



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E EVOLUÇÃO

HAYLLA APARECIDA OLIVEIRA SANTOS

**Efeito do aumento de temperatura na
diversidade filogenética da microbiota
planctônica acessada por metabarcodes**

Goiânia, GO
Abril/2025



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese Outro*: _____

*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

2. Nome completo do autor

Haylla Aparecida Oliveira Santos

3. Título do trabalho

Efeito do aumento de temperatura na diversidade filogenética da microbiota planctônica acessada por metabarcodes

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante: **a)** consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **João Carlos Nabout, Usuário Externo**, em 04/02/2025, às 10:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

Termo de Ciência e de Autorização (TECA) 5108448

SEI 23070.062321/2024-55 / pg. 1



Documento assinado eletronicamente por **Haylla Aparecida Oliveira Santos, Discente**, em 24/02/2025, às 23:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site

https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0; informando o código verificador **5108448** e o código CRC **9F6454E1**.

Referência: Processo nº 23070.062321/2024-55

SEI nº 5108448

HAYLLA APARECIDA OLIVEIRA SANTOS



Efeito do aumento de temperatura na diversidade filogenética da microbiota planctônica acessada por metabarcoding

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás (UFG) como requisito para obtenção do título de Mestra em Ecologia e Evolução.

Área de Concentração: Ecologia e Evolução

Linha de Pesquisa: Limnologia

Orientador: Prof Dr. João Carlos Nabout.

Goiânia, GO

Abril/2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Santos , Haylla Aparecida Oliveira
Efeito do aumento da temperatura na diversidade filogenética da microbiota planctônica acessada por metabarcoding [manuscrito] / Haylla Aparecida Oliveira Santos . - 2025.
44 f.

Orientador: Prof. Dr. João Carlos Nabout.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução, Goiânia, 2025.

Bibliografia. Anexos.
Inclui siglas, abreviaturas, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Experimento. 2. PD. 3. MPD. 4. MNPD. 5. Árvore filogenética. I. Nabout, João Carlos , orient. II. Título.

CDU 574



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata nº **223** da sessão de Defesa de Dissertação de **Haylla Aparecida Oliveira Santos** que confere o título de Mestra em **Ecologia e Evolução**, na área de concentração em **Ecologia e Evolução**.

Ao/s **dezesesseis dias do mês de dezembro do ano de dois mil e vinte e quatro (16/12/2024)**, a partir da(s) **09:00 horas**, no **Auditório do ICB V**, seguindo Resolução CONSUNI/UFG Nº 141 de 13 de maio de 2022 e orientações do Ofício Circular no. 34/2022/PRPG/UFG (SEI 23070.030951/2022-07), realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada **“Efeito do aumento de temperatura na diversidade filogenética da microbiota planctônica acessada por metabarcodes”**. Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, **Prof. Dr. João Carlos Nabout (CCET/UEG)** com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: **Profa. Dra. Jascieli Carla Bortolini (DEBOT/ICB/UFG)**, membro titular interno; **Profa. Dra. Maisa Carvalho Vieira -RENAC/UEG**, membro titular externo. Durante a arguição os membros da banca não fizeram sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Dissertação tendo sido a candidata **aprovada** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo **Prof. Dr. João Carlos Nabout**, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, ao(s) **dezesesseis dias do mês de dezembro do ano de dois mil e vinte e quatro (16/12/2024)**.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA



Documento assinado eletronicamente por **João Carlos Nabout, Usuário Externo**, em 16/12/2024, às 10:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jascieli Carla Bortolini, Professora do Magistério Superior**, em 16/12/2024, às 10:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maisa Carvalho Vieira, Usuário Externo**, em 16/12/2024, às 10:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=5038221, informando o código verificador **5038221** e o código CRC **B583887A**.

Referência: Processo nº 23070.062321/2024-55

SEI nº 5038221

Agradecimentos

Primeiramente agradeço ao João Carlos Nabout meu orientador, cuja compreensão e paciência permitiu que fosse possível a conclusão deste trabalho, e, também a Karine Machado que cedeu seus dados e foi uma colaboradora paciente e atenciosa. Agradeço a professora Jascieli Bortolini por aceitar prontamente meus convites para bancas e avaliações desde o seminário dos alunos, a Maisa por todo o aconselhamento e excelentes pontuações sobre os textos corrigidos.

Agradeço aos meus colegas com os quais formei grupos e duplas para a conclusão dos trabalhos das disciplinas cursadas. Agradeço imensamente a todos os membros da coordenação que me permitiram uma segunda chance perante uma reprovação em uma disciplina cursada em 2023/1. Agradeço as agências de fomento, em especial ao CNPq, que me concedeu uma bolsa do tipo industrial DTI-A.

Agradeço a minha família, ao meu pai, minha mãe, meu esposo, meus irmãos e minhas amigas de longa data que prontamente me ouviram e apoiaram em todas as situações de dificuldades e felicidades que surgiram. Agradeço ao meu filho que me deu um novo sentido de vida e me proporcionou olhar mais uma vez para o horizonte com esperança e vontade de contribuir com a ciência e proporcionar uma sociedade mais justa e digna com recursos naturais disponíveis em abundância para essas e as futuras gerações.

Resumo

Há estimativas para um aumento de até 2,5°C na média de temperatura global até o fim desse século, tornando o estudo através de experimentação uma ferramenta importante para observar o comportamento dos organismos diante do aquecimento. Utilizando técnicas de Metabarcoding, podemos extrair informações relevantes dos dados resultantes em experimentações, analisando a diversidade filogenética das espécies. Nosso experimento utilizou 20 aquários com aquecedores para simular cenários de aquecimento, com 4 tratamentos: tratamento Controle; tratamento Intermediário com aquecimento de 2°C acima da média; tratamento pessimista com aquecimento de 4°C acima da média, e, tratamento pessimista – pessimista com aumento até 8°C. Para observar as diferenças na diversidade filogenética entre os tratamentos, foi construída a filogenia dos organismos, estimada os índices filogenéticos e realizado uma anova. Havendo diferenças significativas para menos, apenas no índice de MNPD (distância média do vizinho mais próximo), dos tratamentos Intermediário – Controle; sendo eucariotos geral com valor de $P = 0,02$ e para eucariotos classificados com valor de $P = 0,04$. Os resultados demonstram pouca alteração na composição das espécies diante do aquecimento. As métricas de diversidade aqui utilizadas podem contribuir para planejamentos de conservação de espécies revelando informações sobre características filogenéticas das mesmas.

Palavras chave: Experimento, PD, MPD, MNPD, Árvore filogenética.

Abstract

There are estimates of an increase of up to 2.5°C in the average global temperature by the end of this century, making the study through experimentation an important tool for observing the behavior of organisms in the face of warming. Using Metabarcoding techniques, we can extract relevant information from the data resulting from experiments, analyzing the phylogenetic diversity of species. Our experiment used 20 aquariums with heaters to simulate warming scenarios, with 4 treatments: Control treatment; Intermediate treatment with warming of 2°C above the average; pessimistic treatment with warming of 4°C above the average; and pessimistic-pessimistic treatment with an increase of up to 8°C. To observe the differences in phylogenetic diversity between treatments, the phylogeny of organisms was constructed, the phylogenetic indices were estimated and an anova was performed. There were significant differences for less, only in the MNPD index (average distance of the nearest neighbor), of the Intermediate-Control treatments; being general eukaryotes with a P value = 0.02 and for classified eukaryotes with a P value = 0.04. The results demonstrate little change in the composition of species in the face of warming. The diversity metrics used here can contribute to species conservation planning by revealing information about their phylogenetic characteristics.

Key words: Experiment, PD, MPD, MNPD, Phylogenetic tree.

Sumário

Resumo.....	4
Abstract.....	5
Lista de tabelas.....	7
Lista de figuras.....	8
Introdução	9
Metodologia	13
Análises genômicas.....	14
Análises estatísticas	15
Resultados.....	17
Discussão.....	25
Conclusão.....	28
Bibliografia.....	29

Lista de tabelas

Tabela 1. Tabela apresentando a classificação dos organismos encontrados para eucariotos a nível de gênero, e a quantidade..... pag. 19.

Tabela 2. Tabela apresentando a classificação dos organismos encontrados para procariotos a nível de gênero, e a quantidade..... pag. 20.

Tabela 3. Valores gerados pela ANOVA de fator único para os organismos eucariotos totais..... pag. 22.

Tabela 4. Valores gerados pela ANOVA de fator único para os organismos procariotos totais
..... pag. 22.

Lista de figuras

- Figura 1.** Árvore filogenética construída com base nos organismos eucariotos autotróficos encontrados..... pag. 17.
- Figura 2.** Árvore filogenética construída com base nos organismos eucariotos heterotróficos encontrados..... pag. 17.
- Figura 3.** Árvore filogenética construída com base nos organismos eucariotos mixotróficos encontrados..... pag. 18.
- Figura 4.** Árvore filogenética construída com base nos organismos procariotos autotróficos encontrados..... pag. 18.
- Figura 5.** Árvore filogenética construída com base nos organismos procariotos heterotróficos encontrados..... pag. 18.
- Figura 6.** Boxplots demonstrando a riqueza total de cada grupo encontrado: eucariotos e procariotos..... pag. 20.
- Figura 7.** Gráficos apresentando os valores de mediana e menor e maior valor dos conjuntos de dados, assim como diferença interquartil para cada índice de diversidade calculado para eucariotos totais e eucariotos classificados, sendo os índices PD, MPD, NMPD respectivamente. C = 24°C, I = 26°C, P = 28°C, PP = 32°C.....pag. 23.
- Figura 8.** Gráficos apresentando os valores de mediana e menor e maior valor dos conjuntos de dados, assim como diferença interquartil para cada índice de diversidade calculado para procariotos totais e procariotos classificados, sendo os índices: PD, MPD, NMPD respectivamente. C = 24°C, I = 26°C, P = 28°C, PP = 32°C..... pag. 24.

Introdução

O aumento acelerado nas temperaturas globais, se deve ao crescente volume de emissão de gases do efeito estufa na atmosfera, que em sua maioria são de origem antropogênica, principalmente o dióxido de carbono (CO₂) (AI-Ghussain 2018). Essas alterações, provocam desequilíbrios ambientais que promovem elevação da temperatura global para acima da média, e tem levado a uma modificação dos ciclos de vida dos organismos nos mais diversos ambientes (Neale *et. al.*, 2022). Dessa forma nosso planeta vem enfrentando uma crise climática sem precedentes, com repercussões sociais e ecológicas de longo alcance, tais como: declínio no oxigênio dissolvido na água, maior probabilidade de eutrofização em ambiente de água doce, e, perda de locais de pesca e lazer (Woolway *et. al.*, 2018). Assim as mudanças climáticas estão afetando a ligação terra – água e influenciando os ciclos biogeoquímicos e hidrológicos, alterando os serviços ecossistêmicos oferecidos (Donat *et. al.*, 2019).

Essas divergências climáticas afetam os ecossistemas de água doce por meio do aumento da temperatura do ar e na distribuição de nutrientes e oxigênio dissolvidos na água, acarretando em consequências negativas para as espécies locais e afetando negativamente a produtividade do ambiente, interferindo em atividades de aquicultura (Priya *et. al.*, 2023). Os estudos que buscam compreender os efeitos das altas temperaturas no ambiente aquático destacam que o aquecimento desencadeia outros problemas como alterações na distribuição de nutrientes em lagos, por exemplo (Santana 2023). E, complicações nas condições de normalidade dos ambientes aquáticos, provocam desequilíbrios que favorecem a multiplicação de algas potencialmente prejudiciais, suprimindo a sobrevivência de algas endêmicas em regiões de água doce, eutrofizando os lagos e causando uma diminuição na biodiversidade de espécies (Kravtsova 2021). Projeções de um cenário de aquecimento irreversível até 2100, indicam que as comunidades planctônicas podem perder fluxo de nutrientes, o que causaria impactos significativos em sua abundância (Lewandowska 2014).

Em casos extremos de aumento de temperatura existe a possibilidade de que a densidade do plâncton/microplâncton seja reduzida (Murphy 2019). As flutuações de temperatura nesses ambientes têm dificultado o estudo das consequências desse aquecimento, tendo em vista que a maioria dos modelos de estudo desenvolvidos se baseiam nas projeções de temperatura média local (Morash *et. al.*, 2018). Assim, a mitigação dos efeitos das mudanças climáticas emerge como a melhor abordagem para a manutenção do equilíbrio entre as diversas espécies constituintes do

plâncton (Zhong *et. al.*, 2023). Esses impactos geram engajamento da sociedade como um todo para apoiar ações de mitigação aos agentes prejudiciais ao clima, envolvendo de formas diferentes os cidadãos (Kim – Pong *et. al.*, 2022).

A experimentação é uma maneira indispensável de observar os comportamentos das espécies, e indica alterações importantes diante do aquecimento, apontando uma relação direta dos organismos com a temperatura (Hoppe *et. al.*, 2019). Sendo um dos princípios fundamentais da ecologia avaliar a maneira como os organismos respondem às alterações ambientais, experimentos nos fornecem informações importantes em simulações de cenários futuros, sendo organismos componentes do plâncton bons modelos de uso, tendo em vista seu ciclo de vida e sua função base na cadeia alimentar (Machado 2020). Dessa maneira, o sucesso destes trabalhos dá ânimo para a replicação em ambiente natural, tornando o desenvolvimento de experimentos controlados importantes precursores para o uso *in situ* (Kasprzak *et. al.*, 2002).

Sendo os ecossistemas aquáticos uns dos mais ameaçados, se faz necessário os avanços em pesquisas, por exemplo, em eDNA conhecido popularmente como DNA ambiental, onde é possível avaliar os impactos sofridos pelos organismos que fazem parte desses ambientes através de rastros biológicos (Li *et. al.*, 2018). E utilizando marcadores de eDNA podemos recuperar uma série de sequências genéticas de procariontes e eucariontes (Drumond *et. al.*, 2015). O plâncton/microplâncton desempenha funções importantes no ecossistema aquático, experimentos multifatoriais destacam a relevância de impactos potenciais em curto prazo nessas comunidades, que em resposta podem modificar as teias alimentares planctônicas (Domaizon *et. al.*, 2012). Essa técnica ampliou a capacidade de identificação de espécies, no nosso caso em específico em área aquática, facilitando a reconstrução de comunidades do presente e passado, essas análises permitem planejamento de ações para mitigação da ação antrópica (Angeles *et. al.*, 2023).

Através de análises utilizando “metabarcoding”, é possível encontrar padrões de distribuição das espécies e investigar suas causas, por exemplo, constatar que a dispersão dos nutrientes provenientes de atividades antrópicas está provocando desequilíbrio ambiental (Zhang 2023). Os métodos de análises por “eDNA” têm a capacidade de identificar organismos a nível de espécies utilizando a sequência genética, tornando-se algo crucial, essa capacidade é importante para identificação e controle rápido e preciso das espécies presentes em uma determinada área de estudo (Stoeck 2018). As análises de sequências de código de barras de DNA, permitem a classificação em clusters para uma identificação taxonômica mais abrangente e precisa (Kekkonen 2014). Estudos recentes de sequências de DNA 16S através de sequenciamento de próxima geração permitiu a

organização de dados genéticos em OTUs (do inglês: Operational Taxonomic Unit, que significa: Unidade Taxonômica Operacional, em português) importante para superar as variações inter e intraespecíficas e/ou espécies crípticas (espécies muito semelhantes entre si, mas que geneticamente são distintas); elas são difíceis de distinguir visualmente/morfológicamente (Chen 2013).

Essa ferramenta importante facilita os estudos de diversidade filogenética (DP), que, é uma medida de diversidade que incorpora a filogenia das espécies, sendo assim, quanto mais distintos filogeneticamente são as espécies maior a diversidade entre elas (Cianciaruso *et. al.*, 2009). Sendo uma medida de biodiversidade das espécies, ela aponta as relações evolutivas entre as mesmas capturando valores através do cálculo de índices de diversidade e incluindo riqueza, divergência e regularidade (Sylvanus 2023). Há várias métricas que medem diversidade filogenética, os índices calculados neste trabalho são os seguintes: PD de – Faith, (1992) – que é definida pela distância do comprimento dos braços das árvores filogenéticas, onde é necessário que sejam sequenciados os genes das espécies analisadas; e as métricas de Webb (2000) que propôs duas medidas de diversidade baseadas na recente classificação das angiospermas que são: MPD, distância médias par-a-par nos dá um valor geral da estrutura filogenética da comunidade e MNPD, distancia média do vizinho mais próximo, o qual nos oferece o valor das taxas por gênero; ambos derivados de PD.

PD, MPD e MNPD são o conjunto de métricas mais utilizadas para medir a diversidade e dispersão de espécies, juntas elas avaliam a filogenia em diversas camadas evolutivas, estando PD ligado as estruturas mais basais da árvore da vida, MPD ligado à região intermediária dos ramos e MNPD ligada as extremidades dos ramos, estando intimamente ligadas e correlacionadas positivamente com PD, mas cada métrica captura uma informação única do conjunto de taxôns (Hong *et. al.*, 2022). Para as três métricas, valores negativos levam a um conjunto de espécies mais agrupado, enquanto valores positivos revelam uma super dispersão (Tsirogiannis *et. al.*, 2016). Pistas valiosas são encontradas nas características de evolução das espécies, a maioria desses traços genéticos do plâncton/fitoplâncton são conservadas na evolução, e, tais afirmativas podem ser observadas com base na investigação e construção de filogenias das espécies (Bruggeman 2011).

Este estudo se baseia em uma abordagem experimental controlada realizada com a microbiota de organismos planctônicos acessada por DNA metabarcoding (16S e 18S). Testamos e avaliamos o desenvolvimento desses organismos perante uma simulação de aquecimento, considerando as projeções das mudanças climáticas. Apesar da ampla quantidade de estudos experimentais, há relativamente pouco trabalho em lagos tropicais de regiões do hemisfério Sul, como o Brasil, em relação aos países do hemisfério Norte, considerando especialmente a riqueza de

biodiversidade existente nas proximidades dos trópicos e sua versatilidade e alta capacidade de adaptação. É importante que haja prosseguimento nas investigações para obtenção de dados que esclareçam as relações dos seres vivos com o clima e mudanças previstas, assim como investigar a alta suscetibilidade de espécies a eventos de extinção com a ajuda do cálculo dos índices filogenéticos, como PD e seus derivados.

O objetivo principal é avaliar se houve alteração na diversidade filogenética da microbiota planctônica coletada após o encerramento do experimento, calculando os índices de diversidade filogenética das amostras através das métricas: PD, MPD, MNPD, importante ressaltar que os índices estão respectivamente ligados à base da árvore filogenética onde há espécies mais ancestrais, ao meio dos ramos onde há espécies de surgimento intermediário na escala evolutiva, e, as extremidades dos ramos com espécies de surgimento recente na escala evolutiva. Pretendo: i) Avaliar o efeito do aumento da temperatura na diversidade filogenética da microbiota planctônica através do uso de “metabarcoding”. ii) construir a filogenia dos grupos estudados. iii) Classificar os grupos estudados. iv) estimar os índices filogenéticos através das funções PD, MPD, MNPD. Espera-se que diante do aumento de temperatura haverá maior agrupamento filogenético da microbiota planctônica, promovendo uma homogeneização biótica e à perda de diversidade filogenética.

Metodologia

O experimento foi conduzido em abril de 2016 na Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, Brasil, e, teve início no dia 06 perdurando até o dia 26 daquele mês (Machado 2019). Os microcosmos foram organizados por meio de 20 aquários, cada um com capacidade para 25 litros de água com aquecedores acoplados a termostatos ligados diretamente à eletricidade, os quais foram distribuídos aleatoriamente em quatro tratamentos distintos: Controle (C): temperatura ambiente baseada em dados locais, correspondente a 24°C; Intermediário de temperatura (I): cenário otimista e intermediário de temperatura, com aumento de 2°C para 26°C; Cenário pessimista de temperatura (P): com aumento de 4°C, atingindo 28°C; Cenário pessimista + pessimista de temperatura (PP): com aumento de temperatura duplo, chegando a 8°C de aumento, correspondendo a 32°C.

A água para preenchimento dos aquários foi coletada em um lago oligo-mesotrófico definido de acordo com o IET (índice do estado trófico), em uma área de reserva próxima a área do experimento e cada aquário foi preenchido com 16 litros de água. Não houve filtração prévia da água a fim de evitar que células fito planctônicas fossem perdidas, as espécies de fitoplâncton das amostras foram coletadas no mesmo lago utilizando uma rede de filtração de plâncton com malha de 20 μm ao final da coleta os aquários apresentavam volume de 18,2 litros de água, 16 sem filtração prévia + 2,2 L resultantes da filtração para coleta do fitoplâncton. Para evitar o esgotamento dos nutrientes, adicionamos 5,40 mg L, de nitrato de sódio (NaNO_3) e 0,34 mg de fosfato de potássio (KH_2PO_4). Também foi adicionado uma bomba para que não houvesse a sedimentação dos organismos. Além disso, os aquários foram cobertos com tela de nylon para prevenir a invasão de outros organismos ou a entrada de sujeira (Machado *et. al.*, 2018). Durante a realização do experimento um aquário apresentou problemas com o aquecedor, sendo assim excluído do resultado final.

Considerando que a luz poderia entrar através das paredes dos aquários, o que não ocorre em ambiente natural, foram instaladas por precaução telas pretas de nylon ao redor do local onde se desenvolveu o experimento. O aumento da temperatura foi baseado em dados oferecidos pelo Modelo de Circulação Global Atmosfera Oceano (AOGCM) e modelo de Sistema Climático comunitário (CCSM), disponíveis na base de dados Ecoclimate (Lima-Ribeiro *et. al.*, 2015). Os aquários foram expostos a luz e clima naturais durante todo o experimento, a temperatura dos aquários pertencentes aos tratamentos Intermediário, Pessimista e Pessimista-pessimista foi manipulada através do uso de um termostato acoplado aos aquários, exceto nos aquários pertencentes ao tratamento controle, assim foi mantido a temperatura acima da média por volta de 3°C em todos os tratamentos manipulados. Todos os aquários acompanharam as oscilações de clima local (dias chuvosos, secos, quentes). O

experimento foi conduzido por 3 semanas, uma média de 20 dias, considerado o tempo de geração dos organismos (Domaizon *et. al.*, 2012).

Após o último dia de experimento foram coletados 500ml de água de cada microcosmo e armazenadas em geladeira para posterior filtração, que ocorreu em um período de 24h. A primeira filtração foi realizada utilizando uma bomba a vácuo em filtro de celulose Millipore com 3 µm, seguida pela segunda filtração da água resultante do processo utilizando filtros de 0,22 µm. Isso resultou na obtenção de organismos: micro eucariotos (algas, protozoários e fungos), nano procariota (bactérias com diâmetro de 2 a 10 micrometros) e Pico procariotas (organismos procariotos que medem entre 0,2 a 2 micrômetros). Cada filtro foi adicionado em tubos Falcon e armazenado em nitrogênio líquido a -80°C.

Análises genômicas

Em seguida o DNA total de procariotos e eucariotos foi extraído seguindo o protocolo do Kit de isolamento de DNA PowerWater® (MoBio). O DNA eucariótico (rDNA) foi amplificado por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) usando os primers TAREuk45FWD1 e TAREukREV3 (Stoeck *et. al.*, 2010), seguindo o protocolo descrito no kit Taq PCR Master Mix Qiagen. Para o DNA procariótico, a amplificação foi realizada usando os primers BAC341F e BAC785R (com adaptadores Illumina adicionados, baseado em Klindworth *et al.*, 2013), direcionados ao 16S rDNA, conforme as instruções do Kit ReadyMix™ Taq PCR Reaction Mix. As amplificações foram realizadas em triplicata, e o DNA resultante foi analisado em gel de agarose 1,5%. (Machado *et al.*, 2020).

Durante a preparação das bibliotecas Illumina, as triplicatas foram agrupadas em um único tubo, seguindo as informações de Kit Nextera XT Index 2 da Illumina, por meio de uma reação de PCR limitada. As amostras passaram por um processo de purificação utilizando as miçangas AMPure XP da Agencourt (Beckman Coulter). Para o DNA eucarioto um fragmento hipervariável de 18s rDNA utilizando os primers TAREuk45FWD1 e TAREukREV3, seguindo os protocolos descritos em kit Taq PCR Master Mix Qiagen. As bibliotecas indexadas forma contadas com Real Time PCR com o Kappa Library Quantification kit e validadas pelo bioanalisador. As bibliotecas de cada rplica, foram normalizadas para 4nM e sequenciadas utilizando o MiSeq Kit de Reagentes v3 (600 ciclos).

A qualidade das sequências foi avaliada utilizando o software FastQC (Andrews 2010). Sequencias que apresentavam tamanho menor que 100pb ou bases com valor de Phred<20 foram arquivados utilizando o software trimomatic (Bolger *et al.*, 2014). Nessa etapa também removeram adaptadores. A previsão das OTUs foi feita utilizando o pipeline UPARSE (Edgar *et. al.*, 2013), que

consistiu em: (a) montagem das sequências, (b) separação das sequências por tratamento, (c) desrepliação com a identidade das sequências únicas e filtradas das quimeras, (d) agrupamento das sequências com similaridade acima de 97% em uma mesma OTU, (e) obtenção da tabela de OTUs por tratamento.

Posteriormente, o tamanho do amplicon foi verificado utilizando um kit de DNA de alta sensibilidade da Agilent no Bioanalyzer (Agilent). A qualidade das sequências foi avaliada utilizando o software FastQC (Andrews 2010). Sequências que apresentaram tamanho menor que 100 pb ou bases com pontuação Phred abaixo de 20 foram excluídas, utilizando o software Trimmomatic (Bolger *et. al.*, 2014). Nesta etapa, também foram removidos quaisquer adaptadores indesejáveis. A predição taxonômica será realizada por um BLASTn (Altschul *et. al.*, 1990), das sequências representativas das OTUs contra o banco de dados Silva 128 usando um percentual de identidade de 97%. Sequências de OTUs que foram classificadas como não pertencentes à microbiota planctônica foram removidas para análises posteriores.

Para a realização deste trabalho após a obtenção dos dados, fizemos uma filtragem através de um programa chamado Geanny que foi responsável por excluir as OTUs que apresentavam inconsistências incompatíveis com a construção da filogenia e cálculo dos índices de diversidade filogenética. Para as pesquisas aqui descritas foram utilizadas 123 OTUs para procariotos, e 127 OTUs para eucariotos, classificadas e não classificadas, resultantes do experimento.

Análises estatísticas

A filogenia foi construída utilizando o servidor: NGphylogeny.fr, sendo a análise das sequências feita através do muscle (Edgar 2004), e a análise filogenética foi utilizada a máxima verossimilhança (Guindon 2010) através do modelo evolutivo GTR, (Junier 2010) utilizando o suporte Bootstrap (Lemoine 2018) com 1000 pseudo réplicas. Durante a construção da filogenia não foi possível estimar os índices de diversidade filogenética do aquário 3 do tratamento controle, do aquário 5 do tratamento intermediário e do aquário 3, referente ao tratamento pessimista – pessimista, pois eram comunidades constituídas de apenas uma OTU a qual não gerou árvore enraizada.

Os cálculos dos índices filogenéticos foram realizados no software R (R Core Team, 2018), utilizando o pacote Picante (Kembel *et. al.*; 2020). A diversidade filogenética foi calculada através da função PD (Faith 1992) através da soma dos ramos do cladograma/filogenia conectando as spp. de cada comunidade; a MPD distância filogenética média dos pares (mean pairwise distance), em uma comunidade também foi utilizada como medida de diversidade filogenética (Webb *et al.* 2000), e foi calculado também a MNPd (mean nearest taxon distance), similar a MPD pois contam

as distâncias médias dos pares de espécies mais próximas filogeneticamente em uma comunidade, uma medida que representa melhor padrões evolutivos mais "recentes".

Os dados foram testados para analisar a homogeneidade das variâncias através da função: “barlett.test”, em seguida foram realizadas ANOVAs para os resultados dos índices de diversidade referentes à cada matriz analisada, através do pacote Vegan (Oksanen *et al.*; 2020) do R, utilizando a função “aov”. Em seguida foi realizado um teste de Shapiro-wilk para normalizar os dados e um teste de Tukey foi adicionado ao final para identificar em qual tratamento se encontravam alterações significativas, utilizando a função “TukeyHSD”.

Resultados

Após a obtenção das OTUs, geramos uma filogenia para quantificar a verossimilhança das unidades encontradas, e, assim foi possível plotar figuras de árvores filogenéticas que resultou em algumas imagens. Utilizamos apenas as figuras que mostram árvores construídas pelos conjuntos de grupos tróficos para melhor visualização, já que esses grupos apresentam tanto as OTUs classificadas taxonomicamente, quanto as não classificadas taxonomicamente (Figuras 1, 2, 3, 4 e 5). Nós obtemos 250 OTUs, que foram analisadas no blast para fornecimento da classificação dos organismos encontrados. Na área de anexos deste trabalho há tabelas com a classificação das OTUs presentes nas árvores filogenéticas geradas. Ver mais detalhes de classificação das OTUs na seção de material suplementar ao final do trabalho.

Nove matrizes com organismos pertencentes ao microplâncton sendo: algas, fungos, protozoários e bactérias foram geradas, são elas: (i) eucariotos não classificados taxonomicamente; (ii) eucariotos classificados taxonomicamente; (iii) eucariotos autotróficos; (iv) eucariotos heterotróficos; (v) eucariotos mixotróficos. E os procariotos também foram separados como: (i) procariontes classificados e não classificados taxonomicamente; (ii) procariontes classificados taxonomicamente; (iii) procariontes autotróficos; (iv) procariontes heterotróficos. Não foram encontrados procariontes mixotrófico. Classificamos todas as espécies encontradas com as análises das OTUs, de acordo com NCBI, aqui colocamos tabelas com os grupos classificados a nível de: classificação geral para eucariotos e ordem/família para procariotos, apenas 1 OTU pertencente aos procariotos não pode ser classificada, por não apresentar árvore filogenética enraizada (tabela 1 e 2).

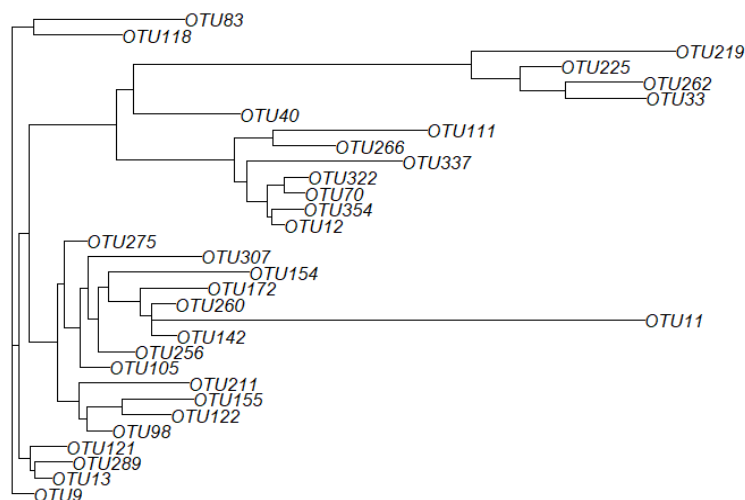


Figura 1. Árvore filogenética construída com base nos organismos eucariotos autotróficos encontrados.

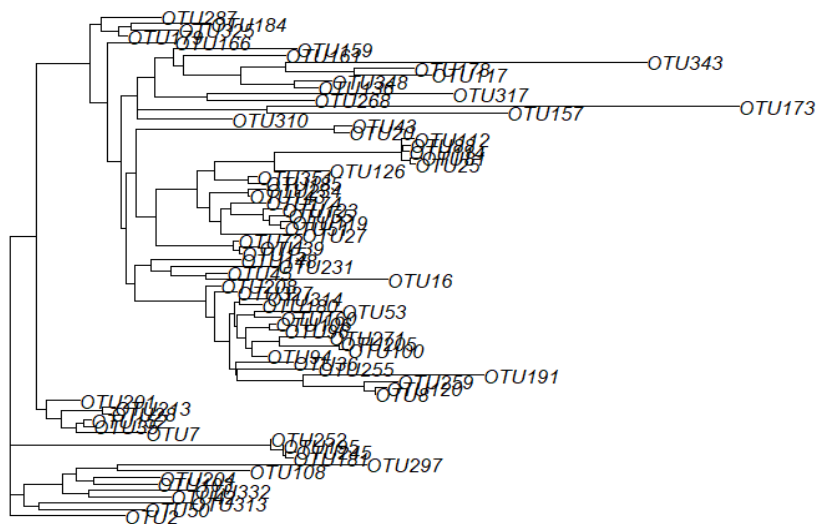


Figura 2. Árvore filogenética construída com base nos organismos eucariotos heterotróficos encontrados.

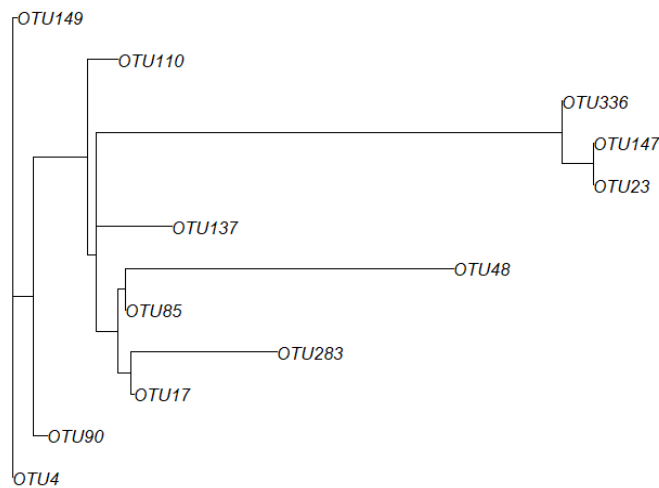


Figura 3. Árvore filogenética construída com base nos organismos eucariotos mixotróficos encontrados.

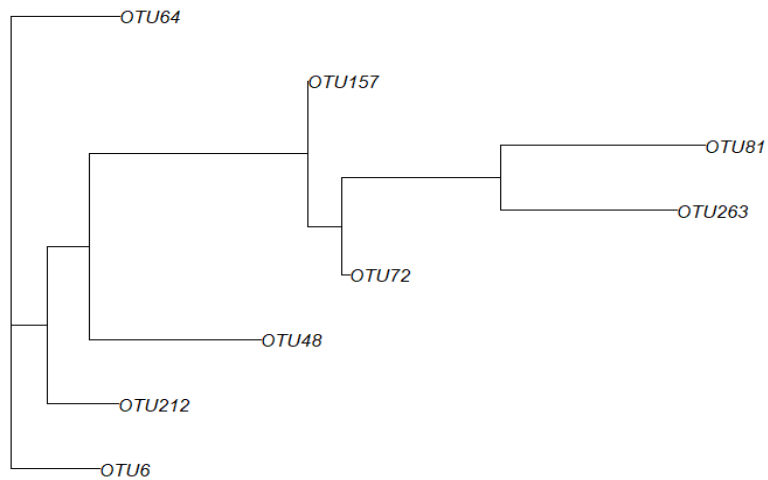


Figura 4. Árvore filogenética construída com base nos organismos procariotos autotróficos encontrados.

Perkinsidae	-	1	-
Peronosporomycetes	-	1	-
Bacillariophyta	1	-	-
Total		120	

Tabela 2. Tabela apresentando a classificação dos organismos encontrados para procariotos a nível de gênero, e a quantidade

Ordem/Família	Procarioto autotrófico	Procarioto heterotrófico
Proteobacteria	1	87
Actinobacteria	-	7
Bacteroidetes	-	14
Cyanobacteria	7	-
Armatimonadetes	-	4
Planctomycetes	-	2
Spirochaetae	-	1
Verrucomicrobia	-	3
Acidobacteria	-	2
Chlorobia	-	1
Total	129	

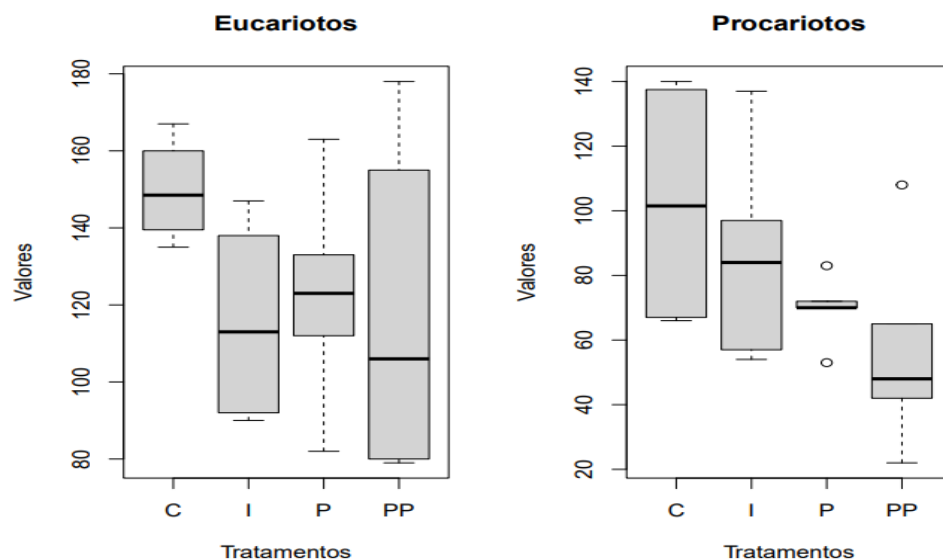


Figura 6. Boxplots demonstrando a média da riqueza total de cada grupo encontrado: eucariotos e procariotos.

Os índices de diversidade gerados apresentaram os resultados para a média da distância filogenética entre as espécies, sendo PD relativo as bases da árvore, MPD relativo às regiões dos ramos da árvore, e o MNPD relativo as terminações dos ramos da árvore. As matrizes analisadas apresentaram 513 valores de resultados somando PD, MPD, MNPD; exceto 18 pois não foi possível estimar a riqueza referente a esses aquários, pois, a única OTU para essas comunidades não apresentou árvore filogenética enraizada, sendo assim temos um total de 495 valores de índices filogenéticos (ver figura 7 e 8).

Os resultados mostram que houve uma depleção mínima de espécies entre os tratamentos diante do aumento de temperatura. As ANOVAs realizadas não apresentaram valores significativos para todos os índices, (ver tabelas 3 e 4), apenas para o MNPD de eucariotos geral e classificados, presentes nos tratamentos I-C de acordo com os testes de Tukey realizados. No geral foram encontrados valores de p discordantes da hipótese, indicando que o experimento não promoveu uma depleção significativa de espécies com o aquecimento, o que não alterou a dispersão ou agrupamento das espécies, exceto pelo índice de MNPD para eucariotos geral e eucariotos classificados taxonomicamente dos tratamentos controle e intermediário (ver figuras 7 e 8).

Tabela 3. Valores gerados pela ANOVA de fator único para os organismos eucariotos totais

Eucariotos Total					
PD					
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Tratamento	3	110,8	36,92	0,524	0,672
Residuals	15	1056	70,4		
MPD					
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Tratamento	3	0,03049	0,01016	0,819	0,503
Residuals	15	0,18612	0,01241		
MNPD					
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Tratamento	3	0,02112	0,00704	4,439	0,0201
Residuals	15	0,02379	0,001586		

Tabela 4. Valores gerados pela ANOVA de fator único para os organismos procariotos totais

Procariotos Total					
PD					
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Tratamento	3	1222	407,2	1,023	0,41
Residuals	15	5973	398,2		
MPD					
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Tratamento	3	0,646	0,2153	0,379	0,77
Residuals	15	8,533	0,5688		
MNPD					
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Tratamento	3	0,0593	0,01978	0,169	0,915
Residuals	15	1,7505	0,1167		

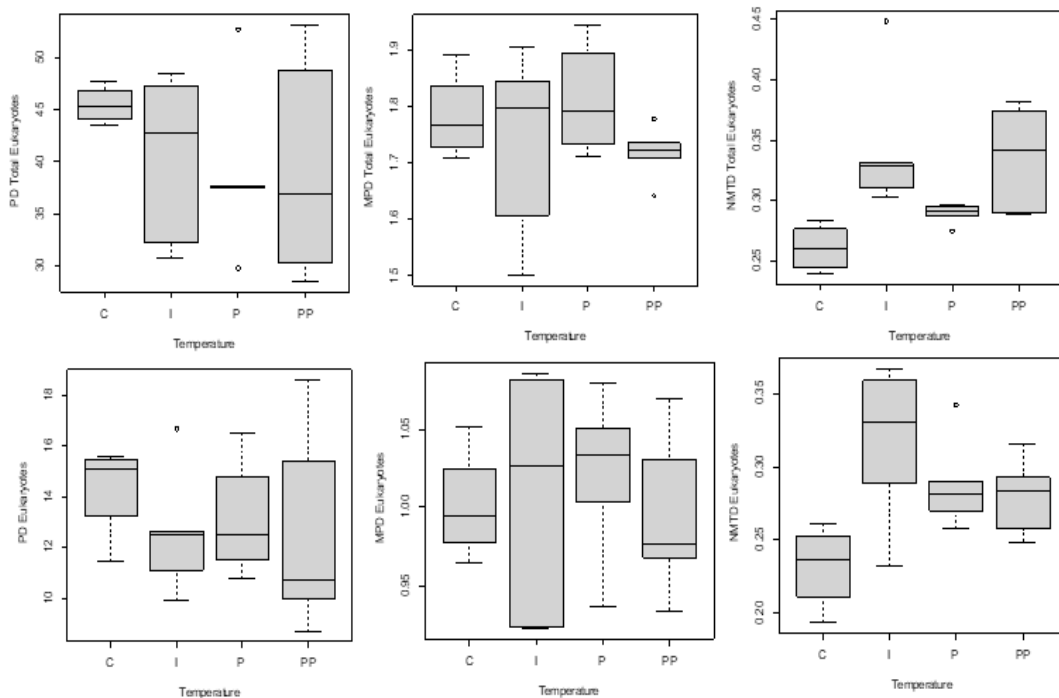


Figura 7. Gráficos apresentando os valores de mediana e menor e maior valor dos conjuntos de dados, assim como diferença interquartil para cada índice de diversidade calculado para eucariotos totais e eucariotos classificados, sendo os índices PD, MPD, NMPD respectivamente. C = 24°C, I = 26°C, P = 28°C, PP =32°C.

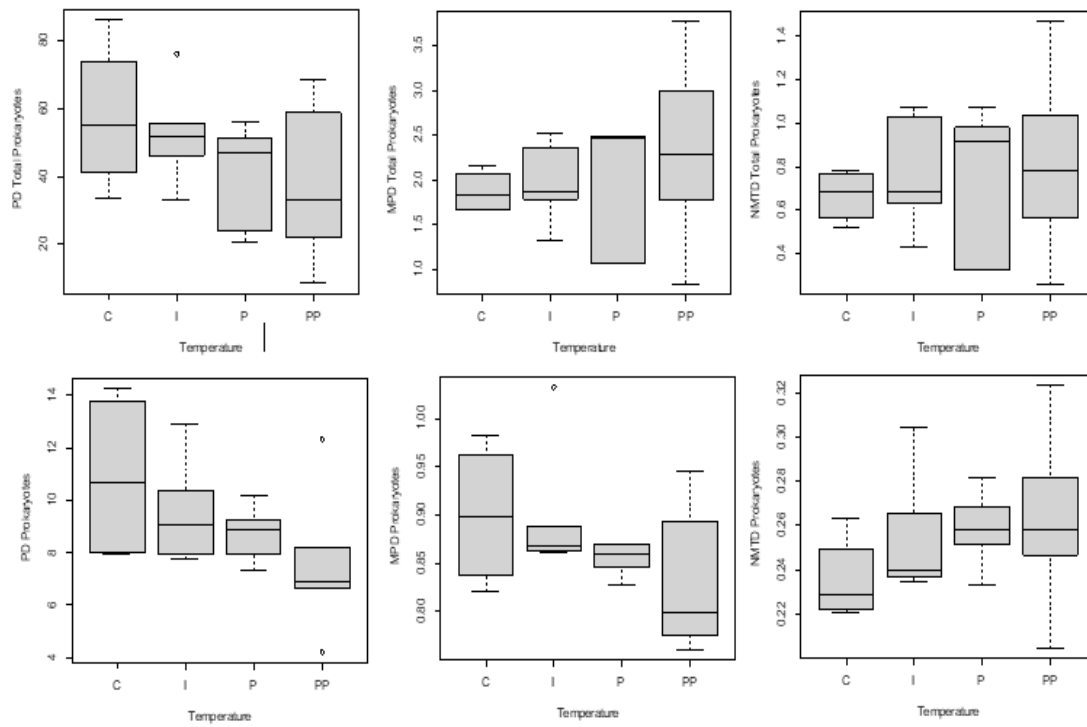


Figura 8. Gráficos apresentando os valores de mediana e menor e maior valor dos conjuntos de dados, assim como diferença interquartil para cada índice de diversidade calculado para procariotos totais e procariotos classificados, sendo os índices: PD, MPD, NMPD respectivamente. C = 24°C, I = 26°C, P = 28°C, PP = 32°C.

Discussão

Prever como o aquecimento global pode afetar os seres vivos é uma das tarefas do século, em especial levando em consideração o momento de ebulição global pelo qual estamos passando com as temperaturas batendo recordes elevados todos os anos. No ambiente aquático temos a microbiota planctônica como um exemplo funcional para essa avaliação, e, com importantes espécies compondo sua diversidade, como por exemplo, as cianobactérias que são popularmente conhecidas como organismos que causam danos à saúde humana diante da eutrofização de rios e lagos. O aquecimento promove alterações físico-químicas na água, como diminuição na quantidade de oxigênio dissolvido, e os efeitos sobre a composição da microbiota planctônica são adversos, e em especial na composição dos organismos com substituição de espécies e prevalência de alguns grupos sobre outros, evidenciando a importância de avaliarmos o risco de extinção de organismos com funções importantes que são componentes da microbiota planctônica (Machado *et. al.*, 2018).

Eventos de mudanças climáticas são multifatoriais e acontecem em efeito cascata, quando algo entra em desequilíbrio afeta outros aspectos do ambiente, provocando alterações negativas para os organismos. O aumento de temperatura por si só não se revela um causador de alterações nas comunidades planctônicas procariontas, mas provocou alterações nas comunidades eucariotas; há informações onde o aquecimento combinado ao enriquecimento por nutrientes, provoca um notável aumento dos organismos planctônicos (Wieliczko *et. al.*, 2019). A interação do calor e excesso de nutrientes é mais significativa em ambientes oligotróficos, gerando uma mudança em direção a heterotrofia líquida nesses ambientes, (Huete-Stauffer *et.al.*, 2018). O aquecimento e a adição de nutrientes estimulam sinergicamente o aumento da biomassa desses organismos em ambientes não oligotróficos (Fernández-González *et. al.*, 2022). As principais lacunas no estudo da temperatura sobre os organismos isoladamente é o fato de as espécies terem hábitos influenciados por múltiplos fatores.

A diversidade dos organismos planctônicos está ligada às alterações da quantidade de nutrientes na água, medições de populações desses organismos utilizando métricas de diversidade filogenética revelaram redução de algas em lagos eutrofizados, após a redução de nutrientes, dessa forma podem ser mais uma variável de medida para auxiliar no tratamento de ambientes aquáticos inviabilizados pela proliferação excessiva de algas prejudiciais (Lili *et. al.*, 2013). Os organismos componentes do plâncton funcionam como organismos sentinela, devido ao seu breve período de vida e alta variabilidade e diversificação em comparação ao demais seres vivos da cadeia alimentar, sendo os processos heterotróficos aumentados em par com a temperatura, em parte devido à alta do pastejo do zooplâncton sobre o fitoplâncton, prevalecendo no fitoplâncton, bactérias; e organismos

mixotróficos tendem a se adaptar melhor ao longo de estudos de experimentação com temperatura (Cabrezino *et. al.*, 2024). Medidas de diversidade filogenética tem sido frequentemente utilizadas para planejamento de conservação.

As árvores filogenéticas aqui observadas revelam uma alta diversidade de espécies eucariotas e procariotas heterotróficas, o que indica dispersão de espécies compartilhando poucos genes evolutivos entre si, é esperado que uma maior quantidade de espécies leve a valores altos de PD (Tsirogiannis *et. al.*, 2016), mostrando uma alta diversificação. Houve apenas uma OTU não enraizada, a qual pode conter espécies pertencentes a clados das OTUs presentes. Os resultados encontrados onde houve um valor de p abaixo de 0,05, refere-se ao MNPD dos tratamentos I-C para eucariotos geral e classificados, indicando a possibilidade de haver espécies sensíveis que se localizam nas extremidades dos ramos da árvore filogenética (Hong *et. al.*, 2022). O que indica uma necessidade de investigar as possibilidades de homogeneização das espécies diante de mudanças ambientais adversas, bem como a vulnerabilidade das mesmas a eventos de extinção.

Apesar do aquecimento alterar as condições e padrão de sobrevivência dos organismos, não houve depleção significativa de espécies em todos os tratamentos com temperaturas mais altas para procariotos, indicando que diante das condições de realização do experimento, isso não provocou alteração considerável dos aspectos da água para que houvesse empecilho do desenvolvimento dessas espécies, exceto para os eucariotos, levando em consideração que ambientes oligotróficos, nosso local de coleta, possuem uma riqueza relativamente reduzida de espécies (Vieira 2023), em especial devido à baixa quantidade de nutrientes suspensos na água, sendo classificados como ambientes de águas claras. Apesar da temperatura representar fundamental importância no comportamento e composição da microbiota planctônica, o aquecimento provocou pouca alteração que impusesse barreiras no desenvolvimento das espécies amostradas, codificações por metabarcoding revelaram que há alterações nos táxons de espécies sujeitas ao super aquecimento, assim como substituições por sucessão ecológica (Machado *et. al.*, 2020).

Os diversos estudos provocam a necessidade de se aprofundar no monitoramento e experimentação em ambientes aquáticos, levando em consideração sua indispensável função para a manutenção da vida na terra, com seus serviços ecossistêmicos oferecidos, e sua produtividade primária nesses ambientes, onde alterações significativas podem alterar os níveis tróficos. O estudo desses serviços tende a favorecer o encontro de relações entre eles, o que aumenta as chances de reproduzirmos tais situações, favorecendo a recuperação de habitats e impedindo *trade-offs* (promoção de um serviço em detrimento de outro – o que ocorre de forma involuntário ou não),

baixando a qualidade da água (Bennett *et. al.*, 2009). Estudos atuais focam também em experimentação controlada para medir os efeitos da luz associada às flutuações de temperatura sobre as comunidades planctônicas, e, foi deduzido que a quantidade de luminosidade influencia na floração de cianobactérias e a conseqüente diminuição da riqueza de heterótrofos, levando a uma alteração de níveis tróficos, confirmando que a diminuição da diversidade de espécies é permeada por diversos fatores (Stockenreiter *et. al.*, 2021).

Estudos recentes tem focado na interação entre luz e temperatura, sendo a luz o principal causador de aumento na biomassa de cianobactérias na primavera e o declínio da luz principal responsável pela diminuição de diatomáceas, por exemplo, alterando diretamente a biomassa algal nos ambientes, sendo o processo de evaporação da água diante de períodos de seca prolongados devido a altas temperaturas, um fator crucial na concentração de nutrientes dissolvidos que promovem melhores condições de multiplicação de espécies prejudiciais (Zhang *et. al.*, 2022). O impacto da temperatura depende da limitação de nutrientes disponíveis na água, por exemplo, o que leva a importância de mais experimentação na área para compreender os efeitos do aquecimento (Wu *et. al.*, 2021).

Na abundância também não foram observadas alterações na composição dos organismos amostrados, exceto pelos fatores já descritos relacionados a substituição de táxons, e, prevalência de espécies mais generalistas, que são em parte células menores, que tem mais sucesso quanto a redução do oxigênio dissolvido, algo comprovado diante das altas temperaturas (Machado *et. al.*, 2018), assim faz sentido não haver alterações significativas para os resultados encontrados com os cálculos das métricas de índices de diversidade filogenética. O fator do local de coleta ser oligotrófico e haverem OTUs não enraizadas que não puderam ser integradas as construções das árvores filogenéticas representam uma limitação para o estudo.

Conclusão

Através de estudos com experimentação podemos manipular e controlar flutuações de temperatura para observar o comportamento dos seres vivos, em especial o plâncton, responsável pela produtividade primária de ambientes de água doce e composto por espécies com alto potencial de eutrofização e alteração dos níveis tróficos de lagos, no nosso caso, tropicais. Porém as mudanças climáticas que se abatem sobre o planeta, são multifatoriais, não sendo possível medir tais impactos negativos com apenas um fator isoladamente. Os índices de diversidade filogenética nos indicam que não houveram mudanças significativas na composição das espécies amostradas, pelo menos mudanças fora do que já se tem relatado em estudos anteriores. Há relativamente pouco estudo publicado hoje onde se utilizam diretamente PD, MPD e NMPD relacionadas ao ambiente aquático, o que deixa lacunas de conhecimento do potencial delas para investigar eventuais problemas de mudanças climáticas e eventos de extinção. Espécies mais recentes, nas pontas dos ramos filogenéticos, são denominadas específicas e são menos adaptáveis, sendo as mais vulneráveis a situações extremas, compondo organismos de fundamental importância para manutenção da qualidade da água. Estudar amplamente a aplicação desses índices pode acrescentar ainda mais conhecimento para mitigar os efeitos das mudanças climáticas.

Referências bibliográficas

Al-Ghussain L. Global Warming: Review on Driving Forces and Mitigation. **Environmental Progress & Sustainable Energy**. V. 18 N. 1. Pag 13-21. Jan/Fev – 2019.

Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W., Lipman, D.J. Basic Local Alignment Search Tool. **Journal Of Molecular Biology**. 1990. V. 215. Pág. 403–410. Encontrado Em <[https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)>.

Andrews, S. Fastqc: A Quality Control Tool For High Throughput Sequence Data. **Babrahan Bioinformatics**. 2010. Encontrado Em <<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>>.

Angeles B I, Romero-Martínez L M, Cavaliere M, Varrella S, Francescangeli F, Piredda R, Mazzocchi G M, Montresor M, Schirone A, Delbono I, Margiotta F, Corinaldesi C, Chiavarini S, Montereali R M, Rimauro J, Parrella L, Luigi M, Dell’Anno A, Tangherlini M, Pawlowski J, Frontalini F. Encapsulated In Sediments: Edna Deciphers the Ecosystem History of One of the Most Polluted European Marine Sites. **Environment International**. Itália – 2023. Encontrado Em <https://doi.org/10.1016/j.envint.2023.107738>.

Bennett M. E., Peterson D. G., Gordon J. L.; Understanding Relationships Among Multiple Ecosystem Services. **Ecology Letters**. Canada. 2009. V. 12. N. 1394-1404.

Bolger, A.M., Lohse, M., Usadel, B., Trimmomatic: A Flexible Trimmer for Illumina Sequence Data. **Bioinformatics**. 2014. V. 30. Pág. 2114–2120. Encontrado Em <<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>>.

Bruggeman J. A Phylogenetic Approach to The Estimation of Phytoplankton Traits. **Phycological Society of América**. Oxford. 2011. V. 47.

Tsirogiannis C., Sandel B. PhyloMeasures: a package for computing phylogenetic biodiversity measures and their statistical moments. **Ecography**. 2016. V. 39. P. 709–714.

Cabrerizo J. M., Happe A., Ahme A., John U., Olsson M., Striebel M,. Moderate and Extreme Warming Under a Varied Resource Supply Alter the Microzooplankton-phytoplankton Coupling North Sea Coastal Communities. **Limnology and Oceanography**. 2024. Encontrado em < Creative Commons Attribution-NonCommercial >.

Cianciaruso V M., Silva A I., Batalha A M. Diversidades Filogenética E Funcional: Novas Abordagens Para A Ecologia De Comunidades. **Biota Neotropica**. Brasil - 2009. V. 9. N. 3.

Chen W., Zhang K.C., Cheng Y., Zhang S., Zhao H. A Comparison Of Methods For Clustering 16S Rrna Sequences Into Otus. **Plos One**. August 2013. Volume 8. Issue 8.

Lili D., Qingyun Y., Liang L., Hong L., Lijing W., Weisong F., Gang P., Yuhe Y. Microplankton Community Dynamics During The Algae Removal Process For Nutrient Control. **Fresenius Environmental Bulletin**. 2013. V. 22. N. 12.

Gwendoline D M., López-García P., Moreira D., Alric B., Deschamps P., Bertolino P., Restoux G., Rochelle-Newall E., Thébault E., Simon M., Jardillier L. Small Freshwater Ecosystems With Dissimilar Microbial Communities Exhibit Similar Temporal Patterns. **Molecular Ecology**. France – 2021. Encontrado Em <Wileyonlinelibrary.Com/Journal/Mec>.

Donat H., Paul W B., Comparing The Impacts Of Climate Change On The Responses And Linkages Between Terrestrial And Aquatic Ecosystems. **Science Of The Total Environment**. 2019. Encontrado Em <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.024>>.

Domaizon I., Lepère C., Debroas D., Bouvy M., Ghiglione F J., Jacquet S., Bettarel Y., Bouvier C., Torrétón P J., Vidussi F., Mostajir B., Kirkham A., Lefloc'h E., Fouilland E., Montanié H., Bouvier T. Short-Term Responses Of Unicellular Planktonic Eukaryotes To Increases In Temperature And UVB Radiation. **Biomed Central**. France - 2012. V. 12. N. 202.

Drummond J A., Newcomb D R., Buckley R T., Xie D., Dopheide A., Potter C M B., Heled J., Ross A H., Tooman L., Grosser S., Park D., Demetras J N., Stevens I M., Russell C J., Anderson H S., Carter A., Nelson N. Evaluating A Multigene Environmental DNA Approach For Biodiversity Assessment. **Biomed Central**. New Zeland – 2015. V. 4. N. 46.

Edgar R C. Uparse: Sequências Altamente Precisas De Leituras De Amplicons Microbianos. **Nat. Métodos**. 2013. V. 10. Pág. 996-998.

Edgar C R. MUSCLE: Multiple Sequence Alignment With High Accuracy And High Throughput. **Nucleic Acids Research**. 2004. V. 32. Pag. 1792–1797. Encontrado Em <Doi:10.1093/Nar/Gkh340>.

Edgar R C. MUSCLE: A Multiple Sequence Alignment Method With Reduced Time And Space Complexity. **BMC Bioinformatics**. 2004. V. 5. Pag. 113. Encontrado Em <Doi:10.1186/1471-2105-5-113>.

Faith D P. Conservation Evaluation And Phylogenetic Diversity. **Biological Conservation**. 1992. V. 61. N. 1. Pág. 1-10.

Faith D P. Conservation Priorities And Phylogenetic Pattern. **Biological Conservation**. 1996. V. 10. N. 4. Pág. 1286-1289.

Fernández-González C., Tarran A G., Schuback N., Woodward E., Malcolm S., Arístegui J., Marañón E. Phytoplankton Responses To Changing Temperature And Nutrient Availability Are Consistent Across The Tropical And Subtropical Atlantic. **Biologia Das Comunicações**. 2022. Encontrado Em <<https://doi.org/10.1038/S42003-022-03971-Z>>.

Guindon S., Dufayard F J., Lefort V., Anisimova M., Hordijk W., Gascuel O. New Algorithms And Methods To Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing The Performance Of Phyml 3.0. **Systematic Biology**. 2010. V. 59. Pag. 307–321. Encontrado Em <doi:10.1093/Sysbio/Syq010>.

Goldi D Z., Sprague J., Kushner J D., Marin Z E., Barber H P. Edna Metabarcoding As A Biomonitoring Tool For Marine Protected Áreas. **Plos One**. February – 2021. Encontrado Em <https://doi.org/10.1371/Journal.Pone.0238557>

Hoppe H-G., Breithaupt P., Walther K., Koppe R., Bleck S., Sommer U., Jürgens K. Climate Warming In Winter Affects The Coupling Between Phytoplankton And Bacteria During The Spring Bloom: A Mesocosm Study. **Aquatic Microbial Ecology**. Germany. Maio - 2019. V. 51. P. 105-115.

Huete-Stauffer M T., Arandia-Gorostidi N., Gonza'Lez-Beni'Tez N., Di'Az-Pe'Rez L., Calvo-Di'Az A., Mora'N G A X. Large Plankton Enhance Heterotrophy Under Experimental Warming In A Temperate Coastal Ecosystem. **Ecosystems**. Espanha - 2018. Encontrado Em <https://doi.org/10.1007/S10021-017-0208->.

Junier T., Zdobnov E M. The Newick Utilities: High-Throughput Phylogenetic Tree Processing In The UNIX Shell. **Bioinformatics**. 2010. V. 26. Pag. 1669–1670. Encontrado Em <doi:10.1093/Bioinformatics/Btq243>.

Kekkonen M., Hebert N. D. P. DNA Barcode-Based Delineation Of Putative Species: Efficient Start For Taxonomic Workflows. **Molecular Ecology Resources**. 2014. N. 14. Pag 706-715.

Kembel S W., Cowan P D., Helmus M R., Cornwell W K., Morlon H., Ackerly D D., Blomberg S P., Webb C O. Picante: R tools for integrating phylogenies and ecology. **Bioinformatics**. 2010. V. 26 N. 11. P. 1463-1464. Encontrado em <doi: 10.1093/bioinformatics/btq166>.

Kasprzak P, Benndorf J, Mehner T, Koschel R. Biomanipulation Of Lake Ecosystems: An Introduction. **Freshwater Biology**. 2002. V. 47.

Kravtsova L., Vorobyeva S., Naumova E., Izhboldina L., Mincheva E., Potemkina T., Pomazkina G., Rodionova E., Onishchuk N., Sakirko M., Nebesnykh I., Khanaev I. Response Of Aquatic Organisms Communities To Global Climate Changes And Anthropogenic Impact: Evidence From Listvennichny Bay Of Lake Baikal. **Biology**. 2021. Encontrado Em <https://doi.org/10.3390/Biology10090904>.

Kim - Pong T., Leung A K. Y., Brandon K. Perceived Cultural Impacts Of Climate Change Motivate Climate Action And Support For Climate Policy. **Mudanças Climáticas**. 2022. Encontrado Em <<https://doi.org/10.1007/S10584-022-03337-8>>.

Lemoine F., Domelevo J B E., Wilkinson E., Correia D., Dávila M F., Oliveira T D., O Gascuel. Renewing Felsenstein's Phylogenetic Bootstrap In The Era Of Big Data . **Nature**. 2018. V. 556. Pag. 452–456. Encontrado Em <doi:10.1038/S41586-018-0043-0>.

Lewandowska M A., Boyce G D., Hofmann M., Matthiessen B., Sommer U., Worm B. Effects Of Sea Surface Warming On Marine Plankton. **Ecology Letters**. 2014. N. 17. Pag 614-623.

Li F., Peng Y., Fang W., Altermatt F., Xie Y., Yang J., Zhang X. Application Of Environmental DNA Metabarcoding For Predicting Anthropogenic Pollution In Rivers. **Environmental Science & Technology**. Encontrado Em <10.1021/Acs.Est.8b03869>.

Lima-Ribeiro M S., Varela S., González-Hernández J., Oliveira G., Diniz-Filho J A F., Terribile, L C. Ecoclimate: Um Banco De Dados De Dados Climáticos De Múltiplos Modelos Do Passado, Presente E Futuro Para Macroecologistas E Biogeógrafos. **Informática Sobre Biodiversidade**. 2015. V. 10. Pag. 1-21.

Machado B K., Antunes M A., Targueta P C., Fernandes G J., Soares N T., Nabout C J. DNA Metabarcoding Reveals The Responses Of Prokaryotes And Eukaryotes Microbiota To Warming: Are The Patterns Similar Between Taxonomic And Trophic Groups? **Ecological Indicators**. Agosto – 2022. Encontrado Em: <<https://doi.org/10.1016/J.Ecolind.2020.106452>>.

Machado B K., Vieira G C L., Nabout C J. Predicting The Dynamics Of Taxonomic And Functional Phytoplankton Compositions In Different Global Warming Scenarios. **Hidrobiologia**. 2018. V. 830. Encontrado Em: <<https://doi.org/10.1007/S10750-018-3858-7>>.

Machado B K. **Composição Taxonômica, Funcional E Molecular Da Microbiota Planetônica: Integrando Diferentes Níveis Tróficos Na Ecologia Aquática**. Tese Doutorado. Universidade Federal De Goiás – Ufg Instituto De Ciências Biológicas Programa De Pós-Graduação Em Ecologia E Evolução. Goiânia – 2019.

Murphy P E., Grace Romanuk N T., Worm B. Cascading Effects Of Climate Change On Plankton Community Structure. **Ecology And Evolution**. Canadá – 2019. Encontrado Em <[Www.Ecolevol.Org](http://www.Ecolevol.Org)>.

Morash J A., Neufeld C., Maccormack J T., Currie S. The Importance Of Incorporating Natural Thermal Variation When Evaluating Physiological Performance In Wild Species. **The Company Of Biologists Ltd / Journal Of Experimental Biology**. 2018. V. 221.

Neale J P., Williamson E C., Banaszak T A., Häder P D., Hylander S., Ossola R R C K., Wängberg A S., Zepp R. The Response Of Aquatic Ecosystems To The Interactive Effects Of Stratospheric Ozone Depletion, UV Radiation, And Climate Change. **Photochemical & Photobiological Sciences**. 2023. Encontrado Em <https://doi.org/10.1007/S43630-023-00370-Z>.

Oksanen J., Blanchet F G., Friendly M., Kindt R., Legendre P., McGlinn D., Minchin P R., O'Hara R B., Simpson G L., Solymos P., Stevens M H H., Szoecs E., Wagner H. Vegan: Community Ecology Package. **R package version 2.5-7**. Encontrado em <<https://cran.r-project.org/package=vegan>>.

Pryia K A., Muruganandam M., Sivarethinamohan R., Jatha G R K M., Prya V., Gomathi R., Gokulan R., Thirumala G R., Senthil M K. Impact of climate change and anthropogenic Activities on aquatic ecosystem – a review. **Environmental Research**. Dec. 2023. V. 238.

Santana O L. **Efeito Do Aquecimento E Do Uso Do Solo Sobre A Comunidade De Protistas Ciliados Planctônicos**. Dissertação. Mestrado. Programa De Pós-Graduação Em Ecologia De Ambientes Aquáticos Continentais. Universidade Estadual De Maringá Centro De Ciências Biológicas Departamento De Biologia. Maringá-RS. 2023.

Stoeck T., Pan H., Dully V., Forster D., Jung T. Towards An Edna Metabarcoding-Based Performance Indicator For Fullscale Municipal Wastewater Treatment Plants. **Water Research**. 2018. Encontrado Em: <<https://doi.org/10.1016/J.Watres.2018.07.051>>.

Strandberg U., Hiltunen M., Syväranta J., Eti E., Brett T M L., Davidson A T., Jeppesen E. Combined Effects Of Eutrophication And Warming On Polyunsaturated Fatty Acids In Complex Phytoplankton Communities: A Mesocosm Experiment. **Science Of The Total Environment**. 2022. Encontrado Em <<http://dx.doi.org/10.1016/J.Scitotenv.2022.157001>>.

Stockenreiter M., Navarro I J., Buchberger F., Stibor H. Community Shifts From Eukaryote To Cyanobacteria Dominated Phytoplankton: The Role Of Mixing Depth And Light Quality. **Freshwater Biology**. Germany – 2021.

Sylvanus M., Kangb'eni D., Florent N., Fons P V D., Thomas S. Phylogenetic diversity and community wide-trait means offer different insights into mechanisms regulating aboveground carbon storage. **Science of the Total Environment**. Oct. 2023. Encontrado em <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167905>>.

Tam K-P., Angela Y K., Koh B L. Perceived Cultural Impacts Of Climate Change Motivate Climate Action And Support For Climate Policy. **Climatic Change**. 2022. Encontrado Em <https://doi.org/10.1007/S10584-022-03337-8>.

Vieira C V. **Composição e riqueza de espécies do fitoplâncton de um trecho do baixo rio Jari, sul do Amapá Brasil**. Trabalho de Conclusão de Curso. Instituto de Educação Ciência e Tecnologia do Amapá – Curso de licenciatura em Ciências Biológicas. Campos Laranjal do Jari. 2023.

Woolway I R., Sharma S., Smol P J. Lakes In Hot Water: The Impacts Of A Changing Climate On Aquatic Ecosystems. **Bioscience**. November – 2022, V. 72, N. 11.

Wieliczko R D A., Rodrigues R L., Motta-Marques D D., Crossetti O L. Phytoplankton Structure Is More Influenced By Nutrient Enrichment Than By Temperature Increase: An Experimental Approach Upon The Global Changes In A Shallow Subtropical Lake. **Limnetica**. 2019. V. 1, Pag. 405-418.

Wu X., Liu H., Ru Z., Tu G., Xing L., Ding Y. Meta-Analysis Of The Response Of Marine Phytoplankton To Nutrient Addition And Seawater Warming. **Marine Environmental Research**. 2021. Encontrado Em <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2021.105294>.

Webb C O. Exploring The Phylogenetic Structure Of Ecological Communities: An Example For Rain Forest Trees. **Pubmed**. 2000. V. 156. N. 1. Pág. 145-155.

Webb C O., Ackerly D D., Kembel S W. Phylocom: Software For The Analysis Of Community Phylogenetic Structure And Trait Evolution. 2008. **Version 4.0.1**. <http://www.phylodiversity.net/phylocom>.

Webb C O., Ackerly D D., McPeck M A., Donoghue M J. Phylogenies And Community Ecology. **Annual Review Of Ecology, Evolution And Systematics**. 2002. V. 33. Pág. 475-505.

Webb C O., Donoghue M J. Phylomatic: Tree Assembly For Applied Phylogenetics. **Molecular Ecology Notes**. 2005. V. 5. N. 1. Pág. 181-183.

Zhang M., Yang Z., Shi X., Yu Y. The Synergistic Effect Of Rising Temperature And Declining Light Boosts The Dominance Of Bloom-Forming Cyanobacteria In Spring. **Harmful Algae**. 2022. Encontrado Em <<https://doi.org/10.1016/j.hal.2022.102252>>.

Zhong J., Li J., Deng J., Fang J. Quantifying The Effects Of Global Warming On The Plankton Population: An Asymmetric Multifactor Mathematical Model-Based Approach. **Symmetry**. China – 2023. Encontrado Em: < <https://doi.org/10.3390/Sym15051047> >.

Material Suplementar

Tabela 1. Classificação das OTUs utilizadas para a construção das árvores filogenéticas, referentes aos procariontes autotróficos.

OTUs	Classificação NCBI	Grupo taxonômico geral	Família/ordem	Autor
OTU6	Synechococcus sp.	Cyanobacteria	Cyanophyceae	Garrity et al. 2001
OTU48	Cyanophyceae	Cyanobacteria	Cyanophyceae	Garrity et al. 2001
OTU64	Cyanophyceae	Cyanobacteria	Cyanophyceae	Garrity et al. 2001
OTU72	Obscuribacterales	Cyanobacteria	Cyanophyceae	Garrity et al. 2001
OTU81	Cyanophyceae	Cyanobacteria	Cyanophyceae	Garrity et al. 2001
OTU157	Obscuribacterales	Cyanobacteria	Cyanophyceae	Garrity et al. 2001
OTU212	Snowella sp.	Cyanobacteria	Cyanophyceae	Garrity et al. 2001
OTU263	Rhodopila sp.	Proteobacteria	Acetobacteraceae	Brenner et al. 2005

Tabela 2. Classificação das OTUs utilizadas para a construção das árvores filogenéticas, referentes aos procariontes heterotróficos.

OTUs	Classificação NCBI	Grupo taxonomico geral	Família/ordem	Autor
OTU1	Polynucleobacter sp.	Proteobacteria	Burkholderiaceae	Hahn et al., 2011
OTU2	Sporichthyaceae	Actinobacteria	Sporichthyaceae	Goodfellow et al. 2012
OTU4	Novosphingobium sp.	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	Takeuche et al. 2001
OTU5	Sediminibacterium sp.	Bacteroidetes	Chitinophagaceae	Rosenberg et al. 2014
OTU7	Sphingomonas sp.	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	Rivadeneira Torres et al. 2013
OTU8	Sporichthyaceae	Actinobacteria	Sporichthyaceae	Goodfellow et al. 2012
OTU10	Bdellovibrio sp.	Proteobacteria	Bdellovibrionaceae	Stolp and Starr 1963
OTU11	Novosphingobium sp.	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	Takeuche et al. 2001
OTU12	Roseomonas sp.	Proteobacteria	Acetobacteraceae	Rihs et al. 1993
OTU13	Sporichthyaceae	Actinobacteria	Sporichthyaceae	Goodfellow et al. 2012
OTU14	Haliscomenobacter sp.	Bacteroidetes	Saprosiraceae	Rosenberg et al. 2014
OTU17	Sphingobacteriales	Bacteroidetes	Sphingobacteriales	Rosenberg et al. 2014
OTU20	Bdellovibrio sp.	Proteobacteria	Bdellovibrionaceae	Stolp and Starr 1963
OTU21	Rhizobiales	Proteobacteria	Rhizobiales	Erlacher et al. 2015 e suas referências
OTU24	Rhizobiales	Proteobacteria	Rhizobiales	Erlacher et al. 2015 e suas referências
OTU26	Methylobacterium sp.	Proteobacteria	Methylobacteriaceae	Erlacher et al. 2015 e suas referências
OTU28	Reyranella sp.	Proteobacteria	Rhodospirillales	Pagnier et al. 2011
OTU30	Azospirillum sp.	Proteobacteria	Rhodospirillaceae	Tripathi et al. 2013
OTU33	Undibacterium sp.	Proteobacteria	Oxalobacteraceae	Vandermaesen et al. 2017
OTU34	Devosia sp.	Proteobacteria	Hyphomicrobiaceae	Erlacher et al. 2015 e suas referências
OTU35	Pseudarcicella sp.	Bacteroidetes	Cytophagaceae	McBride et al. 2016
OTU37	Rickettsiales	Proteobacteria	Rickettsiales	Hess et al. 2016
OTU38	Sandarakinorhabdus sp.	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	Gich & Overmann 2006
OTU39	Rhodovarius sp.	Proteobacteria	Acetobacteraceae	Kämpfer et al. 2004
OTU43	Sporichthyaceae	Actinobacteria	Sporichthyaceae	Goodfellow et al. 2012
OTU50	Inquilinus sp.	Proteobacteria	Rhodospirillaceae	Coenye et al. 2002
OTU51	Candidatus megaira polyxenophila	Proteobacteria	Rickettsiaceae	Scharallhammer et al. 2013
OTU53	Armatimonadales	Armatimonadetes	Armatimonadales	Tamaki et al., 2011
OTU54	Elstera sp.	Proteobacteria	Rhodospirillaceae	Rahalkar et al. 2012
OTU55	Candidatus finniella	Proteobacteria	Rickettsiales	Hess et al. 2016
OTU56	Ferruginibacter sp.	Bacteroidetes	Chitinophagaceae	Rosenberg et al. 2014
OTU60	Chthonomonas sp.	Armatimonadetes	Chthonomonadaceae	Jiang et al. 2016

OTU62	Planctomycetaceae	Planctomycetes	Planctomycetaceae	Fuerst and Sangulenko, 2011
OTU73	Sediminibacterium sp.	Bacteroidetes	Chitinophagaceae	Rosenberg et al. 2014
OTU84	Leptospira sp.	Spirochaetae	Leptosiraceae	Rosenberg et al. 2014
OTU85	Sphingobium sp.	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	Takeuche et al. 2001
OTU89	Chthoniobacter sp.	Verrucomicrobia	Chthoniobacteraceae	Sangwan et al. 2004
OTU91	Legionella sp.	Proteobacteria	Legionellaceae	Richards et al. 2013
OTU92	Sphingobacteriales	Bacteroidetes	Sphingobacteriales	Rosenberg et al. 2014
OTU93	Phenylobacterium sp.	Proteobacteria	Caulobacteraceae	Tiago et al. 2004
OTU96	Undibacterium sp.	Proteobacteria	Oxalobacteraceae	Vandermaesen et al. 2017
OTU98	Heliomonas sp.	Bacteroidetes	Chitinophagaceae	Rosenberg et al. 2014
OTU101	Rickettsiales	Proteobacteria	Rickettsiales	Scharallhammer et al. 2013
OTU107	Rickettsiales	Proteobacteria	Rickettsiales	Scharallhammer et al. 2013
OTU108	Bdellovibrio sp.	Proteobacteria	Bdellovibrionaceae	Stolp and Starr 1963
OTU111	Methylophilaceae	Proteobacteria	Methylophilaceae	Doronina et al. 2014
OTU112	Bradyrhizobium sp.	Proteobacteria	Bradyrhizobiaceae	Erlacher et al. 2015 e suas referências
OTU114	Sphingomonas sp.	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	Rivadeneira Torres et al. 2013
OTU120	Ferruginibacter sp.	Bacteroidetes	Chitinophagaceae	Rosenberg et al. 2014
OTU122	Legionella sp.	Proteobacteria	Legionellaceae	Richards et al. 2013
OTU129	Brevundimonas sp.	Proteobacteria	Caulobacteraceae	Tiago et al. 2004
OTU130	Neisseriaceae	Proteobacteria	Neisseriaceae	Klann et al. 2016
OTU131	Methylocystaceae	Proteobacteria	Methylocystaceae	Erlacher et al. 2015 e suas referências
OTU133	Bdellovibrio sp.	Proteobacteria	Bdellovibrionaceae	Stolp and Starr 1963
OTU137	Fimbriimonadaceae	Armatimonadetes	Fimbriimonadaceae	Wan Tack et al. 2012
OTU138	Legionella sp.	Proteobacteria	Legionellaceae	Richards et al. 2013
OTU142	Sporichthyaceae	Actinobacteria	Sporichthyaceae	Goodfellow et al. 2012
OTU145	Pedomicrobium sp.	Proteobacteria	Hyphomicrobiaceae	Erlacher et al. 2015 e suas referências
OTU147	Acidovorax sp.	Proteobacteria	Comamonadaceae	Vandermaesen et al. 2017
OTU149	Ralstonia sp.	Proteobacteria	Burkholderiaceae	Klann et al. 2016
OTU150	Zavarzinella sp.	Planctomycetes	Planctomycetaceae	Fuerst and Sangulenko, 2011
OTU155	Armatimonas sp.	Armatimonadetes	Armatimonadaceae	Tamaki et al., 2011
OTU158	Methylobacterium sp.	Proteobacteria	Methylobacteriaceae	Erlacher et al. 2015 e suas referências Kasalicky et al. 2013; Vandermaesen et al. 2017
OTU160	Comamonadaceae	Proteobacteria	Comamonadaceae	Rosenberg et al. 2014
OTU167	Sediminibacterium sp.	Bacteroidetes	Chitinophagaceae	Erlacher et al. 2015 e suas referências
OTU176	Sphingomonadaceae	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	Hess et al. 2016
OTU179	Rickettsiales	Proteobacteria	Rickettsiales	McBride et al. 2016
OTU180	Cytophagaceae	Bacteroidetes	Cytophagaceae	Kielak et al. 2016
OTU182	Bryobacter sp.	Acidobacteria	Solibacteraceae	Vandermaesen et al. 2017
OTU187	Curvibacter sp.	Proteobacteria	Comamonadaceae	Rosenberg et al. 2014
OTU188	Sphingobacteriales	Bacteroidetes	Sphingobacteriales	Sangwan et al. 2004
OTU189	Chthoniobacter sp.	Verrucomicrobia	Chthoniobacteraceae	Servín Guarcidueñas et al. 2013
OTU190	Acidocella sp.	Proteobacteria	Acetobacteraceae	Ramírez Bahena et al. 2013
OTU191	Endobacter sp.	Proteobacteria	Acetobacteraceae	Kasalicky et al. 2013; Vandermaesen et al. 2017
OTU192	Comamonadaceae	Proteobacteria	Comamonadaceae	Rosenberg et al. 2014
OTU194	Dinghuibacter sp.	Bacteroidetes	Chitinophagaceae	Stolp and Starr 1963
OTU200	Bdellovibrio sp.	Proteobacteria	Bdellovibrionaceae	Sangwan et al. 2004
OTU202	Chthoniobacteriales	Verrucomicrobia	Chthoniobacteriales	Hess et al. 2016
OTU203	Rickettsiales	Proteobacteria	Rickettsiales	Rivadeneira Torres et al. 2013
OTU205	Sphingomonas sp.	Proteobacteria	Sphingomonadaceae	Kasalicky et al. 2013
OTU206	Limnohabitans sp.	Proteobacteria	Comamonadaceae	Hess et al. 2016
OTU209	Holosporaceae	Proteobacteria	Holosporaceae	Scharallhammer et al. 2013
OTU210	Rickettsiaceae	Proteobacteria	Rickettsiaceae	Park et al. 1962
OTU211	Comamonas sp.	Proteobacteria	Comamonadaceae	Hess et al. 2016
OTU214	Holosporaceae	Proteobacteria	Holosporaceae	McBride et al. 2016
OTU221	Cytophagaceae	Bacteroidetes	Cytophagaceae	Michaud et al. 2009
OTU229	Coxiella sp.	Proteobacteria	Coxiellaceae	Birtles et al. 2000
OTU234	Candidatus Odysella	Proteobacteria	Rickettsiales	Lee et al. 2005
OTU238	Hyphomonadaceae	Proteobacteria	Hyphomonadaceae	

OTU239	Pseudoxanthobacter sp.	Proteobacteria	Rhizobiales	Erlacher et al. 2015 e suas referências
OTU240	Skermanella sp.	Proteobacteria	Rhodospirillaceae	Lindsay and Stackebrandt 1999
OTU244	Rickettsiales	Proteobacteria	Rickettsiales	Hess et al. 2016
OTU250	Hyphomicrobiaceae	Proteobacteria	Hyphomicrobiaceae	Erlacher et al. 2015 e suas referências
OTU251	Paludibaculum sp.	Acidobacteria	Solibacteraceae	Kielak et al. 2016
OTU255	Chitinophagaceae	Bacteroidetes	Chitinophagaceae	Rosenberg et al. 2014
OTU256	Sphingobacteriales	Proteobacteria	Sphingobacteriales	Rosenberg et al. 2014
OTU257	Chromobacterium sp.	Proteobacteria	Neisseriaceae	Klann et al. 2016
OTU258	Bryobacter sp.	Acidobacteria	Solibacteraceae	Kielak et al. 2016
OTU265	Bryobacter sp.	Acidobacteria	Solibacteraceae	Kielak et al. 2016
OTU266	Bdellovibrio sp.	Proteobacteria	Bdellovibrionaceae	Stolp and Starr 1963
OTU268	Methylobacillus sp.	Proteobacteria	Methylophilaceae	Doronina et al. 2014
OTU271	Hyphomicrobium sp.	Proteobacteria	Hyphomicrobiaceae	Erlacher et al. 2015 e suas referências
OTU272	Rickettsiales	Proteobacteria	Rickettsiales	Hess et al. 2016
OTU278	Devosia sp.	Proteobacteria	Hyphomicrobiaceae	Erlacher et al. 2015 e suas referências

Tabela 3. Classificação das OTUs utilizadas para a construção das árvores filogenéticas, referentes aos eucariontes autotróficos.

OTU_ID	Nome NCBI	Classificação geral	Grupo trófico	Autor
OTU9	Choricystis sp.	Chlorophyta	Autotrófico	Simon et al. 2015; Khomich et al. 2017
OTU11	Makinoella tosaensis	Chlorophyta	Autotrófico	Simon et al. 2015; Khomich et al. 2017
OTU12	Staurostrum sp.	Charophyta	Autotrófico	Khomich et al. 2017
OTU13	Micractinium reisseri	Chlorophyta	Autotrófico	Simon et al. 2015; Khomich et al. 2017
OTU33	Eustigmatophyceae	Eustigmatophyceae	Autotrófico	Fietz et al. 2005
OTU40	Monomastix minuta	Chlorophyta	Autotrófico	Simon et al. 2015; Khomich et al. 2017
OTU70	Staurodesmus omearii	Charophyta	Autotrófico	Khomich et al. 2017
OTU83	Oedogoniales	Chlorophyta	Autotrófico	Simon et al. 2015; Khomich et al. 2017
OTU98	Pseudomuriella sp.	Chlorophyta	Autotrófico	Simon et al. 2015; Khomich et al. 2017
OTU105	Chlamydomonadaceae	Chlorophyta	Autotrófico	Simon et al. 2015; Khomich et al. 2017
OTU111	Netrium digitus	Charophyta	Autotrófico	Khomich et al. 2017
OTU118	Pedinomonas sp.	Chlorophyta	Autotrófico	Simon et al. 2015; Khomich et al. 2017
OTU121	Compactochlorella kochii	Chlorophyta	Autotrófico	Simon et al. 2015; Khomich et al. 2017
OTU122	Scenedesmus pupukensis	Chlorophyta	Autotrófico	Simon et al. 2015; Khomich et al. 2017
OTU142	Chlamydomonadaceae	Chlorophyta	Autotrófico	Simon et al. 2015; Khomich et al. 2017
OTU154	Chlamydomonadaceae	Chlorophyta	Autotrófico	Simon et al. 2015; Khomich et al. 2017
OTU155	Scenedesmaceae	Chlorophyta	Autotrófico	Simon et al. 2015; Khomich et al. 2017
OTU172	Neochlorosarcina negevensis	Chlorophyta	Autotrófico	Simon et al. 2015; Khomich et al. 2017
OTU211	Atractomorpha echinata	Chlorophyta	Autotrófico	Simon et al. 2015; Khomich et al. 2017
OTU219	Eunotia sp.	Bacillariophyta	Autotrófico	Khomich et al. 2017
OTU225	Eustigmatophyceae	Eustigmatophyceae	Autotrófico	Fietz et al. 2005
OTU256	Oogamochlamys zimbabwiensis	Chlorophyta	Autotrófico	Simon et al. 2015; Khomich et al. 2017
OTU260	Lobomonas monstrosa	Chlorophyta	Autotrófico	Simon et al. 2015; Khomich et al. 2017
OTU262	Eustigmatophyceae	Eustigmatophyceae	Autotrófico	Fietz et al. 2005
OTU266	Mougeotia sp.	Charophyta	Autotrófico	Khomich et al. 2017
OTU275	Chlamydomonadaceae	Chlorophyta	Autotrófico	Simon et al. 2015; Khomich et al. 2017
OTU289	Micractinium reisseri	Chlorophyta	Autotrófico	Simon et al. 2015; Khomich et al. 2017
OTU307	Chlorophyceae	Chlorophyta	Autotrófico	Simon et al. 2015; Khomich et al. 2017
OTU322	Cosmocladium saxonicum	Charophyta	Autotrófico	Khomich et al. 2017

OTU337	<i>Closterium tumidum</i>	Charophyta	Autotrófico	Khomich et al. 2017
OTU354	<i>Desmidium grevillei</i>	Charophyta	Autotrófico	Khomich et al. 2017

Tabela 4. Classificação das OTUs utilizadas para a construção das árvores filogenéticas, referentes aos eucariontes heterotróficos.

OTU_ID	Nome NCBI	Classificação geral	Grupo trófico	Autor
OTU2	Cryptomycota	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU7	Cryptomycota	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU8	<i>Arachnula impatiens</i>	Cercozoa	Heterotrófico	Khomich et al. 2017
OTU15	<i>Stichotrichia</i> sp.	Ciliophora	Heterotrófico	Beaver & Crisman 1989; Simon et al. 2015
OTU16	Bicosoecida	Bicosoecida	Heterotrófico	Khomich et al. 2017
OTU20	<i>Hemiophrys procera</i>	Ciliophora	Heterotrófico	Beaver & Crisman 1989; Simon et al. 2015
OTU25	<i>Vorticella</i> sp.	Ciliophora	Heterotrófico	Beaver & Crisman 1989; Simon et al. 2015
OTU27	Cryptocaryon	Ciliophora	Heterotrófico	Beaver & Crisman 1989; Simon et al. 2015
OTU28	Cryptomycota	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU35	Cryptomycota	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU36	<i>Pseudodiffugia gracilis</i>	Cercozoa	Heterotrófico	Khomich et al. 2017
OTU39	<i>Oxytricha</i> sp.	Ciliophora	Heterotrófico	Beaver & Crisman 1989; Simon et al. 2015
OTU42	<i>Paramicrosporidium</i> sp.	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU43	<i>Loxophyllum</i> sp.	Ciliophora	Heterotrófico	Beaver & Crisman 1989; Simon et al. 2015
OTU45	Bicosoecida	Bicosoecida	Heterotrófico	Khomich et al. 2017
OTU50	<i>Paramicrosporidium</i> sp.	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU51	<i>Cyrtolophosis</i> sp.	Ciliophora	Heterotrófico	Beaver & Crisman 1989; Simon et al. 2015
OTU53	<i>Spongomonas</i> sp.	Cercozoa	Heterotrófico	Khomich et al. 2017
OTU55	<i>Microdiaphanosoma arcuatum</i>	Ciliophora	Heterotrófico	Beaver & Crisman 1989; Simon et al. 2015
OTU72	<i>Anteholosticha gracilis</i>	Ciliophora	Heterotrófico	Beaver & Crisman 1989; Simon et al. 2015
OTU81	<i>Vorticella campanula</i>	Ciliophora	Heterotrófico	Beaver & Crisman 1989; Simon et al. 2015
OTU88	<i>Ophrydium versatile</i>	Ciliophora	Heterotrófico	Beaver & Crisman 1989; Simon et al. 2015
OTU94	Cercozoa	Cercozoa	Heterotrófico	Khomich et al. 2017
OTU96	<i>Rhogostoma</i> sp.	Cercozoa	Heterotrófico	Khomich et al. 2017
OTU100	Cercozoa	Cercozoa	Heterotrófico	Khomich et al. 2017
OTU103	<i>Paramicrosporidium</i> sp.	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU106	<i>Rhogostoma</i> sp.	Cercozoa	Heterotrófico	Khomich et al. 2017
OTU108	<i>Glomus</i> sp.	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU112	<i>Vorticella</i> sp.	Ciliophora	Heterotrófico	Beaver & Crisman 1989; Simon et al. 2015
OTU114	<i>Carchesium polypinum</i>	Ciliophora	Heterotrófico	Beaver & Crisman 1989; Simon et al. 2015
OTU117	<i>Tubulinida</i> sp.	Amoebozoa	Heterotrófico	Lesen et al. 2010
OTU119	<i>Cyrtolophosis mucicola</i>	Ciliophora	Heterotrófico	Beaver & Crisman 1989; Simon et al. 2015
OTU120	Vampyrellidae	Cercozoa	Heterotrófico	Khomich et al. 2017
OTU123	<i>Pseudocyrtolophosis alpestris</i>	Ciliophora	Heterotrófico	Beaver & Crisman 1989; Simon et al. 2015
OTU126	<i>Tetrahymena</i> sp.	Ciliophora	Heterotrófico	Beaver & Crisman 1989; Simon et al. 2015
OTU136	<i>Cryptodiffugia operculata</i>	Amoebozoa	Heterotrófico	Lesen et al. 2010
OTU143	<i>Bryometopus</i> sp.	Ciliophora	Heterotrófico	Beaver & Crisman 1989; Simon et al. 2015
OTU148	Protosteliales	Amoebozoa	Heterotrófico	Lesen et al. 2010

OTU152	Cryptomycota	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU157	Parvilucifera sp. Vermamoeba	Perkinsidae	Heterotrófico	Mongot et al. 2011
OTU159	vermiformis	Amoebozoa	Heterotrófico	Lesen et al. 2010
OTU160	Bodomorpha sp. Echinamoeba	Cercozoa	Heterotrófico	Khomich et al. 2017
OTU161	thermarum	Amoebozoa	Heterotrófico	Lesen et al. 2010
OTU166	Salpingoeca sp. Protostelium	Choanoflagellata	Heterotrófico	Simon et al. 2015; Khomich et al. 2017
OTU173	mycophagum	Amoebozoa	Heterotrófico	Lesen et al. 2010
OTU174	Platyophrya vorax	Ciliophora	Heterotrófico	Beaver & Crisman 1989; Simon et al. 2015
OTU178	Saccamoeba sp.	Amoebozoa	Heterotrófico	Lesen et al. 2010
OTU179	Chytridiaceae	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU180	Metromonadea	Cercozoa	Heterotrófico	Khomich et al. 2017
OTU181	Clavaria zollingeri	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU184	Hannaella oryzae	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU185	Leptopharynx sp.	Ciliophora	Heterotrófico	Beaver & Crisman 1989; Simon et al. 2015
OTU191	Orphella catalaunica	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU195	Clavaria zollingeri	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU201	Cryptomycota	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU204	Paramicrosporidium sp.	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU205	Cercozoa	Cercozoa	Heterotrófico	Khomich et al. 2017
OTU208	Ammopiptanthus mongolicus	Cercozoa	Heterotrófico	Khomich et al. 2017
OTU213	Cryptomycota	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU231	Aphanomyces sp.	Peronosporomycetes	Heterotrófico	Dick 2001
OTU234	Bryometopus sp.	Ciliophora	Heterotrófico	Beaver & Crisman 1989; Simon et al. 2015
OTU245	Clavaria zollingeri	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU252	Clavaria zollingeri	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU255	Cercozoa	Cercozoa	Heterotrófico	Khomich et al. 2017
OTU259	Vampyrellidae	Cercozoa	Heterotrófico	Khomich et al. 2017
OTU268	Cryptomycota	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU271	Euglypha filifera	Cercozoa	Heterotrófico	Khomich et al. 2017
OTU287	Rhinosporideaceae	Ichthyosporea	Heterotrófico	Glocking et al. 2013
OTU297	Xylodon sp.	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU310	Ancyromonas sp.	Apusozoa	Heterotrófico	Boenigk & Arndt 2002
OTU313	Cryptomycota	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU314	Cercomonas sp.	Cercozoa	Heterotrófico	Khomich et al. 2017
OTU317	Smittium orthocladii	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU325	Cladochytrium replicatum	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU327	Cercozoa	Cercozoa	Heterotrófico	Khomich et al. 2017
OTU332	Paramicrosporidium sp.	Fungi	Heterotrófico	Simon et al. 2015
OTU343	Saccamoeba limax	Amoebozoa	Heterotrófico	Lesen et al. 2010
OTU348	Leptomyxa reticulata	Amoebozoa	Heterotrófico	Lesen et al. 2010
OTU351	Microthoracida	Ciliophora	Heterotrófico	Beaver & Crisman 1989; Simon et al. 2015

Tabela 5. Classificação das OTUs utilizadas para a construção das árvores filogenéticas, referentes aos eucariontes mixotróficos.

OTU_ID	Nome NCBI	Classificação geral	Grupo trófico	Autor
OTU4	Ochromonas sphaerocystis	Chrysophyta	Mixotrófico	Jones 2000
OTU17	Poterioochromonas sp.	Chrysophyta	Mixotrófico	Jones 2000
OTU23	Glenodinium sp.	Dinoflagellata	Mixotrófico	Stoecker 1999
OTU48	Paraphysomonas vestita	Chrysophyta	Mixotrófico	Jones 2000
OTU85	Chromulinales	Chrysophyta	Mixotrófico	Jones 2000
OTU90	Spumella sp.	Chrysophyta	Mixotrófico	Jones 2000
OTU110	Spumella sp.	Chrysophyta	Mixotrófico	Jones 2000
OTU137	Epipyxis pulchra	Chrysophyta	Mixotrófico	Jones 2000
OTU147	Glenodinium sp.	Dinoflagellata	Mixotrófico	Stoecker 1999
OTU149	Ochromonas sphaerocystis	Chrysophyta	Mixotrófico	Jones 2000
OTU283	Lagynion scherffelii	Chrysophyta	Mixotrófico	Jones 2000
OTU336	Glenodinium inaequale	Dinoflagellata	Mixotrófico	Stoecker 1999

Referências

Paster, B.J. (2010). Phylum XV. Spirochaetes Garrity and Holt 2001. In: Krieg, N.R., *et al.* Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology. **Springer**, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-0-387-68572-4_4

Thompson-Brenner H, Westen D. Personality subtypes in eating disorders: validation of a classification in a naturalistic sample. *British Journal of Psychiatry*. 2005;186(6):516-524. doi:10.1192/bjp.186.6.516

Hanh, MW, Lang, E., Brandt, U., & Spröer, C. (2011). Polynucleobacter acidiphobus sp. nov., representante de um grupo abundante de bactérias planctônicas de água doce. **Jornal Internacional de Microbiologia Sistemática e Evolutiva**, 61, 788-794.

Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.J., Trujillo, M.E., Suzuki, K., Ludwig, W., & Whitman, W.B. (2012). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology – The Actinobacteria, Part A. Second Edition, Volume Five. **Springer**, Berlin.

Takeuchi, M., Hamana, K., and Hiraishi, A. (2001). Proposal of the genus Sphingomonas sensu strict and three new genera, Sphingobium, Novosphingobium, and Sphingopyxis, based on phylogenetic and chemotaxonomic analyses. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 51, 1405–1417.

Rivadeneira-Torres, A., Martinez-Toledo, M. V., Gonzalez-Martinez, A., Gonzalez-lopez, J., Martín-Ramos, D., & Rivadeneira, M. A. (2013). Carbonate precipitation by bacteria isolated from

wastewater samples collected at a conventional wastewater treatment plant. **International Journal of Environmental Science and Technology**, 10, 141-150.

Beaver, J. R. and Crisman, T. L. (1989). The role of ciliated protozoa in freshwater pelagic ecosystems. **Microbial Ecology**, 17, 111-136.

Coenye, T., Goris, J., Spilker, T., Vandamme, P., & LiPuma, J. J. (2002). Characterization of unusual bacteria isolated from respiratory secretions of patients with cystic fibrosis and description of *Inquilinus limosus* gen. novembris, sp. novembris. **Journal of Clinical Microbiology**, 40(6), 2062-2069.

Dick, MW (2001) The Peronosporomycetes. In: Systematics and Evolution. The Mycota (A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research. McLaughlin, D. J., McLaughlin E. G. & Lemke, P. A. (eds), vol 7A. Berlin: **Springer**, pp. 72.

Erlacher, A., Cernava, T., Cardinale, M., Soh, J., Sensen, C. W., Grube, M., & Berg, G. (2015). Rhizobiales as functional and endosymbiotic members in the lichen symbiosis of *Lobaria pulmonaria* L. **Frontiers in Microbiology**, 6(53), doi 10.3389/fmicb.2015.00053.

Fietz, S., Bleij, W., Hepperle, D., Koppitz, L., Krienitz, L., & Nicklisch, A. (2005). First record of autotrophic picoplankton of *Nannochloropsis limnetica* (Eustigmatophyceae) from Lake Baikal. **Journal of Phycology**, 41, 780-790.

Hess, S., Suthaus, A. and Melkonian, M. (2016). “*Candidatus finniella*” (Rickettsiales, Alphaproteobacteria), new endosymbionts of Viridiraptorid amoebiflagellates (Cercozoa, Rhizaria). **Applied and Environmental Microbiology**, 82(2), 659-670.

Hiras, J., Wu, Y. W., Eichorst, S. A., Simmons, B. A. and Singer, S. W. (2016). Refining the phylum Chlorobi by resolving the phylogeny and metabolic potential of the representative of an uncultured and deeply branching lineage. **ISME Journal**, 10, 833-845.

Stolp, H. & Starr, P. (1963). *Bdellovibrio bacteriovorus* gen. and sp. n., a predatory, ectoparasitic and bacteriolytic microorganism. **Antonie van Leeuwenhoek**, 29, 217-248.

Stoecker, T., Bass, D., Nebel, M., Christen, R., Jones, M. D. M., Breiner, H. W. & Richards, T. A. . (2010). Multiple parallel marker environmental DNA sequencing reveals a highly complex eukaryotic community in anoxic marine water. **Molecular Ecology**, 19, 21-31.

Tiago, I., Chung, A. P., & Veríssimo, A. (2004). Bacterial diversity in a non-saline alkaline environment: heterotrophic aerobic populations. **Applied and Environmental Microbiology**, 70(12), 7378-7387.

Simon, M., López-García, P., Deschamps, P., Moreira, D., Restoux, G., Bertolino, P. & Jardillier, L. (2015). Marked seasonality and high spatial variability of protist communities in shallow freshwater systems. **ISME Journal**, 9(9), 1941-1953.

Jones, R. I. (2000) Mixotrophy in planktonic protists: an overview. **Freshwater Biology**, 45, 219-226.

Khomich, M., Kauserud, H., Logares, R., Rasconi, S. & Andersen, T. (2017). Planktonic protist communities in lakes along a large-scale environmental gradient. **Microbiology Ecology**, 93(4), doi: 10.1093/femsec/fiw231.

Lesen, AE, Juhl, AR, and Anderson, OR (2010). Heterotrophic microplankton in the lower Hudson River estuary: potential importance of naked planktonic amoebae for bacterivory and carbon flux. **Aquatic Microbial Ecology**, 61, 45-56.

Glockling, S. L., Marshall, W. L., and Gleason, F. H. (2013). Phylogenetic interpretations and ecological potentials of the Mesomycetozoa (Ichthyosporea). **Fungal Ecology**, 6, 237-247.

Erlacher, A., Cernava, T., Cardinale, M., Soh, J., Sensen, C. W., Grube, M., & Berg, G. (2015). Rhizobiales as functional and endosymbiotic members in the lichen symbiosis of *Lobaria pulmonaria* L. **Frontiers in Microbiology**, 6(53), doi 10.3389/fmicb.2015.00053.

Lindsay, I. S. and Stackebrandt, E. (1999). Description of *Skermanella parooensis* gen. novembris, sp. novembris. to accommodate *Conglomeromonas largomobilis* subsp. *parooensis* after transfer of *Conglomeromonas largomobilis* subsp. *largomobilis* to the genus *Azospirillum*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, 49, 541-544.

Mangot, J. F., Debroas, D. & Domaizon, I. (2011). Perkinsozoa, a well-known group of marine flagellate protozoa recently identified in lacustrine systems: a review. **Hydrobiology**, 659, 37.

Fuerst, J. A. and Sagulenko, E. (2011). Beyond bacteria: planctomycetes challenge our concepts of microbial structure and function. **Nature Reviews Microbiology**, 9, 403-413.

Kielak, AM, Barreto, CC, Kowalchuk, GA, Venn, JAV and Kuramae, EE (2016). The Ecology of Acidobacteria: beyond genes and genomes. **Frontiers in Microbiology**, 7(744), doi: 10.3389/fmicb.2016.00744.

- Klann, J., McHenry, A., Montelong, C., Goffredi, SK (2016). Decomposition of plant-derived carbon compounds by heterotrophic betaproteobacteria isolated from a tropical bromeliad from Costa Rica. **Open Microbiology**, 5(3), 479-489.
- Rihs, JD, Brenner, DJ, Weaver, RE, Steigerwalt, AG, Hollis, DG & Yu, VL (1993). Roseomonas, a new genus associated with bacteremia and other human infections. **Journal of Clinical Microbiology**, 31(12), 3275-3283.
- Tripathi, J., Singh, A.K. and Tiwari, P. (2013). Studies on heterotrophic bacteria with special reference to Azospirillum from the rhizosphere and roots of different crops. **African Journal of Agricultural Research**, 8(26), 3436-3443.
- Pagnier, I., Raoult, D. and Scola, B.L. (2011). Isolation and characterization of Reyranela massiliensis gen. nov., sp. nov. from freshwater samples using an amoeba coculture procedure. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 61, 2151-2154.
- Vandermaesen, J., Lievens, B. and Springael, D. (2017). Isolation and identification of cultivable bacteria capable of heterotrophic growth in rapid sand filters of drinking water treatment plants. **Microbiology Research**, 168(6), 594-607.
- McBride, M.J., Liu, W., Lu, X., Zhu, Y., and Zhang, W. (2014). The family Cytophagaceae. In: Rosenberg, E., DeLong, E.F., Lory, S., Stackebrandt, E., Thompson, F. Prokaryotes. Other important lineages of bacteria and archaea. **Springer-Verlag**, Berlin.
- Michaud, L., Giudice, A.L., Trousselier, M., Smedile, F., Bruni, V., & Blancheton, J.P. (2009). Phylogenetic characterization of heterotrophic bacterial communities inhabiting a marine recirculating aquaculture system. **Journal of Applied Microbiology**, 107, 1935-1946.
- Rahalkar, M., Bahulikar, RA, Deutzmann, JS, Kroth, PG and Schink, B. (2012). Elstera lithotralis gen. nov., sp. nov., isolated from stone biofilms of Lake Constance, Germany. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 62, 1750-1754.
- Richards, AM, Dwingelo, JEV, Price, CT & Kwaik, YA (2013). Cellular microbiology and molecular ecology of Legionella-amoeba interaction. **Virulence**, 4(4), 307-314.
- Tamaki, H., Tanaka, Y., Matsuzawa, H., Meng, X. Y., Hanada, S., Mori, K., & Kamagata, Y. Nov., formally named candidate phylum OP10. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 61, 1442–1447.

- Birtles, R.J., Rowbotham, T.J., Pitcher, D.G., Lascola, B., Alexiou-Daniel, S. & Raoult, D. (2000). 'Candidatus Odyssella thessalonicensis' gen. nov., sp. nov., an obligate intracellular parasite of the species Acanthamoeba. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 50, 63-72.
- Boenigk, J. and Arndt, H. (2002). Bacterivory by heterotrophic flagellates: community structure and feeding strategies. **Antonie van Leeuwenhoek**, 81, 465-480.
- Doronina, N., Kaparullina, E. and Trotsenko, Y. (2014). The family Methylophilaceae. In: Rosenberg, E., DeLong, E. F., Lory, S., Stackebrandt, E., Thompson, F. The Prokaryotes Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria. **Springer**, Berlin, Heidelberg, 869-880 pp.
- Gich, F. and Overmann, J. (2006). Sandarakinorhabdus limnophila gen. nov., sp. nov., a new obligately aerobic bacteriobacteria containing bacteriochlorophyll-a isolated from freshwater lakes. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 56, 847-854.
- Kasalicky, V., Jezbera, J., Hahn, M. W. and Simek, K. (2013). The diversity of the genus Lomnohabitans, a major group of freshwater bacterioplankton, by characterization of 35 isolated strains. **Plos One**, 8(3), e58209.
- Servin-Garciduenãs, L. E., Garrett, R. A., Amils, R., & Martínez-Romero, E. (2013). Genome sequence of the acidophilic bacterium Acidocella sp. strain MX-AZ02. **Genome Announcements**, 1(1), e00041-12.