshwater wetlands? *Ecological Indicators* 125 (107437), pp. 1-7. doi:10.1016/j.ecolind.2021.107437.
- Poff, N. (1997). Landscape Filters and Species Traits: Towards Mechanistic Understanding and Prediction in Stream Ecology. *Journal of the North American Benthological Society* 16, pp. 391-409. doi:10.2307/1468026.
- Pollock, L., Thuiller, W., & Jetz, W. (2017). Large conservation gains possible for global biodiversity facets. *Nature* 546, pp. 141-144. doi:10.1038/nature22368.
- Pool, T., & Olden, J. (2012). Taxonomic and functional homogenization of an endemic desert fish fauna. *Diversity and Distributions* 18, pp. 366–376. doi:10.1111/j.1472-4642.2011.00836.x.
- Prinzing, A., Durka, W., Klotz, S., & Brandl, R. (2001). The niche of higher plants: evidence for phylogenetic conservatism. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 268, pp. 2383–2389. doi:10.1098/rspb.2001.1801.
- QGIS.org. (2021). *QGIS Geographic Information System*. Obtido de QGIS Association: <http://www.qgis.org>

- Reid, A., Carlson, A., Creed, I., Eliason, E., Gell, P., Johnson, P., . . . Cooke, S. (2019). Emerging threats and persistent conservation challenges for freshwater biodiversity. *Biological Reviews* *94*, pp. 849-873. doi:10.1111/brv.12480.
- Ricotta, C., Corona, P., Marchetti, M., Chirici, G., & Innamorati, S. (2003). LaDy: software for assessing local landscape diversity profiles of raster land cover maps using geographic windows. *Environmental Modelling & Software* *18*, pp. 373-378. doi:10.1016/S1364-8152(02)00104-4.
- Rolls, R., Heino, J., Ryder, D., Chessman, B., Gowns, I., Thompson, R., & Gido, K. (2018). Scaling biodiversity responses to hydrological regimes. *Biological Reviews* *93*, pp. 971-995. doi:10.1111/brv.12381.
- Rosser, N., & Eggleton, P. (2011). Can higher taxa be used as a surrogate for species-level data in biodiversity surveys of litter/soil insects? *Journal of Insect Conservation* *16*, pp. 87-92. doi:10.1007/s10841-011-9395-6.
- RStudio Team. (2021). RStudio: Integrated Development for R. *Rstudio*. PBC, Boston, MA. Obtido de RStudio: Integrated Development for R: <http://www.rstudio.com/>
- Sabater, S., Bregoli, F., Acuña, V., Barceló, D., Elosegi, A., Ginebreda, A., . . . Ferreira, V. (2018). Effects of human-driven water stress on river ecosystems: a meta-analysis. *Scientific Reports* *8*(11462), pp. 1-11. doi:10.1038/s41598-018-29807-7.
- Sánchez-Bayo, F., & Wyckhuys, K. (2019). Worldwide decline of the entomofauna: A review of its drivers. *Biological Conservation* *232*, pp. 8-27. doi:10.1016/j.biocon.2019.01.020.
- Savard, J. (1994). General concepts related to biodiversity. Biodiversity in Canada: A Science Assessment for Environment Canada. *Environment Canada*, pp. 9-40.
- Savard, J., Clergeau, P., & Mennechez, G. (2000). Biodiversity concepts and urban ecosystems. *Landscape and Urban Planning* *48*, pp. 131-142. doi:10.1016/S0169-2046(00)00037-2.
- Schinegger, R., Trautwein, C., Melcher, A., & Schmutz, S. (2012). Multiple human pressures and their spatial patterns in European running waters. *Water and Environment Journal* *26*, pp. 261-273. doi:10.1111/j.1747-6593.2011.00285.x.

- Schmera, D., Baur, B., & Erős, T. (2012). Does functional redundancy of communities provide insurance against human disturbances? An analysis using regional-scale stream invertebrate data. *Hydrobiologia* 693, pp. 183–194. doi:10.1007/s10750-012-1107-z.
- Schoen, J., Merten, E., & Wellnitz, T. (2013). Current velocity as a factor in determining macroinvertebrate assemblages on wood surfaces. *Journal of Freshwater Ecology* 28, pp. 271-275. doi:10.1080/02705060.2012.739578.
- Secretariat of the Convention on Biological Diversity. (2006). *Global Biodiversity Outlook 2*. Secretariat of the Convention on Biological Diversity, Montreal.
- Segner, H., Schmitt-Jansen, M., & Sabater, S. (2014). Assessing the Impact of Multiple Stressors on Aquatic Biota: The Receptor's Side Matters. *Environmental Science and Technology* 48, pp. 7690-7696. doi:10.1021/es405082t.
- Segurado, P., Almeida, C., Neves, R., Ferreira, M., & Branco, P. (2018). Understanding multiple stressors in a Mediterranean basin: Combined effects of land use, water scarcity and nutrient enrichment. *Science of the Total Environment* 624, pp. 1221-1233. doi:10.1016/j.scitotenv.2017.12.201.
- Shannon, C., & Weaver, W. (1949). *The Mathematical Theory of Communication*. Urbana: University of Illinois Press.
- Sistema Nacional de Informação de Ambiente. (18 de outubro de 2021). *Atlas do Ambiente Digital - IA*. Obtido de SNIAmb: <https://sniamb.apambiente.pt/?language=pt-pt>
- Smith, B., & Wilson, J. (1996). A consumer's guide to evenness indices. *Oikos* 76, pp. 70-82. doi:10.2307/3545749.
- Soares, H., Boaventura, R., Machado, A., & Esteves da Silva, J. (1999). Sediments as monitors of heavy metal contamination in the Ave river basin (Portugal): multivariate analysis of data. *Environmental Pollution* 105, pp. 311-323. doi:10.1016/S0269-7491(99)00048-2.
- Somero, G. (2010). The physiology of climate change: how potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine 'winners' and 'losers'. *Journal of Experimental Biology* 213, pp. 912–920. doi:10.1242/jeb.037473.

- Spears, B., Chapman, D., Carvalho, L., Feld, C., Gessner, M., Piggott, J., . . . Birk, S. (2021). Making waves. Bridging theory and practice towards multiple stressor management in freshwater ecosystems. *Water Research* 196, p. (116981). doi:10.1016/j.watres.2021.116981.
- Spears, B., Chapman, D., Carvalho, L., Rankinen, K., Stefanidis, K., Ives, S., . . . Birk, S. (2021). Assessing multiple stressor effects to inform climate change management responses in three European catchments. *Inland Waters*, pp. 1-13. doi:10.1080/20442041.2020.1827891.
- Sroczyńska, K., Chainho, P., Vieira, S., & Adão, H. (2021). What makes a better indicator? Taxonomic vs functional response of nematodes to estuarine gradient. *Ecological Indicators* 121, pp. 1-13. doi:10.1016/j.ecolind.2020.107113.
- Standish, R., Gove, A., Grigg, A., & Daws, M. (2021). Beyond species richness and community composition: Using plant functional diversity to measure restoration success in jarrah forest. *Applied Vegetation Science* 24, p. e12607. doi:10.1111/avsc.12607.
- Strong, W. (2016). Biased richness and evenness relationships within Shannon–Wiener index values. *Ecological Indicators* 67, pp. 703-713. doi:10.1016/j.ecolind.2016.03.043
- Suárez, M., Sánchez-Montoya, M., Gómez, R., Arce, M., del Campo, R., & Vidal-Abarca, M. (2017). Functional response of aquatic invertebrate communities along two natural stress gradients (water salinity and flow intermittence) in Mediterranean streams. *Aquatic Sciences* 79, pp. 1–12. doi:10.1007/s00027-016-0475-2.
- Tachet, H., Richoux, P., Bournaud, M., & Usseglio-Polatera, P. (2010). *Invertébrés d'eau douce. Systématique, biologie, écologie*. Paris: CNRS éditions.
- Teichert, N., Lepage, M., Sagouis, A., Borja, A., Chust, G., Ferreira, M., . . . Argillier, C. (2015). Functional redundancy and sensitivity of fish assemblages in European rivers, lakes and estuarine ecosystems. *Scientific Reports* 7, pp. 1-11. doi:10.1038/s41598-017-17975-x.
- Terlizzi, A., Anderson, M., Bevilacqua, S., Fraschetti, S., Wlodarska-Kowalczyk, M., & K.E., E. (2009). Beta diversity and taxonomic sufficiency: do higher level taxa reflect heterogeneity in species composition? *Diversity and Distributions* 15, pp. 450–458. doi:10.1111/j.1472-4642.2008.00551.x.

- Theodoropoulos, C., Vourka, A., Stamou, A., Rutschmann, P., & Skoulidakis, N. (2017). Response of freshwater macroinvertebrates to rainfall-induced highflows: A hydroecological approach. *Ecological Indicators* 73, pp. 432–442. doi:10.1016/j.ecolind.2016.10.011.
- Thomas, J., Telfer, M., Roy, D., Preston, C., Greenwood, J., Asher, J., . . . Lawton, J. (2004). Comparative losses of British butterflies, birds, and plants and the global extinction crisis. *Science* 303, pp. 1879–1881. doi:10.1126/science.1095046.
- Thornhill, I., Biggs, J., Hill, M., Briers, R., Gledhill, D., Wood, P. G., & Hassall, C. (2018). The functional response and resilience in small waterbodies along land-use and environmental gradients. *Global Change Biology* 24, pp. 3072-3092. doi:10.1111/gcb.14149.
- Todgham, A., & Stillman, J. (2013). Physiological responses to shifts in multiple environmental stressors: relevance in a changing world. *Integrative and Comparative Biology* 53, pp. 539-544. doi:10.1093/icb/ict086.
- Tuomisto, H. (2012). An updated consumer's guide to evenness and related indices. *Oikos* 121, pp. 1203–1218. doi:10.1111/j.1600-0706.2011.19897.x.
- Turak, E., Harrison, I., Dudgeon, D., Abell, R., Bush, A., Darwall, W., . . . Wever, A. (2017). Essential Biodiversity Variables for measuring change in global freshwater biodiversity. *Biological Conservation* 213-B, pp. 272-279. doi:10.1016/j.biocon.2016.09.005.
- Valdivia, N., Segovia-Rivera, V., Fica, E., Bonta, C., Aguilera, M., & Broitman, B. (2016). Context-dependent functional dispersion across similar ranges of trait space covered by intertidal rocky shore communities. *Ecology and Evolution* 7, pp. 1882-1891. doi:10.1002/ece3.2762
- van der Lee, G., Vonk, J., Verdonschot, R., Kraak, M., Verdonschot, P., & Huisman, J. (2021). Eutrophication induces shifts in the trophic position of invertebrates in aquatic food webs. *Ecology* 102, p. e03275. doi:10.1002/ecy.3275.
- van der Plas, F., van Klink, R., Manning, P., Olf, H., & Fischer, M. (2017). Sensitivity of functional diversity metrics to sampling intensity. *Methods in Ecology and Evolution* 8, pp. 1072-1080. doi:10.1111/2041-210X.12728.

- Vannote, R., & Sweeney, B. (1980). Geographic Analysis of Thermal Equilibria: A Conceptual Model for Evaluating the Effect of Natural and Modified Thermal Regimes on Aquatic Insect Communities. *The American Naturalist* 115, pp. 667-695.
- Velasco, J., Gutiérrez-Cánovas, C., Botella-Cruz, M., Sánchez-Fernández, D., Arribas, P., Carbonell, J., . . . Pallarés, S. (2019). Effects of salinity changes on aquatic organisms in a multiple stressor context. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 374, p. 20180011. doi:10.1098/rstb.2018.0011.
- Villéger, S., Mason, N., & Mouillot, D. (2008). New multidimensional functional diversity indices for a multifaceted framework in functional ecology. *Ecology* 89, pp. 2290-2301. doi:10.1890/07-1206.1.
- Violle, C., Navas, M., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I., & Garnier, E. (2007). Let the concept of trait be functional! *Oikos* 116, pp. 882-892. doi:10.1111/j.0030-1299.2007.15559.x.
- Vogt, R., Peres-Neto, P., & Beisner, B. (2013). Using functional traits to investigate the determinants of crustacean zooplankton community structure. *Oikos* 122, pp. 1700-1709. doi:10.1111/j.1600-0706.2013.00039.x.
- Wagner, R., Marxsen, J., Zwick, P., & Cox, E. (2011). *Central European Stream Ecosystems: The Long Term Study of the Breitenbach*. Weinheim: John Wiley & Sons.
- Weijters, M., Janse, J., Alkemade, R., & Verhoeven, J. (2009). Quantifying the effect of catchment land use and water nutrient concentrations on freshwater river and stream biodiversity. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 19, pp. 104-112. doi:10.1002/aqc.989.
- Wheeler, Q., Raven, P., & Wilson, E. (2004). Taxonomy: impediment or expedient? *Science* 303(5656), p. 285. doi:10.1126/science.303.5656.285.
- White, H., Nichols, S., Robinson, W., & Norris, R. (2012). More for less: a study of environmental flows during drought in two Australian rivers. *Freshwater Biology* 57, pp. 858-873. doi:10.1111/j.1365-2427.2011.02732.x.

- Wiens, J. (2015). Faster diversification on land than sea helps explain global biodiversity patterns among habitats and animal phyla. *Ecology Letters* 18, pp. 1234-1241. doi:10.1111/ele.12503.
- Wiley, M., & Kohler, S. (1980). Positioning changes of mayfly nymphs due to behavioural regulation of oxygen consumption. *Canadian Journal of Zoology* 58, pp. 618–622.
- Wilman, H., Belmaker, J., Simpson, J., de la Rosa, C., Rivadeneira, M. M., & Jetz, W. (2014). Elton traits 1.0: Species-level foraging attributes of the world's birds and mammals. *Ecology* 95, pp. 2027–2027. doi:org/10.1890/13-1917.1.
- Wilson, E. (2002). *The Future of Life*. London, UK: Abacus, Time Warner Book Group.
- Wong, M., Guénard, B., & Lewis, O. (2019). Trait-based ecology of terrestrial arthropods. *Biological Reviews* 94, pp. 999-1022. doi:10.1111/brv.12488.
- Wood, P., Gunn, J., Smith, H., & Abas-Kutty, A. (2005). Flow permanence and macroinvertebrate community diversity within groundwater dominated headwater streams and springs. *Hydrobiologia* 545, pp. 55–64.
- Wootton, K. (2017). Omnivory and stability in freshwater habitats: Does theory match reality? *Freshwater Biology* 62, pp. 821-832. doi:10.1111/fwb.12908.
- Wu, Z., Dijkstra, P., Koch, G., Peñuelas, J., & Hungate, B. (2011). Responses of terrestrial ecosystems to temperature and precipitation change: a meta-analysis of experimental manipulation. *Global Change Biology* 17, pp. 927-942. doi:10.1111/j.1365-2486.2010.02302.x.
- WWF. (2016). *Living Planet Report 2016: Risk and Resilience in a New Era*. Gland, Switzerland: World Wildlife Fund International .
- WWF. (2020). *Living Planet Report 2020 - Bending the curve of biodiversity loss*. WWF, Gland, Switzerland: Almond, R.E.A., Grooten, M. & Petersen, T. (Eds).
- Yachi, S., & Loreau, M. (1999). Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: The insurance hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 96, pp. 1463-1468. doi:10.1073/pnas.96.4.1463.

- Zhang, L., Pan, B., Jiang, X., Wang, H., Lu, Y., Lu, Y., & Li, R. (2020). Responses of the macroinvertebrate taxonomic distinctness indices of lake fauna to human disturbances in the middle and lower reaches of the Yangtze river. *Ecological Indicators* 110, pp. 1-10. doi:10.1016/j.ecolind.2019.105952.
- Zhang, Y., L., C., Tolonen, K., Yin, H., Gao, J., Zhang, Z., . . . Cai, Y. (2018). Substrate degradation and nutrient enrichment structuring macroinvertebrate assemblages in agriculturally dominated Lake Chaohu Basins, China. *Science of The Total Environment* 627, pp. 57-66. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.01.232.
- Zuur, A., Ieno, E., Walker, N., Saveliev, A., & Smith, G. (2009). *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. New York, NY: Springer-Verlag. doi:10.1007/978-0-387-87458-6.

## Anexo A - Teste de Tukey

### Riqueza

Tukey multiple comparisons of means  
95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = richness.lm)

```
$bio.gr
      diff      lwr      upr      p adj
2-1 -22.160714 -33.336049 -10.985380 0.0000066
3-1  4.267857  -5.302127  13.837842 0.7677924
4-1 -1.275000 -11.517363   8.967363 0.9990198
5-1 -27.986111 -38.478325 -17.493898 0.0000000
6-1 -20.375000 -37.445605  -3.304395 0.0110832
3-2  26.428571  16.433049  36.424094 0.0000000
4-2  20.885714  10.244668  31.526761 0.0000081
5-2  -5.825397 -16.707144   5.056350 0.6062751
6-2   1.785714 -15.527039  19.098468 0.9996070
4-3  -5.542857 -14.483125   3.397410 0.4475070
5-3 -32.253968 -41.479418 -23.028518 0.0000000
6-3 -24.642857 -40.965478  -8.320237 0.0006705
5-4 -26.711111 -36.632317 -16.789905 0.0000000
6-4 -19.100000 -35.825709  -2.374291 0.0168853
6-5   7.611111  -9.268755  24.490977 0.7595581
```

### IBMWP

Tukey multiple comparisons of means  
95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = IBMWP.lm)

```
$bio.gr
      diff      lwr      upr      p adj
2-1 -133.62500 -179.301291 -87.948709 0.0000000
3-1  17.01786  -22.096982   56.132696 0.7855513
4-1 -12.22500  -54.088012   29.638012 0.9516860
5-1 -154.29167 -197.175878 -111.407455 0.0000000
6-1  -87.12500 -156.896687  -17.353313 0.0069747
3-2  150.64286  109.788740  191.496974 0.0000000
4-2  121.40000   77.907471  164.892529 0.0000000
5-2  -20.66667  -65.142996   23.809662 0.7360348
6-2   46.50000  -24.261406  117.261406 0.3824559
4-3  -29.24286  -65.783890   7.298176 0.1841989
5-3 -171.30952 -209.016166 -133.602881 0.0000000
6-3 -104.14286 -170.857351  -37.428364 0.0004137
5-4 -142.06667 -182.617031 -101.516302 0.0000000
6-4  -74.90000 -143.262013  -6.537987 0.0243602
6-5   67.16667  -1.825424  136.158758 0.0604073
```

Anexo B – Correlações entre os traços funcionais e os eixos da PCoA

Code	Axis1	Axis2	Axis3	Axis4	Axis5	Axis6	Axis7	Axis8	Axis9	Axis10
SIZE1	0.01	0.03	0.02	0.15	0.05	-0.06	0.15	0.06	0.15	0.10
SIZE2	-0.21	<b>0.68</b>	0.38	0.23	-0.02	-0.07	0.21	-0.01	-0.02	0.31
SIZE3	<b>0.50</b>	0.06	-0.37	0.16	-0.23	-0.20	-0.49	-0.22	0.05	-0.17
SIZE4	0.11	-0.41	-0.12	-0.34	0.17	0.47	0.45	-0.11	0.05	-0.12
SIZE5	-0.41	-0.44	0.14	-0.18	0.09	-0.13	-0.18	0.26	-0.13	0.02
SIZE6	-0.26	-0.11	0.01	0.04	0.05	-0.07	0.01	0.28	-0.04	-0.02
SIZE7	-0.07	-0.02	0.08	0.01	0.06	-0.03	0.01	0.12	-0.03	-0.23
NCREQ1	<b>0.81</b>	-0.13	-0.31	0.10	-0.25	0.17	0.22	0.02	0.02	0.07
NCRM01	<b>-0.81</b>	0.13	0.31	-0.10	0.25	-0.17	-0.22	-0.02	-0.02	-0.07
SEMIVO	-0.34	-0.47	0.22	-0.29	0.02	-0.37	-0.28	0.03	-0.06	0.16
UNIVO	0.20	0.15	0.24	0.06	-0.09	<b>0.74</b>	-0.29	0.06	-0.03	-0.06
PLURIVO	0.06	0.22	-0.44	0.18	0.09	<b>-0.50</b>	<b>0.55</b>	-0.09	0.08	-0.07
EGG	-0.02	-0.02	0.42	0.16	0.18	-0.05	-0.16	-0.23	0.15	-0.08
LARVA	-0.18	-0.39	-0.07	-0.17	<b>-0.56</b>	-0.07	0.04	0.00	-0.16	-0.06
NYMPH	<b>0.57</b>	0.05	-0.32	-0.34	-0.20	-0.16	-0.01	0.22	-0.13	0.19
IMAGO	-0.34	0.33	0.04	0.36	<b>0.56</b>	0.26	0.10	-0.03	0.15	-0.06
OVOV	-0.02	-0.20	0.09	0.30	0.24	-0.23	0.28	0.20	0.20	-0.25
FREEGG	-0.10	-0.20	-0.17	0.24	-0.20	-0.17	-0.15	0.31	-0.20	-0.16
CEMEGG	0.01	-0.48	0.12	0.24	-0.08	-0.26	-0.19	-0.43	0.20	0.09
CEMCLU	0.40	<b>0.53</b>	0.10	-0.47	0.29	0.08	-0.07	-0.06	-0.34	-0.23
FRECLU	0.06	-0.08	-0.27	0.07	-0.02	-0.16	0.04	0.19	0.03	0.09
CLUVEG	-0.35	-0.20	-0.15	-0.05	-0.10	0.27	0.12	-0.29	0.05	0.21
CLUTER	-0.27	0.12	0.01	0.17	-0.39	0.22	0.07	0.40	0.21	0.31
ASEXU	-0.09	-0.03	-0.02	-0.12	0.32	0.07	-0.13	0.02	0.11	-0.11
RFEGG	-0.05	-0.47	0.06	0.17	-0.12	-0.29	-0.23	-0.14	-0.27	0.13
RFCOC	-0.11	-0.10	-0.09	-0.14	0.30	0.09	-0.27	0.16	0.13	-0.04
RFCELL	-0.06	0.02	-0.01	0.08	0.25	-0.02	0.11	0.10	0.00	-0.06
RFDIAP	0.09	-0.33	-0.32	0.43	0.41	0.34	-0.01	-0.04	-0.19	0.18
RFNON	0.02	<b>0.55</b>	0.26	-0.37	-0.44	-0.15	0.24	0.01	0.23	-0.18
TEG	<b>0.50</b>	0.02	0.00	-0.43	0.42	-0.17	-0.27	0.00	0.36	0.24
GILL	0.04	<b>-0.53</b>	<b>0.55</b>	0.02	-0.28	-0.06	0.34	-0.03	-0.24	-0.15
PLAS	-0.28	0.39	0.23	0.25	0.09	0.13	0.08	-0.08	-0.08	0.14
SPIR	-0.41	0.33	<b>-0.64</b>	0.29	-0.18	0.17	-0.10	0.07	-0.08	-0.14
AQUPAS	0.12	-0.22	0.27	0.22	<b>0.56</b>	-0.04	0.19	-0.14	0.19	-0.15
AQUACT	-0.06	-0.14	-0.14	0.03	0.23	0.28	-0.15	0.08	0.28	-0.16
AERPAS	0.45	0.07	-0.23	-0.04	0.03	-0.31	0.02	0.20	-0.10	0.20
AERACT	-0.36	0.24	0.02	-0.19	<b>-0.66</b>	0.05	-0.08	-0.07	-0.29	0.11
FLIER	-0.46	<b>0.55</b>	0.01	0.16	0.01	0.15	0.01	-0.21	-0.16	-0.03
SURSWI	-0.01	-0.04	-0.47	0.31	0.13	0.26	-0.06	0.07	-0.31	0.09
SWIMM	-0.36	0.29	-0.29	0.08	-0.03	-0.17	0.20	-0.38	0.17	-0.10
CRAW	0.24	-0.13	<b>0.53</b>	-0.17	-0.25	0.38	-0.12	-0.17	0.22	0.06
BURR	-0.20	-0.31	0.05	0.18	-0.01	-0.26	-0.12	0.48	-0.07	-0.35
INTST	0.01	-0.02	0.09	0.06	0.10	-0.09	0.13	0.06	0.14	-0.06
TEMATT	0.38	0.08	-0.21	-0.38	0.27	-0.34	0.11	0.13	-0.15	0.35
PERATT	0.21	0.03	-0.04	0.00	0.05	-0.12	-0.01	-0.07	-0.18	0.08
GRA	0.43	0.28	0.40	0.27	0.03	0.06	-0.06	-0.23	-0.24	0.21
MIN	-0.09	0.01	0.01	-0.08	0.16	-0.02	-0.08	0.04	0.07	0.06
XYL	-0.01	0.08	0.04	-0.01	-0.03	-0.02	-0.10	0.01	-0.10	-0.17
SHR	0.19	0.07	0.26	0.02	-0.23	0.20	-0.09	0.40	0.44	-0.09

GAT	0.32	-0.06	0.05	0.40	-0.13	-0.12	0.03	-0.09	0.01	-0.37
AFF	-0.07	-0.21	0.04	0.25	0.22	-0.20	0.10	0.27	-0.17	-0.11
PFF	0.21	0.02	-0.18	-0.17	0.14	-0.12	-0.07	0.13	-0.19	0.15
PRED	<b>-0.66</b>	-0.19	-0.41	-0.43	-0.03	0.08	0.02	-0.21	0.05	0.05
PAR	0.11	-0.03	-0.08	0.00	0.05	-0.16	0.15	0.11	0.08	-0.02
OTHER	0.11	0.16	0.03	-0.01	0.24	-0.14	0.21	0.14	0.06	0.20



## Anexo D – Melhores modelos múltiplos

Models	var	X.Intercept	DIN	DOmin	mean.Velo	shadow	Tmax	I.Tmax.2.	R.2	df	logLik	AICc	delta	weight
36	richness	3.6856	-0.23031	0.153249	NA	NA	NA	-0.14848	0.66529	5	-5.33331	22.03025	0	0.263958
52	richness	3.692577	-0.2182	0.113838	NA	NA	-0.0754	-0.1556	0.681401	6	-4.10002	22.15352	0.123265	0.248181
56	richness	3.700969	-0.23701	0.095067	0.060536	NA	-0.09906	-0.16416	0.694077	7	-3.08502	22.8367	0.806444	0.176367
44	richness	3.679064	-0.22642	0.14996	NA	0.035852	NA	-0.14181	0.670548	6	-4.93745	23.82839	1.798132	0.107418
54	richness	3.710289	-0.26039	NA	0.082902	NA	-0.15382	-0.17367	0.670359	6	-4.95179	23.85707	1.826816	0.105888
40	richness	3.688914	-0.24239	0.149827	0.032346	NA	NA	-0.15186	0.669362	6	-5.0273	24.00809	1.977839	0.098187
361	Hill.shanno	14.53752	-3.25591	1.608516	NA	NA	NA	-1.38101	0.599621	5	-136.316	283.9966	0	0.297956
401	Hill.shanno	14.45136	-2.94185	1.697481	-0.84085	NA	NA	-1.29309	0.617078	6	-135.202	284.3574	0.360761	0.248779
441	Hill.shanno	14.4205	-3.18617	1.549628	NA	0.64186	NA	-1.2616	0.610313	6	-135.64	285.233	1.236425	0.16057
521	Hill.shanno	14.60617	-3.13673	1.220735	NA	NA	-0.74188	-1.45106	0.609517	6	-135.691	285.3351	1.338519	0.15258
48	Hill.shanno	14.32558	-2.85848	1.63842	-0.86776	0.674789	NA	-1.16475	0.628878	7	-134.419	285.5056	1.508961	0.140115
362	FRic	0.173835	-0.04292	0.030331	NA	NA	NA	-0.02641	0.493221	5	60.66882	-109.974	0	0.217575
442	FRic	0.170934	-0.04119	0.028872	NA	0.015911	NA	-0.02345	0.515194	6	61.77701	-109.601	0.373486	0.180512
541	FRic	0.179453	-0.05187	NA	0.02446	NA	-0.02957	-0.03214	0.512096	6	61.61773	-109.282	0.692031	0.153934
402	FRic	0.175345	-0.04842	0.028771	0.014744	NA	NA	-0.02795	0.511174	6	61.57054	-109.188	0.786424	0.146838
481	FRic	0.17248	-0.04652	0.027426	0.014131	0.015374	NA	-0.02503	0.53166	7	62.64086	-108.615	1.358966	0.110284
561	FRic	0.177666	-0.04739	0.018231	0.020171	NA	-0.01907	-0.03032	0.530604	7	62.58453	-108.502	1.471609	0.104244
522	FRic	0.17487	-0.04112	0.024485	NA	NA	-0.01118	-0.02747	0.500742	6	61.04265	-108.132	1.842195	0.086612
38	FDis	0.219903	-0.00906	NA	-0.0153	NA	NA	-0.00876	0.370076	5	101.4564	-191.549	0	0.355217
39	FDis	0.219344	NA	0.007659	-0.01813	NA	NA	-0.00819	0.361427	5	101.1154	-190.867	0.681894	0.252594
37	FDis	0.21953	NA	NA	-0.01838	NA	NA	-0.00838	0.325723	4	99.75534	-190.622	0.927361	0.223419
403	FDis	0.219693	-0.00697	0.005142	-0.01584	NA	NA	-0.00855	0.383801	6	102.0071	-190.061	1.488375	0.168771