



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

LETÍCIA PEREIRA DOS SANTOS

Experimentação e replicabilidade em ecologia aquática

Goiânia - GO

2020



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

2. Nome completo do autor

Letícia Pereira dos Santos

3. Título do trabalho

Experimentação e replicabilidade em ecologia aquática

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 **Priscilla De Carvalho, Professor do Magistério Superior**, em 12/11/2020, às 13:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

Documento assinado eletronicamente por **LETÍCIA PEREIRA DOS SANTOS, Discente**, em 18/11/2020, às 08:04, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site

[https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0)

[acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1673122** e o código CRC **1AFB88C2**.

Referência: Processo nº 23070.013561/2020-01

SEI nº 1673122

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

LETÍCIA PEREIRA DOS SANTOS

Experimentação e replicabilidade em ecologia aquática

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ecologia e Evolução da Universidade Federal
de Goiás como parte das exigências para
obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Profa. Dra. Priscilla de Carvalho

Goiânia - GO

2020

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

Pereira dos Santos, Letícia
Experimentação e replicabilidade em ecologia aquática
[manuscrito] / Letícia Pereira dos Santos. - 2020.
CIV, 104 f.

Orientador: Profa. Dra. Priscilla de Carvalho.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de
Ciências Biológicas (ICB), Programa de Pós-Graduação em Ecologia e
Evolução, Goiânia, 2020.
Bibliografia.

1. ecologia aquática. 2. funcionamento do ecossistema. 3.
reprodutibilidade. 4. revisão. 5. síntese. I. de Carvalho, Priscilla, orient.
II. Título.

CDU 574



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ATA DE DEFESA DE TESE

Ata nº 99 da sessão de Defesa de Tese de **Letícia Pereira dos Santos**, que confere o título de **Doutora em Ecologia e Evolução**, na área de concentração em **Ecologia e Evolução**.

Aos **trinta e um dias do mês de março de dois mil e vinte (31/03/2020)**, a partir das **08h30min**, por **videoconferência**, seguindo portaria CAPES no. 36 de 16 de março de 2020 e recomendação da UFG, realizou-se a sessão pública de Defesa de Tese intitulada “**Experimentação e replicabilidade em ecologia aquática**”. Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, **Professora Doutora Priscilla de Carvalho - DECOL/ICB/UFG**, com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: **Professor Doutor Luis Mauricio Bini - DECOL/ICB/UFG**, membro titular interno; **Professora Doutora Jascieli Carla Bortolini - DEBOT/ICB/UFG**, membro titular interno; **Professora Doutora Fernanda Melo Carneiro - Unidade Goiânia-Laranjeira/UEG**, membro titular externo; e **Doutora Vanessa Guimarães Lopes - ICBS/UFMT**, 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 Tese, tendo sido a candidata **aprovada** pelos seus membros. Proclamados os resultados pela Professora Doutora **Priscilla de Carvalho**, 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) **trinta e um dias do mês de março de dois mil e vinte (31/03/2020)**.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

Documento assinado eletronicamente por **Priscilla De Carvalho, Professor do Magistério Superior**, em 31/03/2020, às 13:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jascieli Carla Bortolini, Professor do Magistério Superior**, em 31/03/2020, às 13:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luis Mauricio Bini, Professor do Magistério Superior**, em 31/03/2020, às 13:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fernanda Melo Carneiro, Usuário Externo**, em 31/03/2020, às 13:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

Documento assinado eletronicamente por **Vanessa Guimarães Lopes, Usuário Externo**, em 06/04/2020, às 16:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8](#)



[de outubro de 2015.](#)



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 **1253306** e o código CRC **369E90E2**.

Referência: Processo nº 23070.013561/2020-01

SEI nº 1253306

Agradecimentos

Ao longo dessa jornada passei por muitos desafios pessoais e acadêmicos, através dos quais tive que aprender a contorná-los, para que a entrega e finalização de mais uma etapa pudesse ser possível. Nessa caminhada, várias pessoas contribuíram de alguma forma para a concretização dessa etapa.

Em primeiro e mais que especial, gostaria de agradecer à minha orientadora e grande amiga Pri que esteve comigo nos meus piores e melhores momentos ao longo dos últimos 7 anos. Sempre me deu suporte incondicional todas as vezes que necessitei. Obrigada Pri, por toda paciência, por todo conhecimento científico que me passou, pelo tempo que me dedicou, pelo cuidado, pela confiança, pelos cappuccinos e pelos melhores momentos de distração que me ofereceu... enfim, eu teria que escrever mais um capítulo apenas para te agradecer. Em sua companhia tudo se tornava mais leve com um simples sorriso seu. Sem dúvidas, uma das pessoas mais incríveis que já conheci e que levarei sempre comigo.

Estendo meus agradecimentos ao professor Bini pela contribuição direta ou indiretamente na minha formação, pelas ideias, paciência e tempo que de certa forma dedicou para o meu desenvolvimento acadêmico! Obrigada também pelos momentos de distração com o pessoal no laboratório de ecologia aquática e recomendação de leitura de bons livros.

Agradeço desde já, aos professores avaliadores dessa tese, Fernanda Carneiro, Jascieli Bortolini, Vanessa Lopes, Luis Mauricio Bini, Fernanda Cassemiro e João Nabout por participarem como banca avaliadora, pelo tempo dedicado na leitura dessa tese e sugestões e críticas oferecidas.

Aos meus colegas do laboratório de ecologia aquática, pelas conversas enriquecedoras de conhecimento científico ou de muito humor, pela companhia e momentos de distrações com boas gargalhadas e muito café. Obrigada Emilly (lá do início), Vanessa, Laura, Gabriel, Sara, Jean, Flávio, Maria, Fagner, Rafaela, Maísa, Matheus, Aline, Alline, Hugo e Gisele.

Em especial ao Jean pela ajuda na meta-análise, sempre de prontidão pessoalmente ou por e-mail para sanar alguma dúvida. Agradeço também a Sara por sempre ser uma ótima companhia e grande amiga nos meus momentos de desespero pessoais, por me ajudar a buscar por soluções

ou simplesmente por conversas jogadas fora. Sem dúvida sua amizade faz toda a diferença pra mim!

Agradeço também aos colegas do laboratório LIEB: Angélica, André e Vinícius. À Mariana, minha melhor companhia nas viagens diárias de Anápolis a Goiânia, sempre tão sábia! Ao Guilherme, que sempre me deu muito apoio desde a graduação. Aos amigos de Anápolis, parceiros da graduação e mestrado: Karine, Pedro e Rogério. Agradeço ainda a Thais, Karen e Jessica, que apesar da distância sempre nos comunicamos via whats sempre com muito bom humor!

Agradeço também a toda a equipe do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução pela excelência do programa em proporcionar a mim e vários pesquisadores um grande e enriquecedor conhecimento científico. Sem dúvidas, a melhor escolha!!!

E por fim, mas não menos importante, aos meus pais que me proporcionou suporte ao longo da minha vida para que eu pudesse chegar até aqui! Em especial à minha mãe, guerreira, batalhadora que nunca se deixou abater! Mãe, meu maior exemplo de vida!

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão de bolsa de doutorado!

Sumário

Resumo	7
Abstract	8
Introdução Geral	9
Referências	10
Experimentação em ambientes aquáticos continentais: de microcosmos aos impactos globais...	13
Resumo	13
Abstract	14
Introdução.....	14
Métodos	17
Resultados	18
Discussão	28
Referências	33
Replicabilidade e reprodutibilidade de experimentos em ecologia aquática	38
Resumo	38
Abstract	38
Introdução.....	39
Métodos	43
<i>Seleção dos experimentos primários.....</i>	<i>43</i>
<i>Seleção dos experimentos secundários</i>	<i>43</i>
<i>Replicabilidade.....</i>	<i>44</i>
<i>Reprodutibilidade</i>	<i>48</i>
Resultados	49
Discussão	58
<i>Tipos de replicações.....</i>	<i>60</i>
<i>Consistência e inconsistência entre os resultados de estudos primários e secundários.....</i>	<i>61</i>
Considerações finais.....	62
Referências.....	63
Alta heterogeneidade experimental reduz o efeito global da biodiversidade sobre o funcionamento dos ecossistemas aquáticos continentais.....	66
Resumo	66
Abstract	67
Introdução.....	67
Métodos	70
<i>Protocolo de busca e extração dos dados</i>	<i>70</i>
<i>Tamanho de efeito, análise de subgrupos e meta-regressão.....</i>	<i>72</i>
<i>Viés de publicação.....</i>	<i>74</i>
Resultados	75

<i>Análises de subgrupos e meta-regressão</i>	84
<i>Viés de publicação e meta-análise cumulativa</i>	91
Discussão	92
<i>Viés de publicação</i>	97
Referências	98
Conclusões gerais	104

Resumo

A experimentação em ecologia tem sido bastante abordada por pesquisadores devido a sua capacidade de controlar efeitos ambientais e biológicos de interesse, e assim obter evidências científicas mais robustas. No entanto, nos últimos anos tem havido um crescente debate sobre a “crise de reprodutibilidade” na ciência. A principal questão na falta de reprodutibilidade dos resultados está na falha do processo de validação de teorias científicas que se dá através do acúmulo de evidências por trabalhos replicados por diversos pesquisadores. Considerando os ecossistemas aquáticos continentais, por exemplo, nas últimas décadas, diversos experimentos têm buscado explicar as consequências geradas por mudanças na composição e riqueza das comunidades sobre as funções e serviços ecossistêmicos. Assim, dentro do contexto de replicação experimental em ecologia de ambientes aquáticos continentais, o presente trabalho teve como objetivos, divididos em três capítulos: (i) avaliar os estudos experimentais em ecologia aquática através de uma revisão sistemática; (ii) discutir a replicabilidade e reprodutibilidade dos experimentos de maior destaque na ecologia aquática e (iii) quantificar o efeito global da biodiversidade sobre o funcionamento de ecossistemas aquáticos continentais através de uma meta-análise. Em geral, os temas abordados experimentalmente na ecologia aquática são bastante diversos e dinâmicos ao longo do tempo. Nas primeiras décadas houve um aumento no número de novos tópicos desenvolvidos através de experimentos. Nas últimas décadas, os pesquisadores buscaram focar principalmente na replicação em diferentes dimensões das perguntas ecológicas já testadas inicialmente. É importante destacar, no entanto, que a confirmação ou não dos resultados originais dos experimentos em ecologia aquática se dá em diferentes níveis de replicação secundária. Replicações exatas, por exemplo, são inexistentes, visto que sempre há, em algum grau, uma heterogeneidade entre os estudos. Por outro lado, em geral, as perguntas originais replicadas, podem ser generalizadas para outros organismos e ecossistemas. Entretanto, ao mesmo tempo é necessário ter cautela na interpretação das generalizações na natureza, devido às diferentes condições de heterogeneidade que os experimentos são manipulados, e próprios dentro da disciplina de Ecologia. Embora seja conhecido que a biodiversidade melhora o funcionamento dos ecossistemas, por diversas evidências experimentais que corroboram essa premissa, dada as diferentes condições experimentais que um determinado teste de hipóteses da relação biodiversidade e funcionamento dos ecossistemas podem ocorrer, o efeito dessa relação poderá estar superestimada ou subestimada quando comparados conjuntamente os resultados individuais em uma síntese meta-analítica. Em termos gerais, as questões ecológicas abordadas

nos experimentos são replicadas em diferentes níveis, considerando diferentes abordagens conceituais e metodológicas para reproduzir resultados semelhantes e buscar por padrões ecológicos.

Palavras-chave: ecologia aquática, funcionamento do ecossistema; reprodutibilidade, revisão; síntese.

Abstract

Experimentation in ecology has been widely addressed by researchers due to its ability to control environmental and biological effects of interest, and thus obtain more robust scientific evidence. However, in recent years there has been a growing debate about the “reproducibility crisis” in science. The main issue in the lack of reproducibility of the results is the failure of the scientific theory validation process that occurs through the accumulation of evidence by works replicated by several researchers. Considering the continental aquatic ecosystems, for example, in the last decades, several experiments have sought to explain the consequences generated by changes in the composition and wealth of communities on ecosystem functions and services. Thus, within the context of experimental replication in ecology of continental aquatic environments, the present study had as objectives, divided into three chapters: (i) to evaluate experimental studies in aquatic ecology through a systematic review; (ii) discuss the replicability and reproducibility of the most prominent experiments in aquatic ecology and (iii) quantify the global effect of biodiversity on the functioning of continental aquatic ecosystems through a meta-analysis. In general, the themes addressed experimentally in aquatic ecology are quite diverse and dynamic over time. In the first decades there was an increase in the number of new topics developed through experiments. In recent decades, researchers have sought to focus mainly on replicating the different dimensions of ecological questions that were initially tested. It is important to note, however, that the confirmation or not of the original results of the experiments in aquatic ecology occurs at different levels of secondary replication. Exact replications, for example, do not exist, since there is always, to some degree, heterogeneity between studies. On the other hand, in general, the original questions replicated can be generalized to other organisms and ecosystems. However, at the same time it is necessary caution when interpreting generalizations in nature, due to the different conditions of heterogeneity that the experiments are manipulated. Although it is known that biodiversity improves the functioning of ecosystems, due to several experimental evidences that corroborate this premise, given the different experimental conditions that a given hypothesis test of the

relationship between biodiversity and ecosystem functioning may occur, the effect of this relationship may be overestimated or underestimated when jointly comparing individual results in a meta-analytical synthesis. In general terms, the ecological issues addressed in the experiments are replicated at different levels, considering different conceptual and methodological approaches to reproduce similar results and search for ecological patterns.

Key-words: aquatic ecology, ecosystem functioning, reproducibility, review, synthesis.

Introdução Geral

Um dos maiores desafios na ecologia é compreender a relação causa e efeito nos diferentes níveis de organização, de indivíduos a ecossistemas (Altermatt et al. 2015). Os resultados dos estudos observacionais podem não ser conclusivos e, muitas vezes podem ser mal interpretados, devido a interação de diversos fatores ambientais em originar uma resposta (Suquet et al. 2005). Dentro desse contexto, a manipulação experimental passou a ser utilizada por inúmeros pesquisadores, na tentativa de responder várias perguntas ecológicas (Srivastava and Vellend 2005, Benton et al. 2007, Logue et al. 2011), com a grande vantagem de controlar os fatores de interesse nas relações e teorias ecológicas. No entanto, com o recente debate sobre a crise de reprodutibilidade, diferentes áreas da ciência tem questionado a veracidade de resultados reproduzidos em diferentes locais por diferentes pesquisadores (Ioannidis et al. 2001, Alexander et al. 2012, Nakagawa and Parker 2015, Baker and Penny 2016, Munafò et al. 2017).

Apenas, através do acúmulo de evidências realizadas por repetições de experimentos e reprodutibilidade de seus resultados é que poderemos ter maior confiabilidade nos resultados originais de um estudo. Em ecologia, os níveis de replicabilidade, por exemplo, podem variar de “exata” a “quase-conceitual” (Palmer 2000), com um balanço entre exatidão (replicação exata) e generalização (replicação quase-conceitual) dos resultados entre os diferentes níveis (Nakagawa and Parker 2015). A replicação exata é praticamente inexistente na ecologia, considerando as diferentes condições ambientais no espaço e no tempo em que diferentes indivíduos de espécies dos mais diversos grupos biológicos são encontrados na natureza (Nakagawa and Parker 2015). Assim em ecologia, a replicação e reprodutibilidade de um determinado experimento, em diferentes níveis de heterogeneidade, por diversos pesquisadores é importante para a extrapolação e generalização de teorias científicas.

Uma forma de analisar as generalizações é através do acúmulo de evidências por vários trabalhos individuais por meio da realização de sínteses meta-analíticas (Nakagawa et al. 2017,

Gurevitch et al. 2018). Essa ferramenta tem sido bastante utilizada na ecologia na busca por padrões de relações causa e efeito para uma determinada pergunta de interesse científico (Balvanera et al. 2006, Cardinale et al. 2006, Morais et al. 2018, Pardo et al. 2019).

Uma questão bastante discutida e de grande interesse na ecologia são as consequências das elevadas taxas de extinção de espécies no funcionamento dos ecossistemas, causadas por alterações antrópicas, como mudanças climáticas, invasão de espécies, degradação e fragmentação de habitats (Hooper et al. 2005, Cardinale et al. 2006). Nas últimas décadas, essa preocupação tem resultado em um grande número de experimentos em microcosmos ou mesocosmos que buscam explicar a relação entre diversidade de espécies e as funções ou serviços ecossistêmicos e, dentro desse contexto, avaliar os impactos da perda da biodiversidade sobre essas funções (Srivastava et al. 2004, Benton et al. 2007). Especificamente nos ambientes aquáticos, a taxa de extinção de espécies tem ocorrido a uma velocidade maior que aquela observada nos ecossistemas terrestres (Jenkins 2003) e, portanto, grande atenção deve ser direcionada a esses ecossistemas.

Assim, dentro do contexto experimental em ecologia de ambientes aquáticos continentais, o presente trabalho teve como principais objetivos, divididos em três capítulos: (i) avaliar os estudos experimentais em ecologia aquática através de uma revisão sistemática; (ii) discutir a replicabilidade e reprodutibilidade dos experimentos de maior destaque na ecologia aquática e (iii) quantificar o efeito global da biodiversidade sobre o funcionamento de ecossistemas aquáticos continentais através de uma meta-análise.

Referências

- Alexander, A., M. Barnett-Cowan, E. Bartmess, F. A. Bosco, M. Brandt, J. Carp, J. J. Chandler, R. Clay, H. Cleary, M. Cohn, G. Costantini, J. Decoster, E. Dunn, C. Eggleston, V. Estel, F. J. Farach, J. Feather, S. Fiedler, J. G. Field, J. D. Foster, M. Frank, R. S. Frazier, H. M. Fuchs, J. Galak, E. M. Galliani, S. Garcia, E. M. Giammanco, E. A. Gilbert, R. Giner-Sorolla, L. Goellner, J. X. Goh, R. Justin Goss, J. Graham, J. A. Grange, J. R. Gray, S. Gripshover, J. Hartshorne, T. B. Hayes, G. Jahn, K. Johnson, W. Johnston, J. A. Joy-Gaba, C. K. Lai, D. Lakens, K. Lane, E. P. Lebel, M. Lee, K. Lemm, S. Mackinnon, M. May, K. Moore, M. Motyl, S. M. Muller, M. Munafo, B. A. Nosek, C. Olsson, D. Paunesku, M. Perugini, M. Pitts, K. Ratliff, F. Renkewitz, A. M. Rutchick, G. Sandstrom, R. Saxe, D. Seltermann, W. Simpson, C. T. Smith, J. R. Spies, N. Strohming, T. Talhelm, A. Van 't Veer, and M. Vianello. 2012. An open, large-scale,

- collaborative effort to estimate the reproducibility of psychological science. *Perspectives on Psychological Science* 7:657–660.
- Altermatt, F., E. A. Fronhofer, A. Garnier, A. Giometto, F. Hammes, J. Klecka, D. Legrand, E. Mächler, T. M. Massie, F. Pennekamp, M. Plebani, M. Pontarp, N. Schtickzelle, V. Thuillier, and O. L. Petchey. 2015. Big answers from small worlds: a user's guide for protist microcosms as a model system in ecology and evolution. *Methods in Ecology and Evolution* 6:218–231.
- Baker, M., and D. Penny. 2016. Is there a reproducibility crisis? *Nature* 533:452–454.
- Balvanera, P., A. B. Pfisterer, N. Buchmann, J. S. He, T. Nakashizuka, D. Raffaelli, and B. Schmid. 2006. Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and services. *Ecology Letters* 9:1146–1156.
- Benton, T. G., M. Solan, J. M. J. Travis, and S. M. Sait. 2007. Microcosm experiments can inform global ecological problems. *Trends in Ecology and Evolution* 22:516–521.
- Cardinale, B. J., D. S. Srivastava, J. E. Duffy, J. P. Wright, A. L. Downing, M. Sankaran, and C. Jouseau. 2006. Effects of biodiversity on the functioning of trophic groups and ecosystems. *Nature* 443:989–992.
- Gurevitch, J., J. Koricheva, S. Nakagawa, and G. Stewart. 2018. Meta-analysis and the science of research synthesis. *Nature* 555:175–182.
- Hooper, D. U., F. S. Chapin, J. J. Ewel, A. Hector, P. Inchausti, S. Lavorel, J. H. Lawton, D. M. Lodge, M. Loreau, S. Naeem, B. Schmid, H. Setälä, A. J. Symstad, J. Vandermeer, and D. A. Wardle. 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological Monographs* 75:3–35.
- Ioannidis, J. P. A., E. E. Ntzani, T. A. Trikalinos, and D. G. Contopoulos-Ioannidis. 2001. Replication validity of genetic association studies. *Nature Genetics* 29:306–309.
- Logue, J. B., N. Mouquet, H. Peter, H. Hillebrand, P. Declerck, A. Flohre, S. Gantner, N. Gülzow, S. M. Hörtnagl, and B. Pecceu. 2011. Empirical approaches to metacommunities: a review and comparison with theory. *Trends in Ecology & Evolution* 26:482–491.
- Morais, G. F. De, L. Guilherme, J. Carlo, G. Ortega, J. Heino, and L. Mauricio. 2018. Biological surrogates : A word of caution 88:214–218.
- Munafò, M. R., B. A. Nosek, D. V. M. Bishop, K. S. Button, C. D. Chambers, N. Percie Du Sert, U. Simonsohn, E. J. Wagenmakers, J. J. Ware, and J. P. A. Ioannidis. 2017. A manifesto for reproducible science. *Nature Human Behaviour* 1:1–9.
- Nakagawa, S., D. W. A. Noble, A. M. Senior, and M. Lagisz. 2017. Meta-evaluation of meta-

- analysis: Ten appraisal questions for biologists. *BMC Biology* 15:1–14.
- Nakagawa, S., and T. H. Parker. 2015. Replicating research in ecology and evolution: Feasibility, incentives, and the cost-benefit conundrum. *BMC Biology* 13:1–6.
- Palmer, A. R. 2000. QUASIREPLICATION AND THE CONTRACT OF ERROR: Lessons from Sex Ratios, Heritabilities and Fluctuating Asymmetry. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31:441–80.
- Pardo, M. A., J. C. G. Ortega, A. S. Melo, and L. M. Bini. 2019. Global meta - analysis reveals that invertebrate diversity is higher in permanent than in temporary lentic water bodies. *Freshwater Biology*:1–13.
- Srivastava, D. S., J. Kolasa, J. Bengtsson, A. Gonzalez, S. P. Lawler, T. E. Miller, P. Munguia, T. Romanuk, D. C. Schneider, and M. K. Trzcinski. 2004. Are natural microcosms useful model systems for ecology? *Trends in Ecology and Evolution* 19:379–384.
- Srivastava, D. S., and M. Vellend. 2005. Biodiversity-Ecosystem Function Research: Is It Relevant to Conservation? *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 36:267–294.
- Suquet, M., M. Rochet, and J. Gaignon. 2005. Experimental ecology: A key to understanding fish biology in the wild. *Aquatic Living Resources* 18:251–259.

Capítulo 1

Experimentação em ambientes aquáticos continentais: de microcosmos aos impactos globais

Resumo

A experimentação em ecologia tem sido bastante abordada por pesquisadores devido a sua capacidade de controlar efeitos ambientais e biológicos de interesse, e assim obter evidências científicas mais robustas. Em ecologia aquática, os experimentos são abordados em diversas escalas espaciais com menor ou maior grau de realismo entre os diferentes tipos de sistemas artificiais e habitats naturais. Diversas questões podem ser abordadas através das manipulações experimentais, que variam desde o desenvolvimento de teorias ecológicas e evolutivas até questões de impactos globais, como as mudanças climáticas. Em busca de compreender a importância da experimentação aquática, o presente trabalho teve como objetivo quantificar temporalmente os estudos experimentais em ecologia aquática através de uma revisão sistemática. Dentre os principais periódicos que publicaram sobre experimentação aquática (*Hydrobiologia* e *Freshwater Biology*) foi detectado um aumento no número de artigos ao longo do tempo. Frequentemente, as perguntas ecológicas são abordadas em microcosmos, e mais recentemente em mesocosmos artificiais. Em geral, os temas abordados são bastante diversos e dinâmicos ao longo do tempo. Nas primeiras décadas houve um aumento no número de novos tópicos desenvolvidos na experimentação. Nas últimas décadas, os pesquisadores buscaram focar principalmente na replicação em diferentes dimensões das perguntas ecológicas já testadas inicialmente. Além disso, questões de interesse, do ponto de vista, de impactos como, invasões de espécies, eutrofização e mudanças climáticas têm ganhado maior destaque nos últimos anos.

Palavras-chave: comunidades, impactos antrópicos, manipulações, replicabilidade, tendência temporal.

Abstract

Experimentation in ecology has been widely addressed by researchers due to its ability to control environmental and biological effects, and obtain robust scientific evidence. In aquatic ecology, the experiments are proposed at different spatial scales with a lesser or greater realism between different types of artificial systems and natural habitats. Several issues can be addressed through experimental manipulations, ranging from the development of ecological and evolutionary theories to issues of global impacts, such as climate change. To understand the importance of aquatic experimentation, the present study aimed to quantify in the time the experimental studies in aquatic ecology through a systematic review. Among the main journals that publish on aquatic experimentation (*Hydrobiologia* and *Freshwater Biology*), an increase in the number of articles has been detected over time. Ecological questions are often addressed in microcosms, and more recently in artificial mesocosms. In general, the topics covered are quite diverse and dynamic over time. In the first decades, there was an increase in the number of new topics developed with experiments. In recent decades, researchers have focused mainly on replicating different dimensions of ecological questions initially tested. Also, issues from the point of view, of impacts such as species invasions, eutrophication, and climate change have gained greater prominence in recent years.

Key-words: communities, anthropic impacts, manipulations, replicability, temporal trend.

Introdução

Uma das questões centrais em ecologia é compreender quais são os mecanismos que podem explicar os padrões de distribuição das espécies nos ecossistemas (Spivak et al. 2011, Altermatt et al. 2015). Uma das formas de abordar essas questões é através de manipulações experimentais (Cooke et al. 2017). A grande vantagem em se utilizar os sistemas experimentais, e com limitações de serem detectadas em estudos observacionais, está em inferir relações de causa e efeito ao isolar fatores que não são de interesse e que causariam confusão na interpretação dos resultados ecológicos (Benton et al. 2007, Stewart et al. 2013, Cooke et al. 2017), além da possibilidade de definir a amplitude de condições ambientais a serem tratadas (Suquet et al. 2005). Abordagens experimentais também são úteis para estabelecer generalidade de teorias ecológicas e extrapolar as interpretações para diferentes tipos de ecossistemas (Knapp et al. 2004, Benton et al. 2007). Contudo, é importante levar em consideração o delineamento

e esforço amostral e, conseqüentemente, o poder preditivo das manipulações experimentais, para tentar explicar os padrões observados na natureza.

A escala espacial de diferentes sistemas experimentais será um ponto relevante ao generalizar os resultados (Srivastava et al. 2004). Diferentes tipos de sistemas experimentais estão presentes na ecologia, que varia desde escalas de microcosmo a ecossistemas inteiros, geralmente com um *trade-off* entre replicação e realismo entre os diferentes tipos (Schindler 1998, Srivastava et al. 2004a). Em ambientes aquáticos, os experimentos podem ser realizados em laboratórios ou em campo nos mais diferentes tipos de habitats de água doce (Reynolds 1998). Os microcosmos são experimentos de laboratórios sob condições ambientais controladas, ou experimentos realizados em pequenos habitats, como por exemplo, fitotelmata (Ex.: bromélias) (Srivastava et al. 2004). Em laboratório, os microcosmos são replicados com maior facilidade, porém pouco realistas e com baixa generalidade para extrapolação em relação ao que ocorre na natureza (Carpenter 1996). Em contrapartida, existem os experimentos em escalas de ecossistemas inteiros, realizados especialmente em lagos (Carpenter 1989, Carpenter et al. 2011, Cline et al. 2014), que possui a vantagem do maior realismo, porém falha na replicação amostral e pela falta da comparação com o tratamento controle (Schindler 1998). Uma alternativa que contrabalança tratabilidade e realismo, são os experimentos de mesocosmos, embora artificiais, possuem maior realismo que microcosmos, por imitar o ambiente natural, e com maior facilidade de replicação das unidades amostrais que ecossistemas inteiros (Odum 1984, Drenner and Mazumder 1999).

Considerando as vantagens e desvantagens de cada escala experimental, diferentes perguntas podem ser testadas, e caberá ao pesquisador fazer a melhor escolha de acordo com seus objetivos. Através dos micro ecossistemas experimentais, por exemplo, conceitos ecológicos e evolutivos são testados principalmente com modelos biológicos de ambientes aquáticos (Logue et al. 2011) como bactérias, protistas ciliados, algas e invertebrados (Altermatt et al. 2015). Embora menos realistas, microcosmos, por exemplo, têm grande utilidade para testar e desenvolver conceitos teóricos em ecologia de metacomunidades (Hauzy et al. 2007), sincronia populacional (Benton et al. 2001, Vasseur and Fox 2009), relações biológicas intra (Penk et al. 2018) e interespecíficas (Li et al. 2019), teorias de evolução da presa sobre predador (Hairston Jr et al. 2005), resistência e dinâmica populacional entre bactéria e bacteriófago (Bohannan and Lenski 2000).

Conceitos e desenvolvimento de teorias ecológicas geralmente são discutidos nas escalas de populações e comunidades (Carmel et al. 2013). Porém uma variedade de perguntas ecológicas, testadas experimentalmente, pode abranger organização desde indivíduos a

ecossistemas. Por exemplo, experimentos em nível individual do isolamento reprodutivo de zooplâncton (Petrusek et al. 2004) ou dos efeitos da biodiversidade sobre o funcionamento dos ecossistemas (Balvanera et al. 2006, Cardinale et al. 2006). Questões ecológicas relacionadas aos efeitos do ambiente físico ou químico sobre os padrões de distribuição e ciclos de vida dos organismos também são bastante abordados (Sinistro et al. 2015, Mccall et al. 2017, Li et al. 2019).

Recentemente, algumas questões ambientais, com maior preocupação global, têm sido abordadas em delineamentos experimentais. Algumas pesquisas avaliaram os efeitos diretos e indiretos das mudanças climáticas sobre interações tróficas e funções dos ecossistemas aquáticos (Valiñas et al. 2017), enquanto outros testaram os efeitos da presença de espécies exóticas invasoras na biodiversidade em ecossistemas aquáticos (Fey and Cottingham 2011). Outros impactos antrópicos também passaram a ser testados experimentalmente, tais como a degradação dos habitats e a alteração hidrológica causada por barragens, que podem ser testados através de mesocosmos em calhas que simulam os ambientes lóticos (Rice et al. 2010).

Em geral, a ecologia é uma disciplina dinâmica (Wallington et al. 2005, Carmel et al. 2013), e os delineamentos experimentais auxiliam na busca de novas evidências para corroborar ou não uma determinada teoria. Assim, é importante avaliar os temas mais abordados experimentalmente, ao longo do tempo, a fim de destacar as principais tendências nesse campo, como e onde têm sido realizados, avaliar a aplicabilidade de um determinado experimento, pensando na resolução de problemas globais (Benton et al. 2007, Stewart et al. 2013) e, por fim, direcionar futuras pesquisas para preencher lacunas de conhecimento.

Sínteses qualitativas e quantitativas, como cienciometrias (Melo et al. 2006, Nabout et al. 2012) revisões sistemáticas (Sih et al. 1985, Carmel et al. 2013, Tilman et al. 2014) e meta-análises (Balvanera et al. 2006, Cardinale et al. 2006, Morais et al. 2018, Pardo et al. 2019) têm sido bastante abordadas para mostrar um panorama geral, ou mais refinado (no caso de meta-análises) de diversos tópicos de pesquisas em ecologia. Nesse contexto, o objetivo central desse trabalho é caracterizar as principais tendências nos estudos experimentais em ecologia de ambientes aquáticos continentais através de uma revisão sistemática. Especificamente foi avaliado a tendência temporal dos temas ecológicos, organismos aquáticos mais utilizados nos delineamentos experimentais, escala de organização biológica mais frequente e, também, se foram abordadas questões de impacto global.

Métodos

A revisão sistemática foi conduzida seguindo o protocolo PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis*; Moher et al. 2009). A busca aos artigos experimentais em ecologia aquática foi realizada através da base de dados *ISI Web of Science* da plataforma *Clarivate Analytics* com a combinação dos seguintes termos inseridos em tópico: “*ecol**” AND “*experiment**” OR “*mesocosm**” OR “*microcosm**” AND “*aquatic**” OR “*freshwater**” OR “*reservoir**” OR “*river**” OR “*lake**” OR “*stream**” OR “*creek**” OR “*pond**” OR “*wetland**” OR “*floodplain**” OR “*flood* plain**”. O período de busca estipulado foi de 1945 a 2019. Após a busca principal foi aplicado o filtro por título do periódico para as duas revistas com maior número de publicações sobre o tema. Foram analisados apenas experimentos sobre biodiversidade e ecologia realizados em ambientes aquáticos de água doce. Portanto, os critérios para exclusão dos artigos após a busca foram definidos de acordo com o tipo de estudo: observacional, revisão, teórico; tipo de ecossistema: marinho ou estuário; e se não fosse sobre biodiversidade ou ecologia.

Para analisar os estudos experimentais em ambientes aquáticos foram retirados dos experimentos informações sobre o (i) ano de publicação dos artigos, (ii) o país em que o experimento foi realizado, (iii) o tipo de experimento, (iv) tipo de ecossistema aquático onde os experimentos foram realizados ou de onde as amostras eram provenientes, (v) grupos biológicos alvos das perguntas experimentais, (vi) escala de organização na qual a variável resposta do experimento foi obtida (genético ou individual, população, comunidade, ecossistema), (vii) o tema central de cada experimento definido pelos objetivos e variáveis preditoras e resposta testadas, e (viii) os problemas ou impactos ambientais abordados com mais frequência.

O nível de organização genético refere-se aos experimentos cuja variável resposta ou manipulação eram obtidas caracterizando genes ou fenótipos. Nível de população caracterizam respostas obtidas apenas para uma espécie ou mais de uma espécie separadamente. Experimentos em nível de comunidade referem-se aqueles em que a resposta do experimento era obtida em uma comunidade (mais de uma espécie). Organização em nível de ecossistema refere-se aos resultados dos experimentos que testavam fatores sobre o ambiente físico e químico, ou sobre alguma função ecossistêmica.

Em relação aos tipos de experimentos, foram definidas cinco categorias: microcosmo, mesocosmo artificial, mesocosmo natural, *in situ* e ecossistema inteiro. Experimentos de microcosmos referem-se às manipulações dentro de laboratórios em condições ambientais

controladas, ou naturais geralmente realizados em unidades experimentais de dimensões reduzidas. Mesocosmos artificiais referem-se aos experimentos realizados fora de laboratórios e fora do ecossistema aquático natural, manipulados dentro de unidades experimentais artificiais, geralmente que imitam o ambiente natural e de dimensões intermediárias (Ex.: tanques que imitam ambientes lênticos e calhas que imitam ambientes lóticos). Mesocosmos naturais são os experimentos realizados dentro do ecossistema natural em que as unidades experimentais possuem limites definidos por barreiras físicas como limnocurrais. Experimentos *in situ* referem-se a manipulações realizadas no ambiente natural, porém sem delimitação dentro do ecossistema ao definir as unidades amostrais (Ex.: experimentos com *litter bag* ou placas de colonização por perifíton). Por fim os experimentos cujo ambiente natural foi inteiramente modificado por manipulação de alguma variável foi definido como ecossistema inteiro.

A tendência temporal dos estudos experimentais foi verificada para a quantidade de artigos ao longo do tempo, para os tipos de experimentos e para os temas dos estudos. A tendência temporal no número de publicações foi verificada através de uma análise de regressão linear simples da proporção de artigos publicados pela quantidade total de registros identificados na base de dados *Web of Science* em função do ano de publicação. Para os tipos de experimentos e temas de estudo, a tendência temporal foi caracterizada pela quantidade de publicações e ordem em que cada item aparece em função do ano de publicação. Os temas foram agrupados de acordo com as perguntas de cada experimento e quando possível um mesmo experimento poderia ser contado para mais de um tema. Além dos temas definidos pelos objetivos dos experimentos, foi destacado dos experimentos os impactos ambientais abordados nas manipulações (Ex.: mudanças climáticas, eutrofização, invasões biológicas), geralmente abordados como o problema em ênfase na introdução dos artigos.

Também foi verificada se existe relação entre o tipo de realismo experimental com o nível de organização biológica (individual a ecossistema) através de uma análise de correspondência. As análises foram conduzidas através do software R versão 3.6.2 (2019).

Resultados

Foram encontrados 9.674 artigos publicados na base de dados *Web of Science* (*Clarivate Analytics*) sobre experimentos realizados em ambientes aquáticos continentais. Após aplicar o filtro para as duas revistas com maior número de publicações foram selecionados 595 artigos (Figura 1) que foram analisados para os critérios de inclusão e exclusão (Figura 2). Por

fim, 420 artigos foram selecionados para a síntese quantitativa e qualitativa da revisão. A revista com maior número de publicação foi *Freshwater Biology* (N = 298), seguida pelo periódico *Hydrobiologia* (N = 297). O primeiro experimento foi publicado em 1975 na revista *Hydrobiologia* e após esse ano, novas publicações foram registradas, apenas, a partir de 1990.

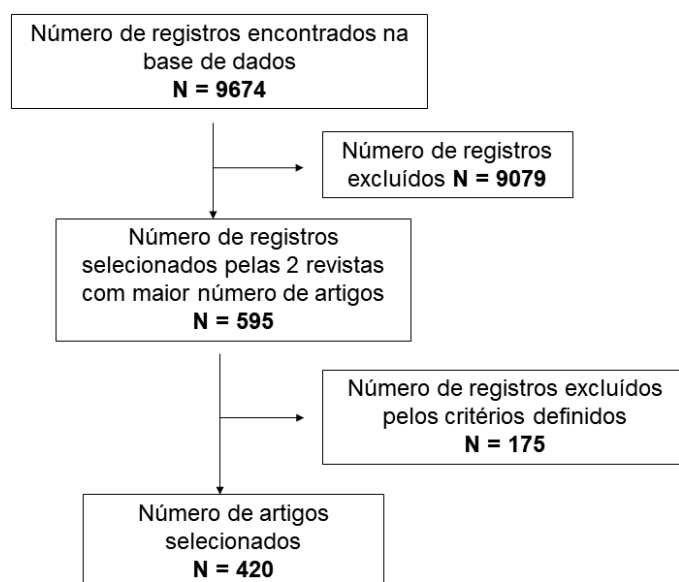


Figura 1 - Fluxograma PRISMA da etapa de identificação dos artigos experimentais em ambientes aquáticos de água doce na base de dados *Web of Science* até a etapa de seleção dos artigos incluídos na revisão do período de 1975 a 2019.

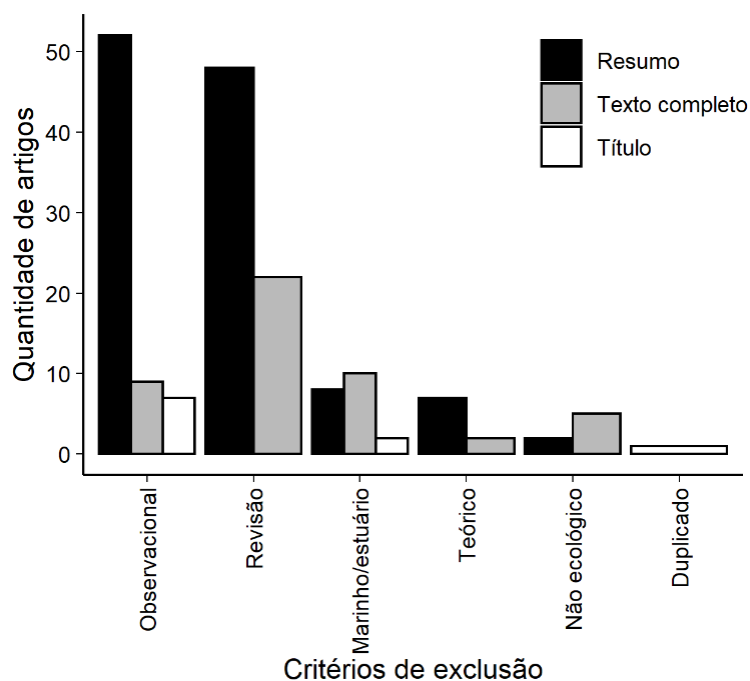


Figura 2 – Quantidade de artigos excluídos da revisão por cada um dos critérios estabelecidos após leitura dos resumos, texto completo ou título.

A análise de regressão simples mostrou tendência temporal positiva e significativa do número de publicações experimentais com os anos ($R^2 = 0,23$, $p = 0,0065$). No entanto, nos últimos anos é possível observar uma queda no número de experimentos publicados nas revistas em comparação com a quantidade total de artigos publicados na base *Web of Science* (Figura 3).

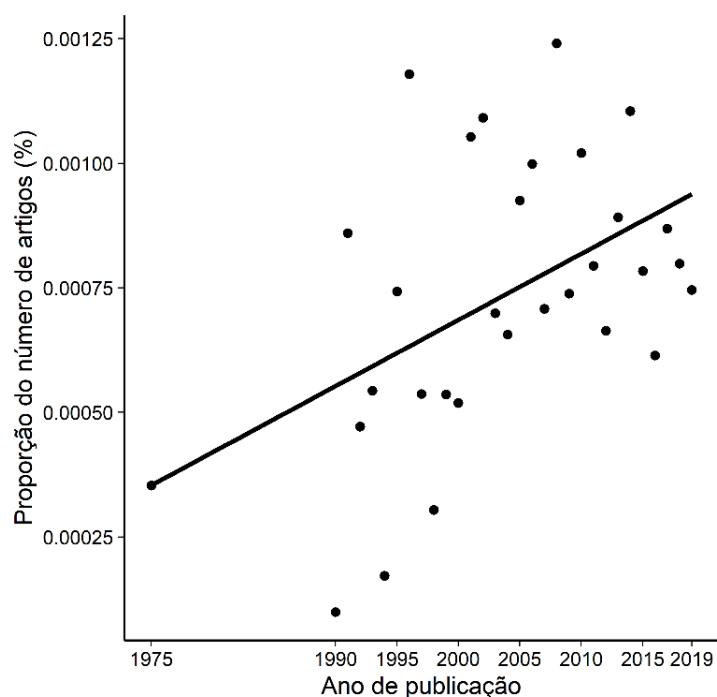


Figura 3 – Proporção do número de artigos experimentais publicados nas revistas *Hydrobiologia* e *Freshwater Biology* pela quantidade total de registros na base de dados *Web of Science* no período de 1975 a 2019.

Os experimentos foram realizados em 57 países, sendo a maior parte desses estudos realizados nos Estados Unidos (28,22%; N = 116), enquanto que 22 países conduziram apenas um único experimento cada um (Figura 4). Os Estados Unidos juntos com Reino Unido, Alemanha, Austrália, Canadá, França, Brasil, e China concentraram o maior número de experimentos realizados 66% (N = 270).

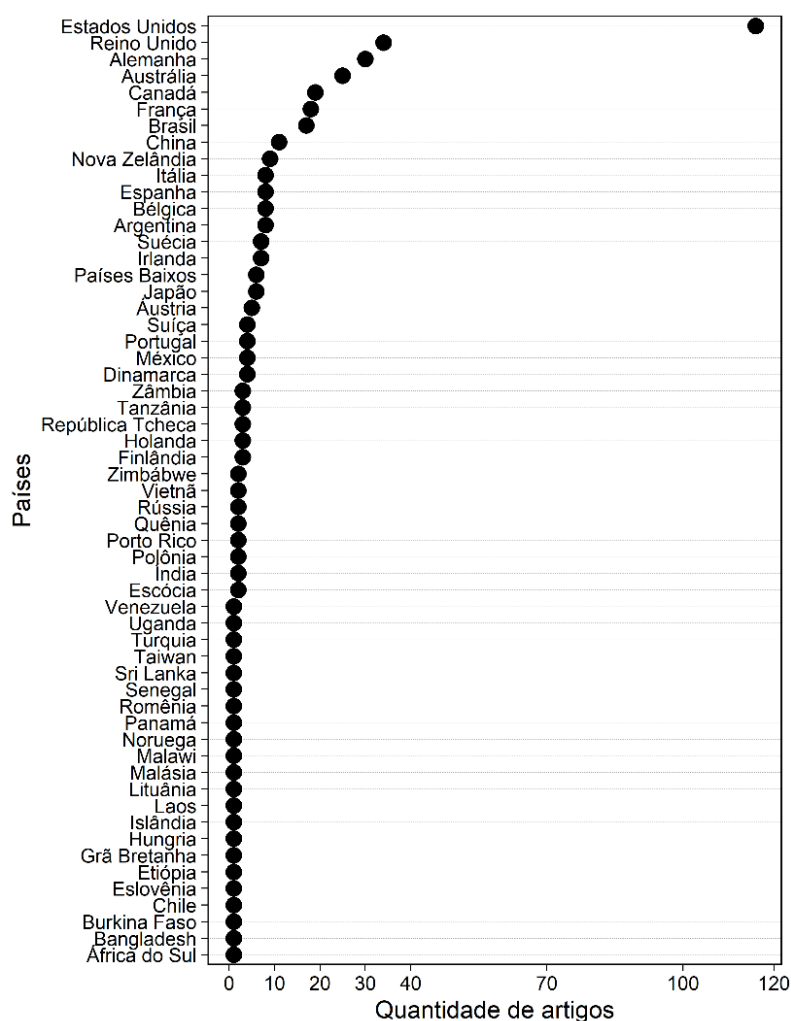


Figura 4 – Número de experimentos realizados em ambientes aquáticos de água doce em diferentes países, nas revistas *Hydrobiologia* e *Freshwater Biology* no período de 1975 a 2019.

Microcosmos foram os experimentos mais frequentes em ecologia aquática (41,9%; N = 181) tanto no início das publicações, com o primeiro experimento publicado em 1975, quanto

nos últimos anos, ainda com forte tendência de serem abordados nas manipulações experimentais (Figura 5). Experimentos em mesocosmos artificiais foram o segundo tipo mais abordado (24,3%; N = 105). Estes surgiram em 1995 e durante a última década tem sido frequentemente utilizados nas pesquisas, substituindo os experimentos realizados em mesocosmos naturais (15,04%; N = 65) e experimentos *in situ* (14,35%; N = 62), os quais foram menos frequentes nos últimos anos (Figura 5). Experimentos com manipulações que modificam o ecossistema inteiro são mais raros (4,4%; N = 19) (Figura 5).

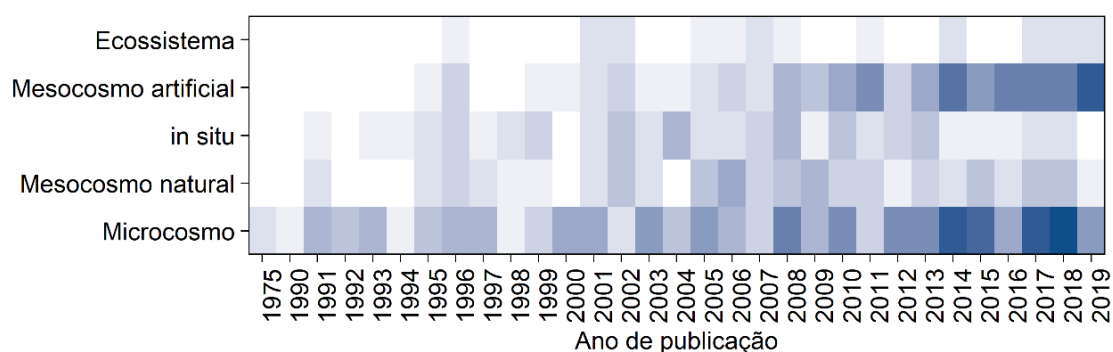


Figura 5 – Tendência temporal dos tipos de experimentos realizados em ambientes de água doce. Os tipos de experimentos mostrados no eixo y foram organizados em ordem cronológica à medida que fossem aparecendo nas publicações nas revistas *Hydrobiologia* ou *Freshwater Biology*, no período de 1975 a 2019. Cores mais claras indicam menor quantidade de experimento para determinado ano e cores mais escuras indicam maior quantidade de experimentos realizados.

Quanto aos níveis de organização que as variáveis respostas eram obtidas, organização em nível de comunidade foi mais frequentemente abordada nas manipulações experimentais (52%; N= 247), enquanto que experimentos que caracterizavam a biodiversidade em nível genético foram mais ocasionais (0,84%; N= 4). Experimentos com populações (34,3%; N= 163) foram menos recorrentes que aqueles de comunidade e mais comum do que abordagens em níveis de ecossistema (12,8%; N= 61).

Quando relacionados com os tipos de experimentos através da análise de correspondência (Figura 6) foi possível observar uma associação das escalas de organização com os tipos de experimentos, para os quais o primeiro eixo contou com 88,5% da variação total. Experimentos em escalas mais finas de organização biológica (população e genético) foram mais associados aos experimentos de microcosmos. Escalas em níveis de ecossistemas foram mais representados por experimentos em mesocosmos artificiais, *in situ*, ou em ecossistema inteiro (Figura 6).

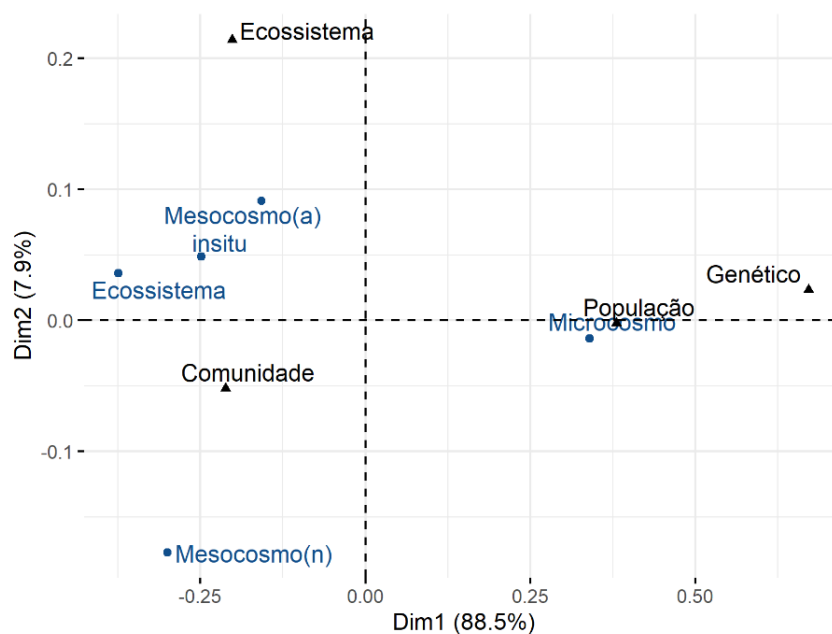


Figura 6 – Relação dos níveis de organização biológica (triângulos pretos) com os tipos de experimentos (pontos azuis) realizados em ambientes aquáticos de água doce. Mesocosmo(a) = mesocosmo artificial e mesocosmo(n) = mesocosmo natural.

Os riachos e os lagos compreenderam os tipos de habitats aquáticos mais abordados, com 30,52 % (N= 123) e 25,8% (N= 104) dos experimentos realizados nestes ambientes, respectivamente (Figura 7). Casualmente algumas manipulações foram realizadas em pequenos corpos d'água (ex.: rochas; N= 5), fitotelmos (N= 2) e em zona ripária (N= 1).

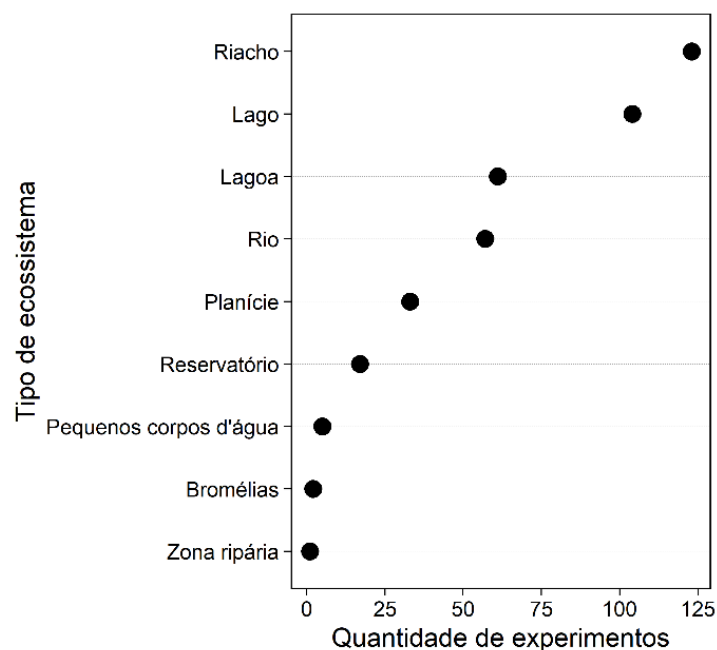


Figura 7— Quantidade de experimentos realizados por tipo de habitat aquático nas revistas *Hydrobiologia* e *Freshwater Biology* no período de 1975 a 2019.

Vinte grupos biológicos foram representados nos experimentos em ecologia aquática (Figura 8). Desses, os insetos aquáticos foram os principais organismos manipulados nos tratamentos experimentais (N= 111). Em seguida, com maior número de manipulações estão os peixes (N= 86), zooplâncton (N= 66), fitoplâncton (N= 61) e macrófitas (N= 59) presentes em 64,5% das manipulações. Em menor quantidade estão os aracnídeos, poríferos, briozoários, aves e cnidários com apenas 1,8% (N= 11) das manipulações.

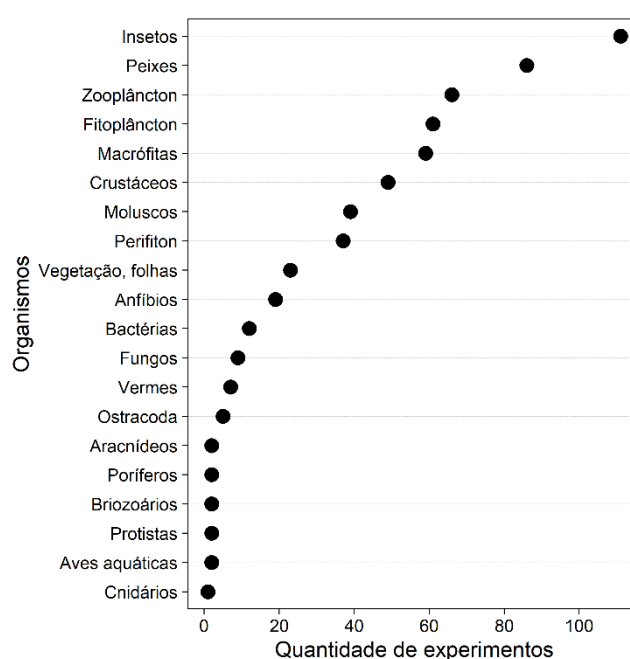


Figura 8 – Organismos estudados nos experimentos publicados nas revistas *Hydrobiologia* e *Freshwater Biology*, no período de 1975 a 2019.

Entre 1975 e 2019 foram identificados 28 temas testados experimentalmente nos diferentes habitats de ambientes aquáticos continentais (Tabela 1). O primeiro experimento registrado, em 1975, testou os efeitos da circulação da água sobre população de uma espécie de fitoplâncton ou da temperatura sobre planárias. Desde então, este tema (efeito do ambiente sobre os organismos) tem sido o principal foco das perguntas ecológicas, com o maior número de perguntas testadas experimentalmente (23,5%; N= 170).

Tabela 1 – Temas abordados e testados experimentalmente em ambientes aquáticos continentais publicados nas revistas *Hydrobiologia* e *Freshwater Biology*, entre 1975 e 2019.

Tópicos	Descrição dos experimentos	Quantidade de registros
Ambiente versus organismos	Teste de efeitos do ambiente físico e ou componentes químicos sobre os organismos.	170
Sucessão	Experimentos de sucessão dos organismos no ambiente.	4
Funcionamento dos ecossistemas	A resposta do experimento era alguma função ecossistêmica (ex.: produtividade, decomposição, ciclagem, etc.).	37
Predação, herbivoria	Experimentos que verificam taxa de predação sobre a presa ou de herbivoria sobre produtor primário.	39
Cascata trófica	Experimentos com mais de dois níveis tróficos. Verificavam, por exemplo, efeito do predador sobre consumidor e produtor primário.	18
Dispersão	Experimentos com movimento entre locais dos organismos.	16
Comportamento alimentar	Experimento de escolha alimentar pelos organismos.	20
Tabela de vida	Experimentos sobre reprodução, taxa de crescimento e sobrevivência.	26
Adaptação, tolerância, fisiologia	Experimentos de adaptação ou tolerância dos organismos ao ambiente ou a outras espécies.	36
Poluentes químicos	Experimentos do efeito de sedimentação, ácidos, agrotóxicos dentre outros, sobre comunidades e os ecossistemas.	39

Heterogeneidade ambiental	Experimentos com tratamentos de heterogeneidade de habitats.	16
Hidrologia	Efeito do fluxo da água sob o efeito do impacto de barragens ou inundação nas comunidades aquáticas.	22
Morfologia	Desenvolvimento de formas externas dos organismos.	2
Organismos <i>versus</i> ambiente	Experimentos do efeito dos organismos sobre os ecossistemas aquáticos.	27
Comportamental	Experimentos sobre comportamento de animais sob efeito de outros fatores biológicos ou ambientais.	10
Escala espacial	Efeito da escala espacial do experimento.	7
Genético	Experimentos com caracterização genotípica.	9
Interações	Experimentos de competição e influência de espécies sobre outras.	68
Eutrofização	Experimentos do impacto de nutrientes sobre os ecossistemas.	32
Restauração ambiental	Experimentos com técnicas químicas ou biológicas de restauração ou remediação ambiental.	9
Invasão biológica	Experimentos de interações de espécies do efeito das invasoras sobre as nativas.	60
Sazonalidade	Repete o experimento em diferentes estações de seca e chuva.	7
Perda de espécies	Efeito do impacto da perda de espécies sobre os ecossistemas.	6
Metacomunidades ou metapopulações	Experimentos no contexto de dispersão e conectividade de comunidades ou populações.	9
Fragmentação do habitat	Efeitos dos impactos do uso do solo	10
Ambiental	Experimentos com nutrientes nos ambientes aquáticos.	2
Mudanças climáticas	Experimentos com tratamentos de temperatura e ou seca, cujo problema levantado nos experimentos são as mudanças climáticas.	19
Patógenos	Interações de espécies com patógenos.	3

A partir de 1990, houve um aumento no número de temas abordados experimentalmente (Figura 9). No entanto, na última década, as pesquisas testaram temas já existente, não surgindo novas perguntas (Figura 9). É possível ainda observar que alguns temas têm deixado de ser tratados experimentalmente com o passar dos anos, ou testados apenas ocasionalmente desde que surgiram (Ex.: experimentos com cascata trófica, sucessão, morfologia, comportamental).

Tópicos relacionados às interações biológicas e de preocupação ecológica como eutrofização e invasões biológicas surgiram no final dos anos 1990 e ainda são temas de bastante interesse nos experimentos aquáticos. Além disso, temas relacionados às preocupações com mudanças climáticas, embora surgido mais recentemente, têm aumentados ao longo dos últimos anos (Figura 9).

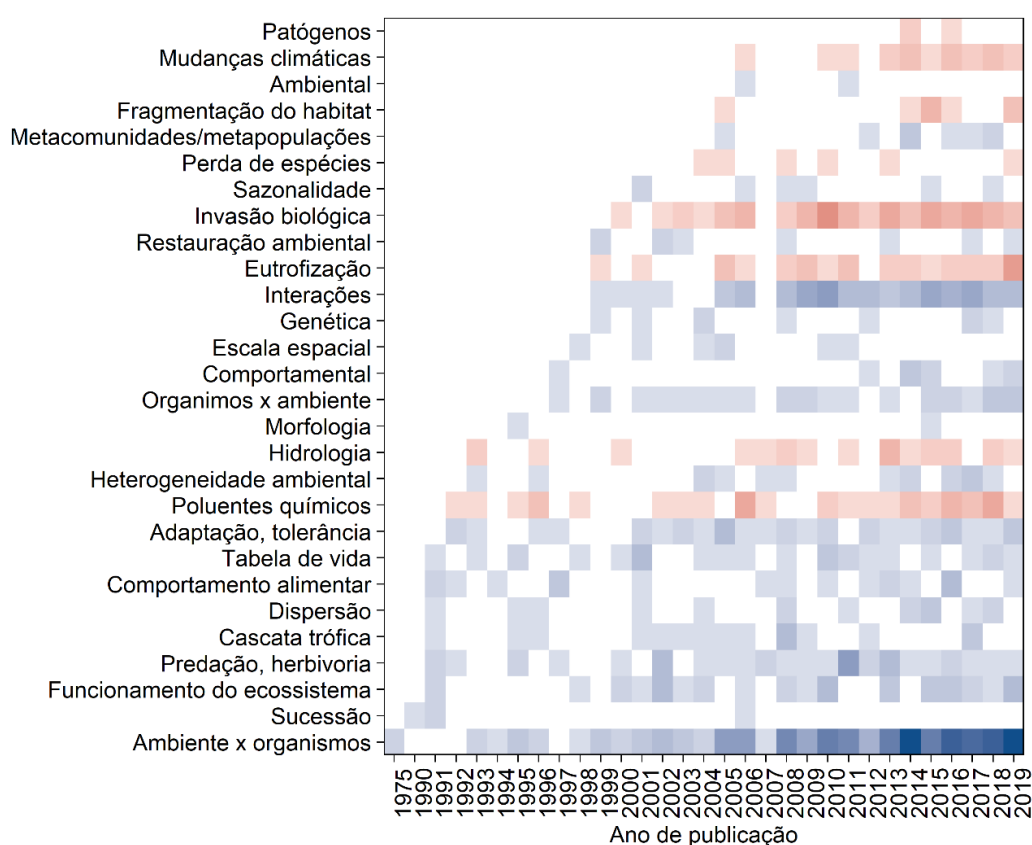


Figura 9 – Tendência temporal dos temas abordados nos experimentos aquáticos de água doce. Os temas mostrados no eixo y foram organizados em ordem cronológica à medida que fossem surgindo nas publicações nas revistas *Hydrobiologia* e *Freshwater Biology* no período de 1975 a 2019. Cores mais claras representa menor quantidade de artigo para determinado tema e ano e cores mais escuras mostra maior quantidade de artigo publicado. Gradiente em cor vermelha destaca temas que abordam efeitos de impactos e preocupações ambientais.

Discussão

Experimentações em ambientes aquáticos têm atraído cada vez mais a atenção de ecólogos, com maior destaque para as últimas décadas. Além do crescente número de pesquisadores com interesse em experimentação ecológica (Carmel et al. 2013), pode-se considerar também o grande número de pesquisas em diferentes áreas da ecologia, assim como demonstrado em outros trabalhos (Shorrocks 1993, Swihart et al. 2002, Carmel et al. 2013) e também no presente estudo, pelo aumento da variedade de temas e da quantidade de artigos por tema. Outro fator essencial que atrai a atenção dos pesquisadores é que delineamentos experimentais, quando bem planejados, são fundamentais no desenvolvimento de teorias e conceitos ecológicos e evolutivos por apresentar resultados e interpretações confiáveis ao controlar fatores de confusão (Benton et al. 2007, Conover and Baumann 2009, Cooke et al. 2017).

Os resultados mostraram que a maior parte dos experimentos testados estão inseridos em um contexto fenomenológico de relações causa e efeito, delineados, principalmente, para testarem os fatores ambientais limitantes sobre as comunidades aquáticas. A análise de periódicos especializados em ambiente aquático, tais como *Hydrobiologia* e *Freshwater Biology*, pode explicar esse maior número de estudos que testaram a influência de fatores abióticos, enquanto que um menor número de experimentos avaliaram teorias ecológicas que poderiam ser extrapoladas a outros tipos de habitats, nas quais o organismo é visto meramente como um sistema modelo para testar diferentes teorias (Lawton 1995). Apesar disso, os experimentos em ecologia aquática são bastante diversificados em termos de tratamentos experimentais testados, organismos manipulados, tipos de habitats e heterogeneidade ambiental dos tratamentos. Os delineamentos experimentais variaram de simples (ex.: um tratamento) a mais complexos (ex.: tratamentos de interações biológicas e ambientais), e testaram diversas perguntas em diferentes sistemas experimentais (mais ou menos realistas).

Os experimentos de microcosmos realizados em laboratório foram predominantes nos experimentos em ecologia aquática. Embora recebam críticas devido a sua simplificação do mundo real (Carpenter 1996, Schindler 1998), os microcosmos frequentemente são utilizados em modelos ecológicos experimentais (Srivastava et al. 2004, Benton et al. 2007, Logue et al. 2011). Modelos matemáticos, por exemplo, assumem pressupostos que, para que possam ser validados, podem ser testados através dos microcosmos (Benton et al. 2007). Microcosmos têm sido úteis para testar perguntas que abrangem desde fatores locais, como por exemplo, os efeitos ambientais sobre os organismos aquáticos, até processos que ocorrem em escalas regionais, tais

como dispersão de espécies entre manchas de habitats (Logue et al. 2011). Outra vantagem em se utilizar microcosmos está na maior replicação das unidades amostrais e, portanto, no aumento da confiabilidade dos resultados (Benton et al. 2007).

Os microcosmos, frequentemente, eram considerados ideais, para muitos ecólogos, para testar as teorias ecológicas em nível de população ou genético devido às suas dimensões físicas de menor área e volume (Kareiva 1994). Por outro lado, nas pesquisas voltadas para a ecologia de comunidades e ecossistemas, os microcosmos podem ser considerados mais limitados e menos relevantes quando os resultados são extrapolados para o realismo dos ambientes aquáticos (Carpenter 1996). A melhor abordagem para compreender os processos e mecanismos que moldam comunidades e ecossistemas no espaço e tempo seria complementar experimentos nas diferentes escalas (Drenner and Mazumder 1999). De fato, nas últimas décadas, questões relacionadas às preocupações globais, como mudanças climáticas e invasões de espécies, também foram estudadas através de manipulações em microcosmo, contribuindo com os resultados empíricos obtidos pelos pesquisadores.

Experimentos em mesocosmos artificiais também têm atraído a atenção dos pesquisadores nos últimos anos, por testar questões semelhantes àquelas tratadas em microcosmos, porém com maior grau de realidade. No presente estudo, foram observados, por exemplo, tratamentos experimentais de interações e coexistência de espécies de diferentes níveis tróficos, que variam de micro a macro organismos, e experimentos com delineamentos mais complexos, que combinam variáveis ambientais climáticas, heterogeneidade ambiental e espécies dispostas em metacomunidades (Driver and Hoeinghaus 2016).

Os mesocosmos naturais e artificiais estão mais propensos à manipulações que mensuram respostas em nível de comunidades e ecossistemas, podendo abrigar em seu interior diferentes níveis tróficos e uma maior complexidade biológica (Stewart et al. 2013). Entretanto, é necessário cautela ao extrapolar os resultados para os ambientes naturais, pois, embora, mais realistas, os mesocosmos artificiais ainda apresentam limitações quanto à riqueza de espécies e interações biológicas existentes no ambiente. Para manipulações de organismos de maior tamanho corporal, por exemplo, mesocosmos artificiais não comportariam grande densidade populacional ou muitas espécies e, portanto, as respostas em nível de comunidades para organismos maiores poderiam estar enviesadas (Schindler 1998). Para os organismos maiores, o mais conveniente seria utilizar estes sistemas para experimentos populacionais. Dentre os organismos mais estudados em ecologia aquática, os estudos de mesocosmos artificiais em nível de população são utilizados para comportar, por exemplo, população de uma espécie de peixe (Garduño-Paz and Adams 2010, Rodríguez-Pérez et al. 2016, Silva et al. 2019) ou de macrófita

(Zákravský and Hroudová 1996, Zhao et al. 2015, Li et al. 2019). Quando a manipulação envolve comunidades em mais de um nível trófico, teias alimentares manipuladas em mesocosmos corresponde a organismos de menores tamanhos, como invertebrados, fitoplâncton e zooplâncton (Pellowe-wagstaff and Simonis 2014), ou poucos níveis tróficos quando envolve plantas e vertebrados, por exemplo (Maerz et al. 2010, Fischer et al. 2013).

Apesar das particularidades de cada escala espacial dos diferentes sistemas experimentais, alguns conceitos ecológicos, como por exemplo metacomunidades, podem ser bem delineados e conduzidos nesses diferentes sistemas, dependendo dos organismos biológicos de interesse. Nesse contexto, delineamentos que buscam pelos diferentes processos de organização de comunidades em escalas regionais podem ser conduzidos experimentalmente em microcosmos, mesocosmos artificiais ou mesocosmos em ambientes naturais, dependendo das características de locomoção das espécies, das taxas de dispersão e conectividade entre as unidades experimentais (Stachowicz et al. 2007, Logue et al. 2011). As unidades experimentais, por exemplo, poderão estar conectadas umas às outras por tubos inseridos na lateral dos recipientes (Pellowe-wagstaff and Simonis 2014), ou a transferência dos organismos poderá ocorrer ativamente pelo experimentador (Souffreau et al. 2014), trocando as comunidades entre as unidades experimentais. Em campo, de forma mais natural, pequenas lagoas conectadas umas às outras por canais lóticos também poderão ser utilizadas em uma pesquisa de metacomunidades, manipulando a velocidade no fluxo da água como o mecanismo que auxilia na dispersão dos organismos (Pellowe-wagstaff and Simonis 2014).

Diferentes tipos de habitats aquáticos tem sido alvo das experimentações em ecologia. Esses habitats podem ser simulados em mesocosmos artificiais ou os experimentos podem ser conduzidos diretamente dentro dos ambientes. A maior parte dos estudos experimentais foi realizado em riachos, através de manipulações em mesocosmos no próprio ambiente, *in situ* ou em mesocosmos artificiais, manipulando os organismos desses riachos, tais como insetos, crustáceos, perífíton e peixes. Os mesocosmos naturais são disposto através de limnocurrais, que cercam o ambiente que será manipulado (Odum 1984). Outro tipo de experimento com características mais exclusivas desse tipo de habitat são os mesocosmos artificiais, que utilizam calhas para reproduzir o fluxo lótico desse tipo de ambiente (Rice et al. 2010).

Os organismos manipulados nas experimentações aquáticas abrangem desde bactérias até vertebrados. Geralmente, os grupos biológicos estão relacionados a escala do experimento utilizada. Comunidades ou populações de microorganismos, por exemplo, são manipulados em escalas de microcosmos, enquanto os organismos maiores são manipulados em mesocosmos ou no ambiente natural. Os grupos mais estudados foram os insetos, peixes e zooplâncton, que

foram utilizados como organismos modelos para testar, por exemplo, a relação presa e predador (Sørensen et al. 2011), cascata trófica (Baca and Drenner 1995, Drenner and Mazumder 1999) e a relação entre diversidade e funcionamento dos ecossistemas (Dzialowski and Smith 2008, Datri et al. 2015).

Os estudos experimentais aquáticos se mostraram bastante diversificados ao longo do tempo, assim como ocorre na ecologia de forma geral (Swihart et al. 2002, Carmel et al. 2013). Estudos descrevendo relações entre as espécies e os ambientes naturais são comuns, sendo a experimentação uma ferramenta bastante utilizada para acessar as causas gerais dos padrões das espécies na natureza (Scheiner and Willig 2011). Além desse tema principal, o principal padrão observado está no aumento do número de tópicos abordados ao longo do tempo. Nas primeiras décadas de publicação, em geral, os temas eram menos estudados devido a menor quantidade de publicação e também porque à medida que surgiam novas questões experimentais, os temas mais antigos eram substituídos pelos mais recentes, até os anos 2000. Apenas a partir dessa década, com o crescimento da taxa no número de artigos, as questões ecológicas passaram a ser mais desenvolvidas na ecologia aquática, com exceção de alguns tópicos que surgiram ocasionalmente. Nesse sentido, após o término de surgimento de novos temas, os pesquisadores deram maior importância à replicação de questões experimentais já inicialmente desenvolvidas do que o acréscimo de novos tópicos.

A teoria de nicho foi mais avaliada comparando, por exemplo, com a teoria de sucessão ecológica com apenas quatro experimentos. A teoria de sucessão é fortemente relacionada a de metacomunidades, por envolver dispersão dos organismos entre locais (Scheiner and Willig 2011). No entanto, a sucessão ecológica é um tema pouco abordado nos experimentos em ecologia aquática, comparando com os experimentos avaliando metacomunidades, que foram mais frequentes a partir da última década. O ano da publicação do artigo sobre as principais abordagens em metacomunidades (Leibold, 2004) pode ter influenciado esse maior número de experimentos a partir do ano 2005, indicando o avanço no desenvolvimento das teorias ecológicas, quando alguns processos ecológicos deixam de ser abordados experimentalmente oferecendo espaço a outros. Swihart et al. (2002), por exemplo, descreveram a dinâmica dos temas ecológicos, nomeando o aparecimento de novas ideias, de “nascimento”, e se não são frequentes nas publicações ao longo do tempo, elas “morrem”.

Outro aspecto do desenvolvimento da ecologia está em relacionar os temas frequentemente estudados em conjunto com novas questões, principalmente de preocupação global. A tendência é que os temas tradicionais da ecologia continuem a ser testados experimentalmente, entretanto, com foco nas perspectivas de mudanças e impactos em escala

global, como mudanças climáticas. Nas últimas décadas, questões de preocupação que envolvem eutrofização, mudanças climáticas e invasões biológicas, têm sido abordadas com mais frequência. Dentre os impactos que ameaçam os ecossistemas aquáticos, o tópico de invasões biológicas é o que mais se destaca em termos de estudos experimentais, com diversas perguntas e tipos de organismos invasores (Coccia et al. 2014, Busst and Britton 2017, Collins et al. 2017). Estudos experimentais, tanto em microcosmos quanto em mesocosmos, têm demonstrado os efeitos dos impactos antrópicos sobre a biodiversidade e como essa perda de espécies irá afetar o funcionamento dos ecossistemas (Benton et al. 2007, Stewart et al. 2013)

Considerando as mudanças climáticas, os experimentos realizados em ambientes aquáticos testaram, principalmente, os efeitos da temperatura em microcosmos (Ewald et al. 2013) ou em mesocosmos (Driver and Hoeinghaus 2016, Silva et al. 2019) sobre as comunidades, assim como os efeitos da concentração de gás carbônico (CO₂) sobre as interações biológicas em mesocosmos do tipo limnotrons (Verschoor et al. 2013), ou os efeitos da seca sobre as comunidades e funcionamento dos ecossistemas de riachos em experimentos *in situ* (Pinna et al. 2016). Uma questão importante para levar em consideração é que muitos impactos podem ocorrer em conjunto com outros fatores de estresse, e que esses fatores combinados podem apresentar efeito de maior magnitude em comparação com o efeito isolado (Folt et al. 1999). Assim, os experimentos permitem testar a interação entre os diferentes impactos, como por exemplo, testar os efeitos diretos e indiretos do aumento da temperatura e enriquecimento de nutrientes (Fey and Cottingham 2011, Valiñas et al. 2017, Bergkemper et al. 2018). Dependendo da escala de organização biológica, as respostas também poderão ser mais (ecologia de populações) ou menos sensível (ecologia de ecossistemas) sob influência dos estressores (Niyogi et al. 1999).

Com o crescente interesse em experimentação ecológica aquática, fica evidente que os sistemas experimentais são importantes para o desenvolvimento de teorias ecológicas e estabelecer relações causa e efeito com maior confiabilidade nos resultados. Embora diversos tópicos sejam conduzidos experimentalmente por diversos pesquisadores, maior relevância para cada tema só será possível de ser estabelecida pela repetição dos tópicos inicialmente já publicados. Considerando essas questões, em ecologia aquática experimental, o principal interesse nessa disciplina nos últimos anos está em estabelecer generalizações para outros organismos e ecossistemas. Assim, questões de preocupação global que levam a perda de espécies e alterações no funcionamento dos ecossistemas, por exemplo, terão maior importância e visibilidade na ciência se testadas diversas vezes por diferentes pesquisadores, na busca por padrões gerais.

Referências

- Altermatt, F., E. A. Fronhofer, A. Garnier, A. Giometto, F. Hammes, J. Klecka, D. Legrand, E. Mächler, T. M. Massie, F. Pennekamp, M. Plebani, M. Pontarp, N. Schtickzelle, V. Thuillier, and O. L. Petchey. 2015. Big answers from small worlds: a user's guide for protist microcosms as a model system in ecology and evolution. *Methods in Ecology and Evolution* 6:218–231.
- Baca, R. M., and R. W. Drenner. 1995. Do the effects of piscivorous largemouth bass cascade to the plankton? *Hydrobiologia* 316:139–151.
- Balvanera, P., A. B. Pfisterer, N. Buchmann, J. S. He, T. Nakashizuka, D. Raffaelli, and B. Schmid. 2006. Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and services. *Ecology Letters* 9:1146–1156.
- Benton, T. G., C. T. Lapsley, and A. P. Beckerman. 2001. Population synchrony and environmental variation: an experimental demonstration. *Ecology Letters* 4:236–243.
- Benton, T. G., M. Solan, J. M. J. Travis, and S. M. Sait. 2007. Microcosm experiments can inform global ecological problems. *Trends in Ecology and Evolution* 22:516–521.
- Bergkemper, V., P. Stadler, and T. Weisse. 2018. Moderate weather extremes alter phytoplankton diversity — A microcosm study. *Freshwater Biology* 63:1211–1224.
- Bohannan, B. J. M., and R. E. Lenski. 2000. Linking genetic change to community evolution: insights from studies of bacteria and bacteriophage. *Ecology Letters* 3:362–377.
- Brown, B. L. 2007. Habitat heterogeneity and disturbance influence patterns of community temporal variability in a small temperate stream. *Hydrobiologia* 586:93–106.
- Busst, G. M. A., and J. R. Britton. 2017. Comparative trophic impacts of two globally invasive cyprinid fishes reveal species-specific invasion consequences for a threatened native fish. *Freshwater Biology* 62:1587–1595.
- Cardinale, B. J., D. S. Srivastava, J. E. Duffy, J. P. Wright, A. L. Downing, M. Sankaran, and C. Jouseau. 2006. Effects of biodiversity on the functioning of trophic groups and ecosystems. *Nature* 443:989–992.
- Carmel, Y., R. Kent, A. Bar-Massada, L. Blank, J. Liberzon, O. Nezer, G. Sapir, and R. Federman. 2013. Trends in Ecological Research during the Last Three Decades - A Systematic Review. *PLoS ONE* 8.
- Carpenter, S. R. 1989. Replication and Treatment Strength in Whole-Lake Experiments. *Ecology* 70:453–463.
- Carpenter, S. R. 1996. Microcosm Experiments have Limited Relevance for Community and Ecosystem Ecology. *Ecology* 77:677–680.
- Carpenter, S. R., J. J. Cole, M. L. Pace, R. Batt, W. A. Brock, T. Cline, J. Coloso, J. R. Hodgson, J. F. Kitchell, D. A. Seekell, L. Smith, and B. Weidel. 2011. Early warnings of regime shifts: A whole-ecosystem experiment. *Science* 332:1079–1082.
- Cline, T. J., D. A. Seekell, S. R. Carpenter, M. L. Pace, J. R. Hodgson, J. F. Kitchell, B. C. Weidel, J. J. Cole, M. L. Pace, R. Batt, W. A. Brock, T. J. Cline, J. Coloso, J. R. Hodgson, J. F. Kitchell, D. A. Seekell, L. Smith, and B. C. Weidel. 2014. Early

- Warnings of Regime Shifts: A Whole-Ecosystem Experiment. *Science* 5:art102.
- Coccia, C., L. Boyero, and A. J. Green. 2014. Can differential predation of native and alien corixids explain the success of *Trichocorixa verticalis verticalis* (Hemiptera, Corixidae) in the Iberian Peninsula? *Hydrobiologia* 734:115–123.
- Collins, S. F., K. A. Nelson, C. S. Deboom, and D. H. Wahl. 2017. The facilitation of the native bluegill sunfish by the invasive bighead carp. *Freshwater Biology* 62:1645–1654.
- Conover, D. O., and H. Baumann. 2009. The role of experiments in understanding fishery-induced evolution. *Evolutionary Applications* 2:276–290.
- Cooke, S. J., K. Birnie-gauvin, R. J. Lennox, J. J. Taylor, T. Rytwinski, J. L. Rummer, C. E. Franklin, J. R. Bennett, and N. R. Haddaway. 2017. How experimental biology and ecology can support evidence-based decision-making in conservation : avoiding pitfalls and enabling application. *Conservation Physiology* 5:1–14.
- Datri, C. W., C. L. Pray, Y. Zhang, and W. H. Nowlin. 2015. Nutrient enrichment scarcely affects ecosystem impacts of a non-native herbivore in a spring-fed river. *Freshwater Biology* 60:551–562.
- Drenner, R. W., and A. Mazumder. 1999. Microcosm Experiments Have Limited Relevance for Community and Ecosystem Ecology: Comment. *Ecology* 80:1081–1085.
- Driver, L. J., and D. J. Hoeinghaus. 2016. Fish metacommunity responses to experimental drought are determined by habitat heterogeneity and connectivity. *Freshwater Biology* 61:533–548.
- Dzialowski, A. R., and V. A. L. H. Smith. 2008. Nutrient dependent effects of consumer identity and diversity on freshwater ecosystem function. *Freshwater Biology* 53:148–158.
- Ewald, N. C., S. U. E. E. Hartley, and A. J. A. Stewart. 2013. Climate change and trophic interactions in model temporary pond systems: the effects of high temperature on predation rate depend on prey size and density. *Freshwater Biology* 58:2481–2493.
- Fey, S. B., and K. L. Cottingham. 2011. Linking biotic interactions and climate change to the success of exotic *Daphnia lumholtzi*. *Freshwater Biology* 56:2196–2209.
- Fischer, J. R., R. M. Krogman, and M. C. Quist. 2013. Influences of native and non-native benthivorous fishes on aquatic ecosystem degradation. *Hydrobiologia* 711:187–199.
- Folt, C. L., C. Y. Chen, M. V Moore, and J. Burnaford. 1999. Synergism and antagonism among multiple stressors. *Limnology and Oceanography* 44:864–877.
- Garduño-Paz, M. V, and C. E. Adams. 2010. Discrete prey availability promotes foraging segregation and early divergence in Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *Hydrobiologia* 650:15–26.
- Gray, S. M., T. E. Miller, N. Mouquet, and T. Daufresne. 2006. Nutrient limitation in detritus-based microcosms in *Sarracenia purpurea*. *Hydrobiologia* 2006:173–181.
- H Hairston Jr, N. G., S. P. Ellner, M. A. Geber, T. Yoshida, and J. A. Fox. 2005. Rapid evolution and the convergence of ecological and evolutionary time. *Ecology Letters* 8:1114–1127.
- Hauzy, C., F. D. Hulot, A. Gins, and M. Loreau. 2007. Intra- and interspecific density-

- dependent dispersal in an aquatic prey – predator system. *Journal of Animal Ecology* 76:552–558.
- Holling, C. S. 1998. Two cultures of ecology. *Conservation Ecology* 2.
- Knapp, A. K., M. D. Smith, S. L. Collins, N. Zambatis, M. Peel, S. Emery, J. Wojdak, M. C. Horner-devine, H. Biggs, J. Kruger, and S. J. Andelman. 2004. Generality in ecology: testing North American grassland rules in South African savannas. *Frontiers in Ecology and the Environment* 2:483–491.
- Lawton, J. H. 1995. Ecological Experiments with Model Systems. *Science* 269:328–331.
- Li, W., H. Fu, Y. Li, W. Nie, G. Yuan, G. Gao, H. Fan, and J. Zhong. 2019. Effects of nutrient enrichment and *Bellamyia aeruginosa* (Reeve) presence on three submerged macrophytes. *Hydrobiologia* 833:95–105.
- Logue, J. B., N. Mouquet, H. Peter, H. Hillebrand, P. Declerck, A. Flohre, S. Gantner, N. Gülzow, S. M. Hörtnagl, and B. Pecceu. 2011. Empirical approaches to metacommunities: a review and comparison with theory. *Trends in Ecology & Evolution* 26:482–491.
- Maerz, J. C., J. S. Cohen, and B. Blossey. 2010. Does detritus quality predict the effect of native and non- native plants on the performance of larval amphibians ? *Freshwater Biology* 55:1694–1704.
- Mccall, S. J., M. S. Hale, J. T. Smith, D. S. Read, and M. J. Bowes. 2017. Impacts of phosphorus concentration and light intensity on river periphyton biomass and community structure. *Hydrobiologia* 792:315–330.
- Melo, A. S., L. M. Bini, and P. Carvalho. 2006. Brazilian articles in international journals on Limnology. *Scientometrics* 67:187–199.
- Moher, D., A. Liberati, J. Tetzlaff, D. G. Altman, and T. P. Group. 2009. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *Anticancer Res.* 6:1–6.
- Morais, G. F. De, L. Guilherme, J. Carlo, G. Ortega, J. Heino, and L. Mauricio. 2018. Biological surrogates : A word of caution 88:214–218.
- Nabout, J. C., P. Carvalho, M. U. Prado, P. P. Borges, K. B. Machado, K. B. Haddad, T. S. Michelan, H. F. Cunha, and T. N. Soares. 2012. Trends and biases in global climate change literature. *Natureza a Conservacao* 10:45–51.
- Niyogi, D. K., D. M. Mcknight, and W. M. Lewis. 1999. Influences of water and substrate quality for periphyton in a montane stream affected by acid mine drainage. *Limnology and Oceanography* 44:804–809.
- Odum, E. 1984. The Mesocosm. *BioScience* 34:558–562.
- Pardo, M. A., J. C. G. Ortega, A. S. Melo, and L. M. Bini. 2019. Global meta - analysis reveals that invertebrate diversity is higher in permanent than in temporary lentic water bodies. *Freshwater Biology*:1–13.
- Pellowe-wagstaff, K. E., and J. L. Simonis. 2014. The ecology and mechanisms of overflow-mediated dispersal in a rock-pool metacommunity. *Freshwater Biology* 59:1161–1172.
- Penk, M. R., I. Donohue, and K. Irvine. 2018. Temporally variable niche overlap and

- competitive potential of an introduced and a native mysid shrimp. *Hydrobiologia* 823:109–119.
- Petrusek, A., C. Martin, and E. Audenaert. 2004. Large intercontinental differentiation of *Moina micrura* (Crustacea: Anomopoda): one less cosmopolitan cladoceran? *Hydrobiologia* 526:73–81.
- Pinna, M., G. Marini, G. Cristiano, L. Mazzotta, P. Vignini, B. Cicolani, and A. Di Sabatino. 2016. Influence of aperiodic summer droughts on leaf litter breakdown and macroinvertebrate assemblages : testing the drying memory in a Central Apennines River. *Hydrobiologia* 782:111–126.
- Reynolds, C. S. 1998. The state of freshwater ecology. *Freshwater Biology* 39:741–753.
- Rice, S. P., J. Lancaster, and P. Kemp. 2010. Experimentation at the interface of fluvial geomorphology, stream ecology and hydraulic engineering and the development of an effective, interdisciplinary river science. *Earth Surf. Process. Landforms* 35:64–77.
- Rodríguez-Pérez, H., S. Hilaire, and F. Mesléard. 2016. Temporary pond ecosystem functioning shifts mediated by the exotic red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*): a mesocosm study. *Hydrobiologia* 767:333–345.
- Scheiner, S. M., and M. R. Willig. 2011. *The Theory of Ecology*. Page (S. M. Scheiner and M. R. Willig, Eds.). The University of Chicago Press.
- Schindler, D. W. 1998. Replication Versus Realism : The Need for Ecosystem-Scale Experiments. *Ecosystems* 1:323–334.
- Sih, A., P. Crowley, M. Mcpeek, J. Petranka, and K. Strohmeier. 1985. PREDATION , COMPETITION , AND PREY COMMUNITIES : A Review of Field Experiments. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 16:269–311.
- Silva, cássia F. M., L. C. Torgan, and F. Schneck. 2019. Temperature and surface runoff affect the community of periphytic diatoms and have distinct effects on functional groups : evidence of a mesocosms experiment. *Hydrobiologia* 6:37–50.
- Sinistro, R., M. L. Sánchez, F. Unrein, M. R. Schiaffino, I. Izaguirre, and L. Allende. 2015. Responses of phytoplankton and related microbial communities to changes in the limnological conditions of shallow lakes : a short-term cross-transplant experiment. *Hydrobiologia* 752:139–153.
- Sørensen, T., G. Mulderij, M. Søndergaard, T. L. Lauridsen, L. Liboriussen, S. Brucet, and E. Jeppesen. 2011. Winter ecology of shallow lakes: strongest effect of fish on water clarity at high nutrient levels. *Hydrobiologia* 664:147–162.
- Souffreau, C., B. Pecceu, C. Denis, K. Rummens, and L. de Meester. 2014. An experimental analysis of species sorting and mass effects in freshwater bacterioplankton. *Freshwater Biology* 59:2081–2095.
- Spivak, A. C., M. J. Vanni, and E. M. Mette. 2011. Moving on up: can results from simple aquatic mesocosm experiments be applied across broad spatial scales ? *Freshwater Biology* 56:279–291.
- Srivastava, D. S., J. Kolasa, J. Bengtsson, A. Gonzalez, S. P. Lawler, T. E. Miller, P. Munguia, T. Romanuk, D. C. Schneider, and M. K. Trzcinski. 2004. Are natural microcosms useful model systems for ecology? *Trends in Ecology and Evolution*

19:379–384.

- Stachowicz, J. J., J. F. Bruno, and J. E. Duffy. 2007. Understanding the Effects of Marine Biodiversity on Communities and Ecosystems. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 38:739–66.
- Stewart, R. I. A., M. Dossena, D. A. Bohan, E. Jeppesen, R. L. Kordas, M. E. Ledger, M. Meerhoff, B. Moss, C. Mulder, J. B. Shurin, B. Suttle, R. Thompson, M. Trimmer, and G. Woodward. 2013. *Mesocosm Experiments as a Tool for Ecological Climate-Change*. Page Advances in Ecological Research. First edition. Elsevier Ltd.
- Suquet, M., M. Rochet, and J. Gagnon. 2005. Experimental ecology: A key to understanding fish biology in the wild. *Aquatic Living Resources* 18:251–259.
- Swihart, R. K., J. B. Dunning Jr, and P. M. Waser. 2002. Gray Matters in Ecology: Dynamics of Pattern, Process, and Scientific Progress. *Bulletin of the Ecological Society of America* 83:149–155.
- Tilman, D., F. Isbell, and J. M. Cowles. 2014. Biodiversity and Ecosystem Functioning. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 45:471–493.
- Valiñas, M. S., V. E. Villafañe, M. J. Cabrerizo, C. D. Romero, and E. W. Helbing. 2017. Global change effects on plankton community structure and trophic interactions in a Patagonian freshwater eutrophic system. *Hydrobiologia* 816:61–77.
- Vasseur, D. A., and J. W. Fox. 2009. Phase-locking and environmental fluctuations generate synchrony in a predator – prey community. *Nature* 460:1007–1010.
- Verschoor, A. M., M. A. Van Dijk, J. Huisman, and E. Van Donk. 2013. Elevated CO₂ concentrations affect the elemental stoichiometry and species composition of an experimental phytoplankton community. *Freshwater Biology* 58:597–611.
- Wallington, T. J., R. J. Hobbs, and S. A. Moore. 2005. Implications of Current Ecological Thinking for Biodiversity Conservation : a Review of the Salient Issues. *Ecology and Society* 10:15.
- Zákravský, P., and Z. Hroudová. 1996. Growth response of *Bolboschoenus maritimus* ssp. *maritimus* and *B. maritimus* ssp. *compactus* to different trophic conditions. *Hydrobiologia* 340:31–35.
- Zhang, P., B. A. Blonk, R. F. Van Den Berg, and E. S. Bakker. 2018. The effect of temperature on herbivory by the omnivorous ectotherm snail *Lymnaea stagnalis*. *Hydrobiologia* 812:147–155.
- Zhao, S., L. Yin, F. Chang, S. Olsen, M. Søndergaard, E. Jeppesen, and W. Li. 2015. Response of *Vallisneria spinulosa* (Hydrocharitaceae) to contrasting nitrogen loadings in controlled lake mesocosms Response of *Vallisneria spinulosa* (Hydrocharitaceae) to contrasting nitrogen loadings in controlled lake mesocosms. *Hydrobiologia* 766:215–223.

Capítulo 2

Replicabilidade e reprodutibilidade de experimentos em ecologia aquática

Resumo

Nos últimos anos tem havido um crescente debate sobre a “crise de reprodutibilidade” na ciência. A principal questão na falta de reprodutibilidade dos resultados está na falha do processo de validação de teorias científicas que se dá através do acúmulo de evidências por trabalhos replicadas por diversos pesquisadores. Na ecologia, a reprodutibilidade de resultados encontrados irá depender de diferentes tipos de replicação de um mesmo estudo. Aqui, o principal objetivo desse estudo foi avaliar a replicabilidade de experimentos em ecologia de água doce, especificamente, avaliar quantitativamente e qualitativamente os tipos de replicação e a reprodutibilidade dos experimentos mais citados na literatura científica. Para isso foram analisados comparativamente os experimentos secundários que replicaram 7 experimentos originais (mais citados). Foi encontrado que em geral há pouca replicação de experimentos secundários quando comparados com o número de citações que os experimentos originais receberam. Apesar disso há mais reprodutibilidade dos resultados, em termos de direção e significância estatística, do que o contrário. É importante destacar, no entanto, que a confirmação ou não dos resultados originais se dá em diferentes níveis de replicação dos experimentos originais. Replicações exatas, por exemplo, são inexistentes, visto que sempre há, em algum grau, heterogeneidade entre estudos. Por outro lado, em geral, as perguntas originais replicadas, podem ser generalizadas para outros organismos e ecossistemas. Esse fator caracteriza as pesquisas ecológicas com algum nível de originalidade, que é mais frequentemente bem-vindo na ciência, do que apenas a repetição de resultados já existentes.

Palavras-chave: Experimentação, generalidade, heterogeneidade, limnologia, meta-pesquisa.

Abstract

In recent years there has been a growing debate about the “reproducibility crisis” in science. The main issue is the lack of reproducibility of the results is the failure of the scientific theories validation process that occurs through the accumulation of evidence by works replicated by several researchers. In ecology, the reproducibility of the results found will depend on different types of replication in the same study. Here, the main aim is to evaluate the replicability of

experiments in freshwater ecology and quantitatively and qualitatively evaluate the types of replication and the reproducibility of the most cited experiments in the scientific literature. For this purpose, secondary experiments that replicated 7 original experiments (most-cited) were comparatively analyzed. We found that there is little replication of secondary experiments when compared to the number of citations that the original experiments received. Despite this, there is more reproducibility of the results, in terms of direction and statistical significance, than the opposite. It is important to note, however, that the confirmation of the original results or not, occurs at different levels of replication from the original experiments. Exact replications, for example, are non-existent, since there is always, some heterogeneity between the studies. On the other hand, in general, the original questions replicated can be generalized to other organisms and ecosystems. This factor characterizes ecological research with some level of originality, which is more often welcome in science, than just the repetition of existing results.

Key-words: Experimentation, generality, heterogeneity, limnology, meta-research.

Introdução

A replicação de estudos primários é a base da ciência empírica (Atmanspacher and Maasen 2016). As conclusões retiradas de um único trabalho não são suficientes para corroborar ou falsear uma hipótese e ou teoria científica (Tsang, 1999). Apenas através de repetidas observações e acumulação de evidências podemos afirmar com maior convicção se um determinado fenômeno existe ou não (Goodman et al. 2016). Existem várias definições para replicação (Cassey and Blackburn 2006). Estritamente falando, a replicação pode se dar ao longo de diferentes dimensões: replicação de hipóteses, replicação de métodos e procedimentos, replicação de análises e códigos, e replicação de resultados (Goodman et al. 2016), não necessariamente sempre em conjunto. De forma geral e mais simples, a replicação pode ser referida (e usada aqui) no contexto de testar novamente uma mesma hipótese ou explorar as mesmas questões através de procedimentos iguais ou diferentes aos estudos originais (Tsang, 1999).

Embora alguns autores também usem o termo replicação como sinônimo de reprodutibilidade de procedimentos experimentais e também de reprodução dos mesmos resultados, a reprodutibilidade em específico irá referir-se aos resultados reproduzidos por um mesmo conjunto de dados ou à habilidade de gerar as mesmas conclusões a partir de diferentes estudos (Errington et al. 2014, Goodman et al. 2016). Portanto, reprodutibilidade diz respeito a

resultados corroborados através de replicações (Fidler et al. 2017). Na ciência empírica, a reprodutibilidade de resultados é crucial para tirar conclusões gerais de um fenômeno através do acúmulo de evidências e construir teorias científicas (Schmidt 2009). Dessa forma, um importante processo de validação do método científico e muitas vezes negligenciado pela ciência está no procedimento de replicação dos trabalhos primários e a reprodutibilidade dos seus resultados. Para a reprodutibilidade ser possível, a metodologia científica, portanto, deve ser clara, no sentido de que os trabalhos primários devem oferecer explicações concisas dos resultados e metodologias detalhadas para que os procedimentos originais possam ser replicados corretamente e os resultados reproduzidos por outros pesquisadores (Parker et al. 2016).

Por outro lado, a falta ou falha na reprodutibilidade dos estudos primários prejudica o processo fundamental de validação de conceitos e teorias na ciência (Schmidt 2009). Recentemente tem havido um intenso debate sobre a falta de reprodutibilidade de resultados significativos em Psicologia (Open Science Collaboration 2015). A deficiência na reprodutibilidade tem ganhado destaque não apenas em Psicologia, ela é reconhecida por cientistas em praticamente todas as áreas científicas (Baker 2016).

A falta de reprodutibilidade pode ser gerada pela falta de transparência atribuída as más condutas científicas praticada pelos pesquisadores, em relação a falta de disponibilização dos dados, métodos e resultados incompletos. Pode-se mencionar, por exemplo, a conduta do *selective reporting* conhecida também como *cherry picking* (Parker et al. 2016) em que os pesquisadores escolhem quais resultados serão publicados em seus estudos, geralmente os de efeitos mais forte que confirmem suas expectativas. Na prática chamada de *p-hacking* (Head et al. 2015) pesquisadores reportam apenas os resultados significativos. Para o *HARKing* (*hypothesizing after results are known*) são atribuídas às condutas de pesquisadores que formulam hipóteses após análises exploratórias do conjunto de dados (Kerr 1998). Além disso, existe o fato de que os pesquisadores podem, deliberadamente adulterar ou “fabricar” dados, a fim de conseguir intencionalmente a comprovação de suas hipóteses (Fanelli 2009).

Outros aspectos a se levar em consideração são os erros cometidos durante a realização de algum procedimento, e omissões nas publicações (Fanelli 2009). Além disso, protocolos metodológicos na maioria das vezes não são disponibilizados ou não exibem detalhes importantes para serem replicados (Haddaway and Verhoeven 2015), ou mesmo os pesquisadores não os seguem, quando disponíveis. Em ecologia, estes desafios se repetem e, aproximadamente, 13% das pesquisas anuais publicadas, por exemplo, não apresentam detalhes suficientes do tamanho amostral para permitir a replicabilidade confiável do delineamento e a

reprodutibilidade dos resultados destes estudos (Haddaway and Verhoeven 2015). A ocultação de algumas informações pode ser responsável por inviabilizar a replicação de métodos, interpretar resultados de forma errônea e, até mesmo, enviesar estudos meta-analíticos, os quais necessitam de informações básicas para o cálculo do tamanho de efeito (Haddaway and Verhoeven 2015).

Outros desafios também são enfrentados na tentativa de reproduzir resultados. A própria concepção da ciência em buscar novidades científicas e originais para o avanço científico não oferece espaço para pesquisas que buscam replicar estudos originais (Nakagawa and Parker 2015). Em Ecologia, outro aspecto fundamental que dificulta a reprodutibilidade das pesquisas é a própria natureza dessa disciplina. A elevada diversidade de espécies encontradas sob diferentes condições ambientais e de heterogeneidade espacial são os principais obstáculos na tentativa de encontrar os mesmos resultados, a partir de uma ideia hipotética original (Ellison 2010). No entanto, essas dificuldades não devem diminuir a importância e a prática da reprodutibilidade nas pesquisas ecológicas (Nakagawa and Parker 2015).

No caso específico da ecologia, replicações exatas são praticamente inexistentes, visto que é de grande complexidade replicar um mesmo estudo sempre nas mesmas condições do original. Portanto, ao menos algum parâmetro será diferente do original em algum nível (Atmanspacher and Maasen 2016). Entretanto, replicações em diferentes dimensões das variáveis testadas do estudo original, ainda são importantes para generalizar e buscar padrões na natureza. Por outro lado, replicações mais semelhantes ao experimento original incluiriam procedimentos e métodos semelhantes ao estudo primário e pouca ou nenhuma novidade em relação ao original (Kelly 2006).

Estas diferenças encontradas nas replicações secundárias ajudam na definição de “replicações verdadeiras” e das “quase-replicações” (Palmer 2000). A principal diferença entre elas está no fato de que as “quase-replicações” geralmente buscam encontrar um efeito sobre uma variável resposta diferente do estudo original (Nakagawa and Parker 2015). Se um estudo primário testa uma determinada hipótese sobre uma espécie, a quase replicação desse estudo testaria a mesma pergunta sobre outros táxons, permitindo assim, a generalização da teoria, se os resultados esperados são encontrados. Em um outro contexto, a reprodutibilidade de resultados originais pode se dar através da “triangulação”, um termo utilizado para se referir a resultados corroborados através de diferentes abordagens metodológicas e delineamentos (Munàfo and Smith, 2018).

Em ecologia aquática, os estudos experimentais têm sido bastante utilizados pelos pesquisadores, uma vez que os modelos experimentais são úteis para testar teorias e tratar de

problemas globais (i.e., mudanças climáticas) (Benton et al. 2007). Os experimentos realizados em microcosmos apresentam algumas vantagens, como a manipulação mais simplificada e o isolamento de um determinado fator de interesse, e desvantagens, como a perda de realismo, que seria mais bem avaliada em experimentos realizados em grande escala espacial. Apesar da necessidade na busca por maior realismo, experimentos realizados em escalas de ecossistemas não são facilmente replicados, tendo em vista a dificuldade na execução dos procedimentos e a falta de incentivo devido aos altos custos (Schindler 1998). Essas peculiaridades nas pesquisas em ecologia acabam interferindo na capacidade de replicação dos métodos, na reprodutibilidade e extrapolação dos resultados para diferentes sistemas e organismos (Stewart et al. 2013).

Neste contexto, devido à natureza inerente à grande heterogeneidade nos sistemas e condições (espécie, tempo, espaço) dos estudos ecológicos, é primordial a avaliação das generalidades que podem ser obtidas de estudos secundários, em comparação com os resultados dos estudos originais. Essa observação será mais bem validada em um contexto de análise quantitativa de vários resultados de trabalhos secundários e comparados com os originais (Cassey and Blackburn 2006). Meta pesquisas de estudos já são sugeridas em ecologia (Fidler et al. 2017), como ferramenta de síntese para avaliar e melhorar a reprodutibilidade e a transparência, como já tem sido realizado em outras áreas da ciência (Benjamin et al. 2017, Iqbal et al. 2016, Gorgolewski and Poldrack 2016).

Os trabalhos científicos que recebem muitas citações, frequentemente apresentam grande impacto, uma vez que, mostra o seu impacto sobre um determinado tema e sua contribuição científica para futuras replicações (Ioannidis 2005). A replicação de estudos originais resulta em citações nos estudos secundários. Estes trabalhos secundários mencionam os originais pelo interesse nos testes de teorias científicas e comprovação ou refutação de suas hipóteses. Sendo assim, presume-se que os autores que citam determinado artigo (aqui chamado de artigo ou estudo original) contextualizam sua hipótese de pesquisa e comparam seus resultados secundários com aqueles obtidos no estudo original. Além disso, os trabalhos secundários podem reproduzir os originais e ainda acrescentar condições e testar outros fenômenos, os quais as observações originais podem estar sujeitas. Pesquisas que avaliam os trabalhos mais citados oferecem a oportunidade para avaliar a reprodutibilidade devido ao seu impacto na literatura científica (Ioannidis 2005). Portanto, verificar a reprodutibilidade de experimentos de grande impacto, em ecologia aquática, é essencial para validar os resultados e generalizar as relações causa-efeito obtidos a partir de um estudo original (Nakagawa and Parker 2015).

A variação na relação e magnitude das respostas encontradas por perguntas replicadas por outros pesquisadores pode ser em decorrência da heterogeneidade encontrada nos estudos, como variação no delineamento, testes com fatores substitutos aos originais, ou sobre diferentes respostas (Fletcher 2007). Ou ainda mais específicos como, variação nos métodos e análises estatísticas, por exemplo. Todas essas questões afetam a reprodutibilidade dos resultados científicos em menor ou maior grau e reflete na generalidade e validade dos resultados científicos. Portanto, o objetivo desse estudo é definir níveis e categorias de replicação de experimentos em ecologia aquática a partir de experimentos secundários, verificar a reprodutibilidade de experimentos originais, ou seja, o quanto os estudos secundários corroboram ou não, os resultados das perguntas originais e, avaliar temporalmente como as perguntas experimentais secundárias se diferem dos experimentos originais.

Métodos

A busca dos experimentos foi dividida em duas etapas: seleção dos experimentos primários (originais) e seleção dos experimentos secundários.

Seleção dos experimentos primários

A busca dos artigos sobre os experimentos ecológicos, realizados em ambientes aquáticos continentais, foi realizada em julho de 2016, através da plataforma do *ISI Web of Science (Clarivate Analytics)*. Foi utilizada a combinação das seguintes palavras-chave inseridas em *topic*: “ecol*” AND (“experiment*” OR “mesocosm*” OR “microcosm*”) AND (“aquatic*” OR “freshwater*”), abrangendo os trabalhos publicados entre 1945 e 2016. Após a extração e análise dos resumos dos artigos foram selecionados os 7 artigos com maior número de citações (chamados aqui de *top 7*). Artigos de revisões, teóricos, observacionais ou meta-analíticos não foram selecionados entre os 7 mais citados.

Seleção dos experimentos secundários

Após selecionar os *top 7* experimentos em ecologia aquática, uma outra busca foi realizada também na plataforma ISI, no campo *title* (título do experimento original mais citado), para encontrar os artigos que citaram (chamados aqui de experimentos secundários) os experimentos originais. A busca por estes artigos foi realizada nos seguintes bancos de dados:

Principal Coleção do *Web of Science*, *BIOSIS Citation Index* e *Scielo Citation Index*. Após a extração desses resumos, os trabalhos duplicados foram removidos.

Após a coleta dos trabalhos secundários, apenas os artigos experimentais foram considerados para a próxima etapa que consistiu em analisar os resumos e os textos completos desses experimentos. Os experimentos analisados foram apenas os que replicaram os originais total ou parcialmente. Nessa etapa cada artigo foi analisado objetivamente nas seções de objetivos e hipóteses, delineamento experimental, principais resultados e conclusões, para extração das informações de interesse (Anexo 1). Importante ressaltar que o termo replicação será usado no sentido de repetição parcial ou total da hipótese, ideia ou do experimento original. Replicação de unidades experimentais inserida no contexto de tamanho amostral não será abordada aqui.

Replicabilidade

Para identificar os experimentos secundários que replicaram seus originais correspondentes foram estabelecidos critérios para padronizar a extração de informações independente do tema e especificidade das perguntas entre os experimentos originais. Os experimentos secundários deveriam ser semelhantes ao original principalmente em seus testes de hipóteses ou ideia principal.

Variações nas seções “delineamento experimental”, “material e métodos” e “análises estatísticas” foram consideradas como heterogeneidade do experimento que não afetam potencialmente a reprodutibilidade das conclusões e dos resultados. Nesse sentido, foram consideradas replicações do experimento original, os experimentos secundários que conduziram as manipulações com as mesmas variáveis preditoras, ou semelhantes com o experimento original, desde que a pergunta do experimento fosse em alguma condição, correspondente a do original. As variações encontradas tanto nas variáveis preditoras quanto nas variáveis respostas foram usadas para categorizar e definir os tipos de replicação que os experimentos originais receberam ao analisar suas citações. Assim, as categorias de replicações foram definidas por similaridade do experimento secundário com o experimento original.

As categorias de replicação, portanto, foram definidas, principalmente, com base nos elementos de teste de hipótese dos experimentos primários que variam (heterogeneidade) entre os experimentos secundários. Com base nas definições feitas por Nakagawa e Parker (2015), e Palmer (2000), os tipos de replicação descritos aqui foram adaptados conforme modificações encontradas nas variáveis independentes (tratamentos) e variáveis respostas (organismo

biológico) dos experimentos secundários. As definições mencionadas aqui também não levaram em consideração o sistema de estudo, (ver Nakagawa and Parker, 2015) visto que, apenas experimentos em ambientes de água doce foram selecionados para as análises. Em suma, foram consideradas apenas as heterogeneidades comparadas entre variáveis explanatórias, resposta, tipo de experimento e delineamento.

Os tipos de replicações foram divididos em dois grupos: “replicações” e “quase-replicações”. Estes dois grupos são diferenciados principalmente ao longo de duas dimensões: variáveis explanatórias e variáveis respostas que definem as hipóteses de estudo. Nas “replicações”, a variável resposta do experimento secundário é mantida similar ao original, com alguma variação ou não da variável preditora e do delineamento experimental. As “quase-replicações” definem as réplicas dos experimentos onde existe variação, na escala do experimento (microcosmo, mesocosmo, ecossistema) e variável resposta biológica, com modificação ou não nas variáveis preditoras e no delineamento experimental (Tabela 1). Assume-se, portanto, que as “quase-replicações” tenham maior grau de generalidade e menor validação do experimento original que as “replicações” (Figura 1). Assim, foram definidas 9 categorias de replicações dos experimentos originais, seguindo alguns critérios que buscassem maximizar e padronizar as variações mais importantes encontradas em todos experimentos secundários (Tabela 1).

Para cada categoria de replicabilidade definido a partir dos experimentos secundários foi atribuído arbitrariamente um valor correspondente à semelhança do experimento secundário com o original. Esse peso variou de 0,2 a 1, em que 0,2 atribuiu-se a replicação mais distante do experimento original e 1 à replicação exata do experimento original, totalizando 9 valores (Tabela 1). Ao definir esses níveis, uma análise da reprodutibilidade anual dos experimentos originais foi realizada para verificar a tendência temporal em quantidade e qualidade (níveis de replicabilidade) de cada experimento original. Para isso foi somado para cada ano e para cada experimento original o nível de replicação encontrados de acordo com as categorias definidas multiplicado pela sua respectiva quantidade de replicações e dividido pelo número total de replicações para cada ano.

Tabela 1 – Categorias e níveis de replicabilidade dos experimentos secundários em relação aos originais e critérios padronizados, com heterogeneidades permitidas e não permitidas para a definição de cada categoria de replicação dos experimentos em geral. X indica variação permitida na variável explanatória quando comparada ao experimento original. Y indica variação permitida na variável resposta quando comparada ao experimento original.

Categorias	Níveis de similaridade	Permite variante	Referente a	Especificações
Replicações				
<i>Exata (E)</i>	1	Não	-	Testa exatamente os mesmos tratamentos sobre as mesmas variáveis respostas (Ex.: mesmos indivíduos da mesma espécie) com mesmo delineamento experimental, no mesmo local do experimento original.
<i>Parcial próxima (PP)</i>	0,9	Não	Indivíduos, locais	Replicação mais próxima do original. Testa os mesmos tratamentos com o mesmo delineamento sobre as mesmas espécies ou diferentes espécies dentro de um mesmo grupo.
<i>Parcial distante (PD)</i>	0,8	X	Delineamento (Níveis)	Mesma descrição do anterior, porém, permite o teste dos mesmos tratamentos em diferentes níveis.
<i>Conceitual (C)</i>	0,7	X	Tratamentos	Variação da(s) mesma(s) variáveis explanatórias com delineamento experimental igual ou diferente do original através da mesma espécie ou grupo.
Quase-replicações				
<i>Quase parcial próxima – espécie (QPPE)</i>	0,6	Y	Espécies	Mesmas variáveis explanatórias e mesmo delineamento através de diferentes espécies dentro do mesmo grupo.
<i>Quase parcial próxima – grupo (QPPG)</i>	0,5	Y	Grupos	Mesmas variáveis explanatórias e mesmo delineamento através de diferentes grupos.
<i>Quase parcial distante – espécie (QPDE)</i>	0,4	X e Y	Delineamento (níveis), espécies	Delineamento em diferentes níveis dos mesmos tratamentos, através de diferentes espécies.
<i>Quase parcial distante – grupo (QPDG)</i>	0,3	X e Y	Delineamento (níveis), grupos	Delineamento em diferentes níveis dos mesmos tratamentos, através de diferentes grupos.
<i>Quase conceitual (QC)</i>	0,2	X e Y	Tratamentos, delineamentos, grupos e espécies	Diferenciação conceitual do mesmo tratamento, com delineamento igual ou diferente, através de diferentes espécies ou grupos.

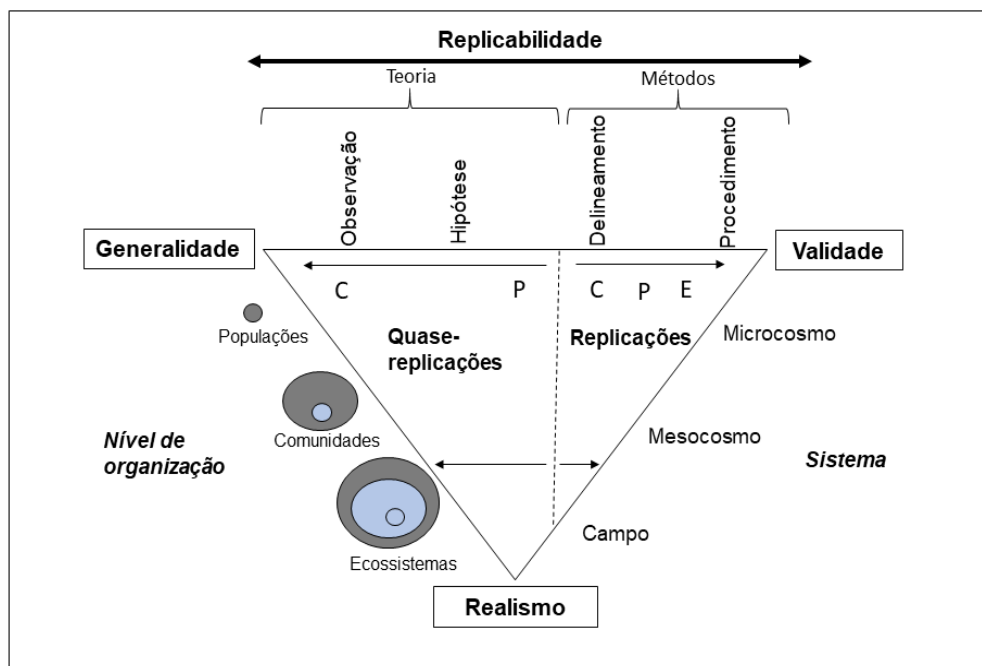


Figura 1 – Esquema com destaque para o *trade-off* que pode ser observado entre as replicações secundárias de um experimento original. Uma replicação mais fiel (replicação exata) terá maior validação do experimento original ao mesmo tempo terá menor generalização dos resultados. A replicação exata requer a repetição do experimento propriamente dito com os mesmos procedimentos. Replicações que ocorrem nas outras dimensões (delineamento, hipótese, teoria/observação) validam em menor nível o original, porém apresenta maior generalização de resultados (replicação parcial a quase-conceitual). Pode-se observar também o *trade-off* entre validade e realismo através do sistema experimental escolhido. Experimentos de laboratório (microcosmo) por serem mais controlados terão melhor validação do que experimentos de campo, cujas condições ambientais não controláveis terão maior influência no resultado reproduzido. Experimentos de campo, por sua vez, serão mais realistas que microcosmos. O nível de organização biológica de estudo também pode apresentar *trade-off* entre generalidade e realismo. Replicações a nível de ecossistemas são menos generalistas que replicações a nível de populações por serem sistemas naturais com características particulares, ao contrário de replicações mais gerais, cujas conclusões podem ser extrapoladas para diferentes populações, independente do ambiente a qual é estudada. Em geral, as Replicações propriamente ditas (Exata, Parcial e Conceitual) serão mais fiéis ao experimento original e com maior capacidade de validá-los e ao mesmo tempo serão menos generalistas e realista na extrapolação de resultados e no que ocorre na natureza, respectivamente. Por outro lado, quase-replicações (Parcial a conceitual) serão mais generalistas, com maior grau de realismo e menos precisas que as replicações. Figura adaptada de Kolasa (2011).

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi avaliada por meio da comparação da direção dos resultados dos experimentos replicados com os resultados originais (Figura 2). Um experimento replicado teve resultado reproduzido quando os testes de variáveis preditoras e respostas comparáveis com o experimento original produzissem resultado do teste estatístico significativo e na mesma direção que o resultado original ($p < 0,005$). Ou ainda quando, a resposta do experimento não fosse comparável com o do original, mas a expectativa da hipótese original fosse conhecida. O valor de p foi escolhido como fator representativo do resultado do experimento original a ser reproduzido porque geralmente foi usado pelos pesquisadores que replicaram o experimento, para definir se um experimento teve ou não efeito, independentemente da magnitude do efeito. Dessa forma, os resultados dos experimentos replicados deveriam ser: na mesma direção do original, na direção contrária ou sem efeito. Em categorias, os resultados foram classificados em consistentes, quando o resultado do experimento secundário fosse na mesma direção e significativa, e resultados inconsistentes, quando no secundário a direção fosse contrária e significativa ou sem efeito.

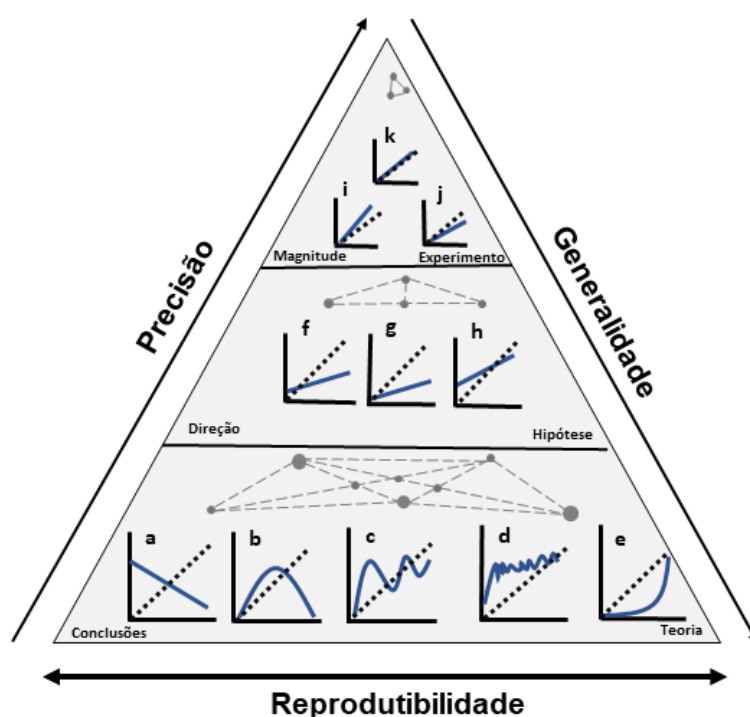


Figura 2 – Esquema simplificado das possíveis dimensões da reprodutibilidade de resultados de experimentos originais replicados em diferentes níveis. A reprodutibilidade (linhas contínuas em azul) de um resultado original (linhas tracejadas), dado uma hipótese do efeito de x sobre y , pode se dar através

das mesmas **conclusões** (base da pirâmide) dos resultados originais quando a replicação de interesse está na **teoria ou ideia** ecológica do experimento original. Nesse caso, diferentes formas, direções e tamanhos de efeitos das replicações serão encontradas (a-e). Diferentes resultados estarão sujeitos às hipóteses dos experimentos secundários testadas sob diferentes extensões dos estudos originais (ex.: gradiente ambiental, escala temporal, interações biológicas, diferenças nas medidas de x ou y ...). Outra dimensão de reprodutibilidade de resultados originais está na replicação da mesma **hipótese** original (centro da pirâmide). Com uma expectativa hipotética original conhecida (ex.: y aumenta com x) dado uma teoria ecológica, a replicação secundária poderá admitir diferentes variáveis respostas, e a reprodutibilidade dos resultados será quando reproduzir a mesma **direção** do experimento original (f-h). No topo da pirâmide, a replicação mais precisa é referente ao **experimento** original em si, dado a mesma teoria e mesma hipótese. Na replicação do mesmo experimento é esperado também que os mesmos procedimentos serão replicados. Além da direção, os resultados secundários reproduzidos serão mais precisos, quanto a **magnitude** dos experimentos originais (i-k). Maior variação na magnitude dos resultados reproduzidos (pontos interligados por linhas tracejadas em cinza) e sob o efeito de outros fenômenos não encontrados nos experimentos originais é esperado ser encontrado nas replicações de teorias (base da pirâmide) e menor variação para a replicação do experimento original propriamente dito (topo da pirâmide). Assim, um *trade-off* entre generalidade e precisão de resultados replicados pode ser encontrado entre diferentes dimensões da replicação original.

Resultados

Foram encontrados 3.047 artigos referentes a experimentos em ecologia aquática. Destes artigos, os sete experimentos mais citados contam com o total de 1.576 citações. Entretanto, dentre os secundários, grande proporção de artigos não replicaram o experimento original em nenhum componente das variáveis preditoras e ou resposta dos experimentos originais correspondentes (Tabela 2). Dentro da proporção de experimentos que foram replicados, existem experimentos que replicaram o original total ou apenas parcialmente.

Em geral, houve uma baixa replicação dos experimentos originais quando comparados à quantidade de citações que cada um recebeu (Tabela 2). Maior parte dos autores que citaram esses experimentos não tinham o interesse em replicar nem total nem parcialmente as perguntas originais de cada experimento. De 1.576 citações avaliadas, 556 (35,28%) eram artigos experimentais. Desse total, 129 (23,20 %) experimentos replicaram os originais em alguma dimensão (Tabela 2). O restante das citações ($N = 1020$; 64,72%) correspondem a estudos observacionais, revisões, teóricos e outros.

O experimento original com maior número de replicações foi o terceiro mais citado, de Relyea (2005) com 47 experimentos. Em relação ao quarto e quinto experimento mais citados foi encontrada uma proporção muito baixa de replicações (Tabela 2). Os experimentos secundários encontrados para o quarto experimento original testaram sempre um ou outro fator mencionado no experimento original, não correspondendo a hipótese de interesse do experimento original. Dessa forma, apenas uma replicação da mesma pergunta original foi testada pelo experimento secundário, para o qual foi encontrada, a direção da resposta, consistente com o original. Considerando o quinto experimento original, a grande maioria das citações correspondiam a outros tópicos completamente distintos do que foi abordado no teste do experimento original. Além disso, 5 experimentos secundários encontrados, pertenciam aos mesmos autores e ao mesmo experimento, entretanto, com alguma abordagem diferente. Excluindo todas essas observações, apenas dois experimentos secundários foram considerados como replicações do experimento original.

Tabela 2 – Relação do número total de citações que cada experimento original recebeu no período de 1945 a 2016 com a quantidade de artigos experimentais encontrados, número de artigos experimentais que de fato replicaram os originais e proporção dos experimentos secundários em relação a quantidade de citação recebida pelos originais.

Artigos originais mais citados em ecologia aquática	Autores	Citações	Experimentos	Replicações	% de replicações
1	Pace et al. 2004	294	89	24	8,16
2	Nakano et al. 1999	260	95	12	4,61
3	Relyea 2005	231	140	47	20,34
4	Baxter et al. 2004	210	60	1	0,47
5	Carpenter et al., 2011	204	21	2	0,98
6	Fleming et al. 1996	189	67	19	10,05
7	Dick and Platvoet 2000	188	84	24	12,76

De acordo com as replicações anteriormente definidas, para a categoria e o nível “Exato” de replicação não foram encontrados nenhum experimento secundário. Para todas as outras categorias, menos semelhantes com os originais, foram encontradas replicações secundárias (Figura 3). As replicações “parciais próximas” (PP) foram os experimentos mais semelhantes ao original correspondente. Mesmo que a pergunta do experimento secundário fosse testada com as mesmas variáveis e mesmos procedimentos originais, o ambiente e os indivíduos nunca seriam os mesmos do experimento primário. “Quase-replicações” do tipo que alteram as

espécies testadas nos experimentos originais dentro do mesmo filo taxonômico (QPPE, QPDE) obtiveram ao todo, o maior número de replicações dos experimentos originais. Quase-replicações sobre espécies de outros filios taxonômicos (QPPG e QPDG) obtiveram menor número de experimentos (Figura 3).



Figura 3 – Número de experimentos replicados por categorias para cada um dos sete experimentos originais. O tamanho dos círculos é referente a quantidade de experimentos replicados dos originais. O gradiente de cor azul do mais escuro ao mais claro indica as replicações mais similares (PP) às mais diferentes do experimento original (QC). Tipos de replicações: PP – Parcial próxima; PD – Parcial distante; C – Conceitual; QPPE – Quase parcial próxima (Espécies); Quase parcial próxima (Grupos); QPDE – Quase parcial distante (Espécies); QPDG – Quase parcial distante (Grupos); QC – (Quase conceitual).

Para todas as categorias de replicações foram encontrados tanto resultados consistentes quanto inconsistentes quando comparados com o nível de significância dos resultados dos experimentos originais (Figura 4). Apesar da pequena quantidade de replicação dos experimentos, de forma geral, todos os resultados dos experimentos secundários foram mais consistentes (mesma direção) com os resultados originais, do que inconsistentes (direção contrária ou nulos) (Tabela 3), independentemente das categorias e quantidade de replicação por experimento.

Tabela 3 – Número de resultados consistentes com a mesma direção dos resultados dos experimentos originais, com direção contrária e sem efeito, e sua respectiva porcentagem de acordo com o número de total de resultados encontrados. Resultados consistentes referem-se tanto a resultados significativos quanto nulos, se encontrados também nos originais. Número de resultados independe do número de experimentos que replicaram a pergunta original, visto que, um mesmo experimento secundário pode ter vários resultados. Resultados consistentes, mas quando a resposta não era comparável com a do experimento original também foram contados quando existisse expectativa de aumento ou diminuição para a hipótese original.

Experimentos originais	Resultados secundários					
	Consistentes		Contrários		Sem efeito	
	N	%	N	%	N	%
1	21	87,5	3	12,5	0	0
2	8	66,6	0	0	4	33,3
3	141	57,5	41	16,7	63	25,7
4	2	100	0	0	0	0
5	2	100	0	0	0	0
6	12	75,0	3	18,75	1	6,25
7	19	82,60	2	8,69	2	8,69
Total	204	63,16	49	15,17	70	21,67

Ainda considerando a consistência dos resultados originais, para todas as categorias de replicação, a direção dos resultados também foi com maior frequência estatisticamente significativa, ou seja, reproduzidas dos experimentos originais (Figura 4a). Ao analisar os resultados ao longo dos dois grupos (“replicações” e “quase-replicações”), uma menor quantidade de resultados inconsistentes e com direção não esperada da hipótese original foi encontrada para as “quase-replicações” quando comparada às “replicações” (Figura 4b). Quanto a quantidade de resultados consistentes, para esses dois tipos, a reprodutibilidade dos resultados foi a mesma.

(a)

(b)

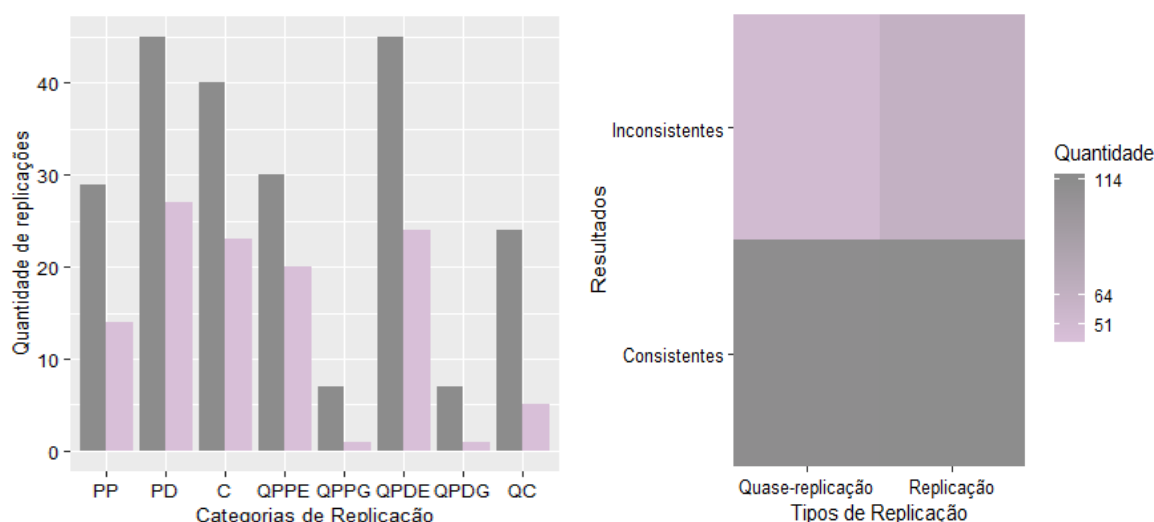


Figura 4 – Número de resultados consistentes (mesma direção – cor cinza) e não consistentes (direção contrária ou sem efeito – cor rosa) totais, comparados com os resultados dos experimentos originais por (a) categoria e (b) grupos de replicação. “**Replicações**”: PP – Parcial Próxima; PD – Parcial Distante; C – Conceitual; e “**Quase-replicações**”: QPPE – Quase Parcial Próxima (Espécie); Quase parcial Próxima (Grupos); QPDE – Quase Parcial Distante (Espécie); QPDG – Quase Parcial Distante (Grupos); QC – (Quase Conceitual).

Exceto para o quarto e quintos experimentos originais, é possível observar uma tendência temporal nos níveis de replicação para os outros experimentos. Para os experimentos originais 1, 3 e 6 há uma leve tendência de diminuição na semelhança das replicações com os originais ao longo do tempo. Por outro lado, para os experimentos 2 e 7, a tendência é de aumentar a semelhança das replicações com os experimentos originais (Figura 5).



Figura 5 – Tendência temporal no nível de similaridade média de replicação para cada experimento original (chamados *Top*). O nível de replicação para cada ano foi calculado pela soma dos valores atribuídos para cada categoria de replicação dividido pelo número total de replicação encontrada no ano. Os tamanhos dos círculos indicam a quantidade de replicações para cada ano. Ou seja, o número de citações que citaram e replicaram o experimento original. O início de replicação de cada artigo aparece após o ano de publicação de cada experimento original. Diferentes cores dos círculos indicam os diferentes tipos de resultados reproduzidos dos respectivos experimentos originais para cada ano: marrom – resultados consistentes (mesma direção do experimento original) e inconsistentes (direção contrária); preto – resultados consistentes com o original; vermelho – apenas resultados inconsistentes encontrados.

De forma geral, o número de replicações tende a aumentar ao longo do tempo (Figura 6a), porém o nível dessas replicações, ou seja, o quanto são similares aos experimentos originais tende a diminuir com o tempo, o que abrange com mais frequência as “quase-replicações” (Figura 6b). A diminuição da semelhança temporalmente converge, principalmente para as “quase-replicações” que alteram as espécies do experimento original (níveis que variam de 0,5

a 0,6). Ainda, nos anos iniciais de replicação dos experimentos originais, os experimentos secundários, ou foram com maior frequência mais semelhantes aos originais, ou com menor frequência mais distintos dos originais (Figura 6b). É possível observar ainda que replicações mais semelhantes com o experimento original tendem a ter maior número de replicações que não reproduzem as mesmas direções do experimento original (Figura 6b).

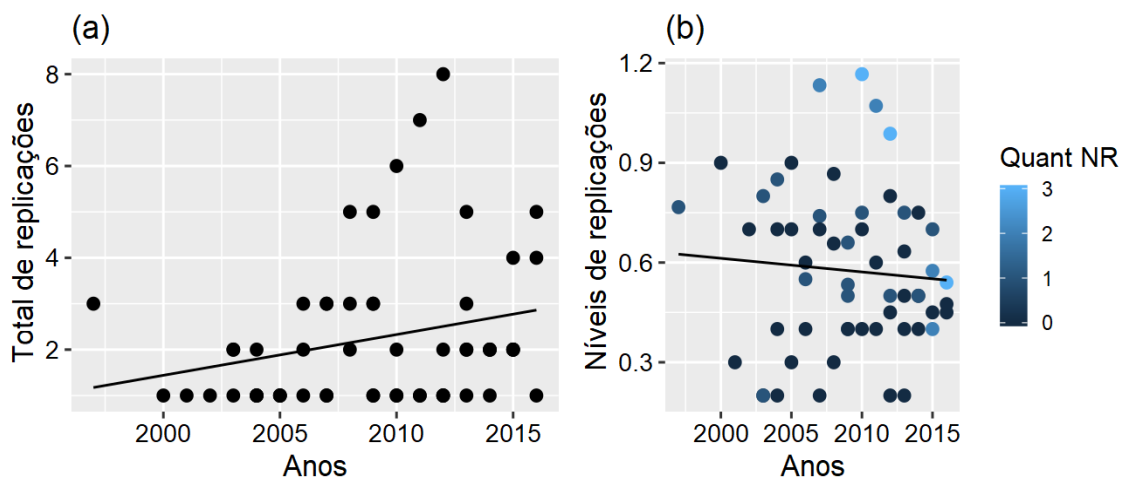


Figura 6 – (a) Tendência temporal no número de replicações experimentais totais para cada experimento original replicado e (b) tendência temporal do nível médio anual de replicações de todos experimentos originais analisados e quantidade de resultados não reproduzidos. Para cada ano existe replicações de mais de um experimento original.

Anexo 1 – Descrição dos experimentos originais e critérios estabelecidos analisados nos experimentos secundários elegíveis para os níveis de replicabilidade do experimento original, independentemente da direção dos resultados encontrados.

Experimentos originais	Teste	Resultados principais	Critérios estabelecidos para analisar os experimentos secundários como réplicas do original
<i>Whole-lake carbon-13 additions reveal terrestrial support of aquatic food webs</i>	Manipulação de C inorgânico dissolvido para verificar o efeito da entrada de carbono terrestre sobre a cadeia trófica aquática. Delineamento: Manipulação em 2 lagos e 1 como referência.	Confirma a hipótese (+): maior parte de carbono presente na comunidade aquática é derivado de fontes terrestres de carbono.	Manipulação: entrada de carbono terrestre da mesma fonte de carbono usada no original ($\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$) ou não. Restrições: Não analisado qualquer outro nutriente, ou matéria orgânica que não fosse o efeito de carbono, especificamente mencionado.
<i>Terrestrial-aquatic linkages: Riparian arthropod inputs alter trophic cascades in a stream food web</i>	Entrada de artrópodes terrestres tem efeito sobre a comunidade bentônica por interferir na frequência de predação por peixes. Delineamento: Em riachos. Fatorial 2x2.	Confirma a hipótese (+): entrada de artrópode terrestres altera a cascata trófica de riachos entre perifíton, artrópodes aquáticos e peixes predadores.	Manipulação: entrada de invertebrados terrestres e presença de peixes predatórios. Restrições: Analisar apenas experimentos que testaram a manipulação dos 2 fatores (artrópodes terrestres e peixes).
<i>The impact of insecticides and herbicides on the biodiversity and productivity of aquatic communities</i>	Analisar o impacto dos efeitos de inseticidas e herbicidas sobre a comunidade aquática. Delineamento: Casualizado com 4 tratamentos de pesticidas e 1 controle, com 6 réplicas de cada.	Resultados múltiplos: efeitos positivos, negativos e nulos dos diferentes herbicidas e pesticidas sobre diferentes grupos e espécies de consumidores primários, herbívoros e predadores.	Manipulação: Pelo menos um dos fatores originais ou outros inseticidas e herbicidas. Restrições: Não analisados, experimentos que testassem sobre tipos de respostas não correspondentes (Ex: genética ou fisiológica) e nem quaisquer outros químicos, se não pesticidas ou herbicidas.
<i>Fish invasion restructures stream and forest food webs by interrupting reciprocal prey subsidies.</i>	Examinar o efeito da presença de espécies invasoras sobre a disponibilidade, de presas de invertebrados entre ecossistemas ripário e de riacho. Manipulação fatorial 2x2 e delineamento em 4 blocos casualizados,	A invasão da espécie de peixe <i>Oncorhynchus mykiss</i> alterou o fluxo de presas de invertebrados terrestres para a espécie nativa <i>Salvelinus malma</i> .	Manipulação: Presas terrestres e espécies invasoras ou não nativas. Restrições: Experimentos que testaram apenas um ou outro fator não foram considerados réplicas do original.

<i>Early Warnings of Regime Shifts: A Whole-Ecosystem Experiment.</i>	Mudança na estrutura da cadeia trófica aquática, por manipulação de predador de topo pode ser prevista por sinais de alerta iniciais. Delineamento: 1 lago manipulado e 1 referência.	Confirma a hipótese (+): A adição de predador de topo no lago desestruturou a cadeia trófica aquática e os sinais de alerta foram evidentes durante a reorganização da cadeia alimentar.	Manipulação: Algum fator como causa de distúrbios em organismos ou na comunidade aquática, cujo interesse central é verificar a relevância de sinais de alerta antes de uma reestruturação no ambiente. Restrições: Não analisado respostas que não fossem referentes a alguma estatística similar ao original.
<i>An experimental study of the reproductive behaviour and success of farmed and wild Atlantic salmon (Salmo salar)</i>	Avaliar a habilidade competitiva e reprodutiva de salmões cultivados e seus potenciais impactos sobre salmões silvestres Delineamento: 4 arenas circulares que simula ambiente natural de reprodução em riachos.	Salmões silvestres possuem maior habilidade reprodutiva em ambiente natural do que salmões cultivados. Fêmeas silvestres e cultivadas possuem habilidade competitiva similares.	Manipulação: Espécies cultivadas e silvestres como tratamentos. Habilidade competitiva e/ou reprodutiva entre elas. Restrições: Respostas de habilidades competitiva e/ou reprodutiva que fosse entre espécies cultivadas e silvestres não foram consideradas como réplica do original.
<i>Invading predatory crustacean Dikerogammarus villosus eliminates both native and exotic species</i>	Avaliar predação entre espécies invasoras e nativas de anfípodos. Delineamento: Aleatorizado, fatorial com espécies invasoras e nativas de anfípodos.	Anfípodos invasores predam anfípodos nativos reduzindo sua diversidade.	Manipulação: Espécies nativas e invasoras. Restrições: Deve avaliar predação entre espécies nativas e invasoras.

Discussão

Avaliar a replicabilidade de estudos originais por meio das citações que ele recebe é útil para quantificar suas replicações, além de verificar se seus resultados são reproduzidos e porque não são. Nesse sentido, parte-se do pressuposto de que os autores que citam determinado trabalho, em parte, replicam o trabalho original e comparam seus resultados. Além disso, um estudo que recebe grande número de citações reforça seu impacto sobre um determinado campo de pesquisa (Ioannidis 2005). Principalmente para pesquisas de impacto, a confirmação ou refutação dos achados originais por meio da replicação por outros pesquisadores deveria se tornar uma prática comum. Entretanto, encontramos que apesar do grande número de citações que os experimentos receberam, a proporção dos experimentos que foram replicados é baixa. O impacto dos resultados desses experimentos para a ecologia aquática não está necessariamente relacionado com a confirmação ou refutação de seus resultados por outros pesquisadores.

Apesar da baixa taxa de replicação dos experimentos, os resultados apresentados mostram que existe, em certo grau, reprodutibilidade dos resultados em ecologia aquática. No entanto, a reprodutibilidade de resultados secundários raramente conta com a replicação mais fiel das hipóteses, métodos e delineamento dos experimentos originais. Ao longo do tempo, os pesquisadores, em geral, buscam replicar os experimentos originais próximo a algum nível intermediário de replicabilidade. Ou seja, replicações muito similares ou muito distante da pergunta original não são os principais focos de interesse entre os pesquisadores que buscam replicar os experimentos originais. Indicando que se um teste experimental secundário se distancia muito do experimento original, talvez para o pesquisador não faz sentido citar e comparar seus resultados com o original. Frequentemente, o interesse dos pesquisadores está em atribuir novidades ao experimento do estudo original. Frequentemente, os experimentos secundários apresentaram originalidade em relação aos primários e, portanto, replicações mais similares ao experimento original são menos frequentes.

Da diferenciação observada entre estudos primários e secundários, dois padrões gerais podem ser atribuídos às pesquisas em ecologia: Generalização e Triangulação. A generalização na maioria das vezes é possível, como encontrado aqui. Ou seja, uma mesma pergunta testada sobre diferentes táxons, podem apresentar a mesma direção, ou os mesmos padrões de respostas. Já a triangulação, diz respeito em verificar um mesmo resultado por diferentes abordagens ou métodos

(Munafò and Davey Smith 2018). Diferentes metodologias que reproduzem resultados similares, portanto, não devem ser vistas como artefatos de não reprodutibilidade de resultados originais.

Dessa forma, uma questão que implica em não repetir de maneira muito similar um determinado experimento é que, em geral, não existem incentivos para replicar exatamente um mesmo estudo (Nakagawa and Parker 2015, Szucs and Ioannidis 2017). Existe forte pressão na ciência para que os pesquisadores testem novas perguntas, novas ideias e encontrem novos resultados que contribuam para o avanço da ciência de forma geral (Nakagawa and Parker 2015). De fato, no presente estudo houve maior contribuição das “quase-replicações”, as quais apresentam maior novidade em relação às “replicações” que testam hipóteses semelhantes sobre diferentes grupos biológicos. Essa questão controversa implica no que poderíamos definir em um “paradoxo de reprodutibilidade”, onde os seguintes pontos podem ser destacados: 1) Os editores e revisores reforçam para que os pesquisadores descrevam com detalhes os protocolos e a metodologia de seus estudos, para garantir a reprodutibilidade. Por outro lado, além de não existir incentivos financeiros há também uma desvalorização, na ciência em geral, em publicar experimentos ou ideias já testadas anteriormente (Baker and Penny 2016). Dessa forma, os trabalhos que apresentam novidades em relação a uma pergunta original, como encontrado aqui, terão maior aceitação para publicação do que as replicações genuínas de um determinado experimento.

É importante considerar também as condições heterogêneas nos quais os experimentos originais e secundários estão sendo conduzidos. Ou seja, o fato de um experimento ser replicado em um laboratório diferente já inviabiliza a replicação exata. Isso porque, mesmo que as condições entre laboratórios sejam mais fáceis de serem controladas do que experimentos em campo (devido às particularidades ambientais entre os locais, por exemplo) existem diferenças entre laboratórios e mesmo entre pesquisadores (Voelkl et al. 2018). No entanto, essa heterogeneidade experimental também não deve ser vista como um artefato que inviabiliza a reprodutibilidade entre os estudos. Caso contrário, os resultados gerados da replicação seriam mais dependentes às condições laboratoriais originais do que ao efeito de um tratamento sobre uma variável resposta qualquer (Karp 2018).

Particularmente, experimentos em que a diversidade biológica é manipulada são impossíveis de serem replicados a nível exato. Mesmo que as condições pudessem ser controladas e assim replicadas ao máximo comparado ao original, o que por si só é quase impossível, ainda assim existe variação a nível genético dentro de uma mesma população (Karp 2018). Isso reforça

a importância de considerar heterogeneidade entre os estudos em tentativas de replicação. Aqui, essa heterogeneidade está implicitamente inserida dentro dos diferentes tipos de replicação descritos e comprova o fato de que nenhum experimento replicou exatamente o original correspondente. Algumas variações são inevitáveis para replicar o experimento e que não necessariamente afetam o resultado. Nesse caso, diferenças de procedimentos metodológicos não seriam potencialmente as causas para falta de reprodutibilidade, a menos que o interesse principal fosse a replicação a nível exato.

Tipos de replicações

Diferenças no delineamento experimental entre experimentos que tem como objetivo testar as mesmas hipóteses são cruciais para definir os diferentes tipos de replicações. Além disso, o grau de extrapolação dos resultados para outros sistemas e organismos irá depender da hipótese que se quer testar (Nakagawa and Parker 2015). Ao comparar a pergunta dos estudos originais com o que os pesquisadores dos estudos secundários propuseram ficou evidente que os principais objetivos dos experimentos secundários é extrapolar padrões para outras táxons ou ambientes. Algumas hipóteses podem apresentar maior nível de generalização do que outras. Por exemplo, o estudo original de Relyea (2005) é um experimento exploratório que buscou investigar qual o efeito de agrotóxicos sobre diferentes organismos aquáticos, sem uma hipótese a priori. Nesse caso, o nível de extrapolação poderá ser maior do que em um experimento que busca como resposta, um comportamento específico de uma determinada espécie, por exemplo, como ocorre no experimento original de Fleming et al. (1996) que buscou avaliar a habilidade competitiva e reprodutiva de salmões cultivados e seus potenciais impactos sobre salmões silvestres. Nesse segundo caso, os tipos de replicações que o experimento admite seriam aquelas mais próxima o possível do original.

O fator que iria mudar de um para outro seriam os indivíduos de uma mesma espécie. No caso, dos experimentos do efeito dos agrotóxicos sobre as diferentes espécies, este permite replicações próximas, quando se quer verificar os efeitos sobre a mesma espécie, ou então replicações mais distantes do experimento original, quando por exemplo, a mesma pergunta pode ser atribuída para espécies em diferentes tipos de ecossistemas ou níveis tróficos. Isso pode explicar de certa forma, maior número de citações desse experimento comparado aos outros. Assim, considerando cada uma das perguntas originais existe um espectro no qual os experimentos

primários irão ser mais ou menos citados e replicados por outros autores. Experimentos que admitem perguntas mais específicas e restritas a um comportamento de uma espécie, por exemplo, não serão citados por pesquisadores que não testarem especificamente a mesma questão.

Uma importante observação a se fazer, portanto, é que para algumas perguntas pode existir um gradiente em diferentes níveis para serem replicadas, que vai desde uma replicação exata ou próxima até a replicação mais distante do estudo original, como caracterizado aqui de “quase-conceitual”. Enquanto para outras perguntas, a replicação mais válida é pontual, ou seja, pode ser repetida em apenas um nível de replicação, geralmente a exata ou parcial. Nesse sentido, quanto menor o nível de generalização de uma pergunta original, menor a quantidade de replicações e reprodutibilidade de resultados que o original poderá receber. Isso porque, para serem replicados, estes estudos devem ser repetidos ao máximo em questão de delineamento experimental e metodologia. Além disso, as réplicas mais próximas apresentam pouca ou nenhuma novidade em relação ao original, o que nem sempre é bem-vindo entre os pesquisadores. Quando se trata de replicações secundárias mais próximas ao original, a reprodutibilidade da magnitude e direção dos resultados são mais sutis e serão mais dependentes de variações nos métodos. A heterogeneidade entre os estudos, portanto, não está inserida na hipótese em si, mas sim em diferenças metodológicas e ambientais.

A maioria dos resultados secundários foram consistentes com os dos estudos originais, o que é importante do ponto de vista da reprodutibilidade. Por outro lado, isso pode sugerir um viés de publicação ou *p-hacking* (Parker et al. 2016), ou seja, um indicativo de que os pesquisadores publicam mais os resultados positivos, ou simplesmente, escolhem os resultados que serão publicados (*cherry-picking*). Em meta-análises, frequentemente, o viés de publicação é observado para resultados que são contrários às expectativas da pergunta inicial de um estudo (Koricheva and Gurevitch 2014, Gurevitch et al. 2018). Mesmo em outras áreas, existe essa tendência. Em um estudo da área comercial, por exemplo, os autores investigaram que cerca de 73% dos pesquisadores utilizam regras de parada em seus experimentos quando alcançam efeitos significativos (Berman et al. 2018).

Consistência e inconsistência entre os resultados de estudos primários e secundários

A exatidão dos resultados de um estudo original a ser confirmada com a replicação dos estudos secundários será mais confiável se a pergunta do original permite replicação do tipo parcial ou mais próxima o possível do original (Figura 1). Assim, confiança nos resultados também é um fator que depende do nível de replicabilidade de um determinado estudo. Por exemplo, a replicação mais fiel do estudo oferece maior reprodutibilidade dos resultados do que a replicação de estudos com diferente nível de generalização (Nakagawa and Parker 2015). Em contrapartida, replicações em maiores níveis de generalização tem maiores chances de falhar em confirmar o experimento original, uma vez que estão mais suscetíveis às escolhas dos pesquisadores em quais resultados devem ser relatados (Nakagawa and Parker 2015). Similarmente a essa questão, se destaca o experimento de Relyea (2005), como já mencionado, este permite replicações em vários níveis, além de diversas generalizações para outros grupos biológicos. Nesse caso, a validade das replicações é menos confiável (57,5% de resultados consistentes com os do original) enquanto que no experimento original de Dick and Platvoet (2000), em que a hipótese testada é específica para espécies de anfípodos, a proporção de reprodutibilidade dos resultados foi maior (cerca de 82,6%).

Ao longo do tempo é esperado que as perguntas ecológicas originais tratadas aqui sejam testadas por pesquisadores para extrapolar para outros grupos biológicos e com alterações nos tratamentos testados. Embora exista o debate da crise de reprodutibilidade na ciência como um todo (Baker and Penny 2016), em ecologia, é comum que os mesmos resultados não sejam igualmente reproduzidos de um estudo original. A questão mais importante, é que de fato, tenha variação para que extrapolações e generalizações possam ser feitas. Para essa disciplina, provavelmente o que seria mais frequente seria a reprodutibilidade inferencial. Ou seja, não reproduzir exatamente a mesma magnitude de um experimento, mas sim que as conclusões de um estudo possam ser reproduzidas por outros trabalhos dependendo das particularidades das perguntas abordadas pelos estudos originais (Goodman et al. 2016).

Considerações finais

Os resultados encontrados revelaram que em geral existe pouca replicação de experimentos em ecologia aquática quando comparado com o alto número de citações que os experimentos originais possuem. Dentre os experimentos replicados dos originais não existe replicação a nível exato do original. As replicações sempre se dão em dimensões heterogêneas do experimento

original. Com destaque às “quase-replicações”, as quais foram mais frequentes, o principal interesse dos pesquisadores está em generalizar os resultados quando replicam experimentos com as mesmas hipóteses dos experimentos originais sobre outras espécies.

Quanto a reprodutibilidade dos resultados existe maior consistência dos resultados secundários com os originais do que o contrário. Entretanto, quando o nível de replicação é mais diferente do experimento original existe maior reprodutibilidade da direção dos resultados, enquanto para as replicações mais próximas ao experimento original possuem maior taxa de resultados não reproduzidos.

Alguns experimentos não dependem somente do delineamento experimental para serem replicados. Muitos autores não estão interessados em replicar o experimento em si, mas sim a teoria por trás dos resultados que a confirmam ou não. Principalmente quando envolve diretamente questões evolutivas, o delineamento experimental ou a exata repetição do experimento pouco importa, mas o que interessa de fato é reproduzir os resultados. Nesse caso, poderá ser encontrado diferenças quantitativas e na força do efeito, porém a direção será mais importante em afirmar se o resultado foi reproduzido ou não, uma vez que isso irá refletir diretamente na confirmação ou rejeição de teorias científicas já testadas. Por outro lado, as más condutas científicas podem também interferir na reprodutibilidade dos experimentos originais. Uma importante questão para avaliar em futuras meta-pesquisas sobre reprodutibilidade e transparência em ecologia é considerar a influência de más condutas, especialmente *p-hacking* e *cherry-picking* na reprodutibilidade dos resultados de uma determinada pergunta científica. Além disso, verificar o tamanho de efeito de estudos que são replicados.

Referências

- Atmanspacher, H. and S. Maasen. Reproducibility: Principles, Problems, Practices, and Prospects. 2016. Ed. Wiley. United States of America, 570p.
- Baker, M. Is there a reproducibility crisis? 2016. Nature 533: 452-454.
- Benjamim, D., D.R Mandel and J. Kimmelman. Can cancer researcher accurately judge whether preclinical reports will reproduce? 2017. PLoS Biology 15:1-17.
- Benton, T.G., M. Solan, J.M.J. Travis and S.M. Sait. Microcosm experiments can inform global ecological problems. 2007. Trends in Ecology and Evolution 22: 516-521.

- Cassey, P. and T.M. Blackburn. Reproducibility and Repeatability in Ecology. 2006. *BioScience* 56: 958-959.
- Dick, J. T. A., and D. Platvoet. 2000. Invading predatory crustacean *Dikerogammarus villosus* eliminates both native and exotic species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 267:977–983.
- Ellison, A.M. Repeatability and transparency in ecological research. 2010. *Ecology* 91: 2536–2539.
- Fanelli, D. How Many Scientists Fabricate and Falsify Research? A Systematic Review and Meta-Analysis of Survey Data. 2009. *PLoS ONE* 4: e5738.
- Fidler, F., Y.E. Chee, B.C. Wintle, M.A. Burgman, M.A. McCarthy and A. Gordon. Metaresearch for Evaluating Reproducibility in Ecology and Evolution. 2017. *BioScience* 67: 282-289.
- Fleming, I. A., B. Jonsson, M. R. Gross, and A. Lamberg. 1996. An Experimental Study of the Reproductive Behaviour and Success of Farmed and Wild Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *The Journal of Applied Ecology* 33:893.
- Fletcher, J. What is heterogeneity and is it important? 2007. *BJM* 334:94-96.
- Haddaway, N. and J. Verhoeven. Poor methodological detail precludes experimental repeatability and hampers synthesis in ecology. 2015. *Ecology and Evolution* 5: 4451-4454.
- Head, M.L., L. Holman, R. Lanfear, A.T. Kahn and M.D. Jennions. The extent and consequences of P- hacking in science. 2015. *PLoS Biology* 13: e1002106
- Ioannidis, J.P.A. Contradicted and Initially Stronger Effects in Highly Cited Clinical Research. 2005. *JAMA* 294: 218-228.
- Iqbal, S.A., J.D. Wallach, M.J Khoury, S.D. Schully and J.P.A. Ioannidis. Reproducible Research Practices and Transparency across the Biomedical Literature. 2016. *PLoS Biology* 14: 1-13.
- Karp, N. A. 2018. Reproducible preclinical research—Is embracing variability the answer? *PLoS Biology* 16:1–5.
- Kelly, C.D. Replicating empirical research in behavioral ecology: How and why it should be done but rarely ever is. 2006. *Q. Rev. Biol.* 81: 221-236.
- Kerr, N.L. HARKing: hypothesizing after the results are known. 1998. *Pers. Soc. Psychol. Rev.* 2: 196–217.
- Goodman, S. N., D. Fanelli, and J. P. A. Ioannidis. 2016. What does research reproducibility mean? *Science Translational Medicine* 8:341ps12-341ps12.
- Gurevitch, J., J. Koricheva, S. Nakagawa, and G. Stewart. 2018. Meta-analysis and the science of research synthesis. *Nature* 555:175–182.
- Karp, N. A. 2018. Reproducible preclinical research—Is embracing variability the answer? *PLoS Biology* 16:1–5.

- Koricheva, J., and J. Gurevitch. 2014. Uses and misuses of meta-analysis in plant ecology. *Journal of Ecology* 102:828–844.
- Munafò, M. R., and G. Davey Smith. 2018. Robust research needs many lines of evidence. *Nature* 553:399–401.
- Nakagawa, S., and T. H. Parker. 2015. Replicating research in ecology and evolution: Feasibility, incentives, and the cost-benefit conundrum. *BMC Biology* 13:1–6.
- Parker, T. H., W. Forstmeier, J. Koricheva, F. Fidler, J. D. Hadfield, Y. E. Chee, C. D. Kelly, J. Gurevitch, and S. Nakagawa. 2016. Transparency in Ecology and Evolution: Real Problems, Real Solutions. *Trends in Ecology and Evolution* 31:711–719.
- Szucs, D., and J. P. A. Ioannidis. 2017. Empirical assessment of published effect sizes and power in the recent cognitive neuroscience and psychology literature. *PLoS Biology* 15:1–18.
- Voelkl, B., L. Vogt, E. S. Sena, and H. Würbel. 2018. Reproducibility of preclinical animal research improves with heterogeneity of study samples. *PLoS Biology* 16:1–13.
- Munafò, M. R., and G. Davey Smith. 2018. Robust research needs many lines of evidence. *Nature* 553:399–401.
- Nakagawa, S. and T.H. Parker. Replicating research in ecology and evolution: feasibility, incentives, and the cost-benefit conundrum. 2015. *BMC Biology* 13: 1-6.
- Open Science Collaboration. Estimating the reproducibility of psychological science. 2015. *Science* 349: aac4716-1 – aac4716-8.
- Palmer, A.R. Quasi-replication and the contract of error: lessons from sex ration, heritabilities and fluctuating asymmetry. 2000. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 31: 441-80.
- Parker, T.H., W. Forstmeier, J. Koricheva, F. Fidler, J.D. Hadfield, Y.E. Chee, C.D. Kelly, J. Gurevitch and S. Nakagawa. Transparency in Ecology and Evolution: Real Problems, Real Solutions. 2016. *Trends in Ecology and Evolution* 31: 711-719.
- Schindler, D.W. Replication versus Realism: The Need for Ecosystem-Scale Experiments. 1998. *Ecosystems* 1: 323-334.
- Schmidt, S. Shall we really do it again? The powerful concept of replication is neglected in the social sciences. 2009. *Review of General Psychology* 13:90-100.
- Stewart R.I.A, M. Dossena, D.A. Bohan, E. Jeppesen, R.L. Kordas, M.E. Ledger, M. Meerhoff, B. Moss, C. Mulder, J.B. Shurin, B. Suttle, R. Thompson, M. Trimmer and G. Woodward. Mesocosm Experiments as a Tool for Ecological Climate-Change Research. 2013. *Advances in Ecological Research* 48: 71-181.

Capítulo 3

Alta heterogeneidade experimental reduz o efeito global da biodiversidade sobre o funcionamento dos ecossistemas aquáticos continentais

Resumo

Com a intensificação das atividades humanas no último século, as consequências dos impactos antrópicos sobre os ecossistemas têm atraído a atenção de pesquisadores para os efeitos da perda da biodiversidade sobre o funcionamento dos ecossistemas (BEF). Considerando os ecossistemas aquáticos continentais, nas últimas décadas, diversos experimentos têm buscado explicar as consequências geradas por mudanças na composição e riqueza das comunidades sobre as funções e serviços ecossistêmicos. Neste estudo, uma meta-análise foi conduzida para buscar os principais os padrões na relação BEF em estudos experimentais em ecossistemas aquáticos continentais e os fatores que influenciam na magnitude do efeito. Foram analisados 3845 tamanhos de efeito de 127 experimentos independentes. Foi encontrado que a riqueza de espécies melhora o funcionamento dos ecossistemas aquáticos, porém, esse efeito foi relativamente baixo (z de Fisher = 0,26) e com destaque para uma grande heterogeneidade observada. Em geral, os experimentos BEF são conduzidos com baixo número de espécies manipuladas em pequenas escalas espaciais e a curto prazo. Além disso, grande variação das manipulações experimentais em termos de táxons, métricas de diversidade e funções, níveis tróficos e nível de organização contribuíram para a variabilidade nos tamanhos de efeito e consequentemente, um menor efeito global foi detectado quando comparado ao que é destacado na literatura científica. Os resultados encontrados aqui diferem do que tem sido descoberto para os ecossistemas terrestres e alertam para as condições nas quais as conclusões de relações BEF experimentais devem ser extrapoladas para o mundo real, considerando diferentes tipos de funções, diversidade biológica, tempo de duração e tamanho do grão experimental.

Palavras-chave: Estabilidade, multifuncionalidade, produtividade, propriedades ecossistêmicas.

Abstract

With the intensification of human activities in the last century, the consequences of anthropic impacts on ecosystems have attracted the attention of researchers to the effects of the loss of biodiversity on the ecosystem functioning (BEF). Considering the continental aquatic ecosystems, in the last decades, several experiments have tried to explain the consequences generated by changes in the composition and richness of communities on ecosystem functions and services. In this study, a meta-analysis was conducted to look for the main patterns in the BEF relationship in experimental studies in continental aquatic ecosystems and the factors that influence the magnitude of the effect. 3845 effect sizes from 127 independent experiments were analyzed. We found that species richness improves the functioning of aquatic ecosystems, however, this effect was relatively low (Fisher's $z = 0.26$) and with a large heterogeneity observed. In general, BEF experiments are conducted with a low number of species manipulated on small spatial scales and in the short term. In addition, a large variation of experimental manipulations in terms of taxa, metrics of diversity and functions, trophic levels and level of organization contributed to the variability in effect sizes and, consequently, a lesser overall effect was detected when compared to what is highlighted in the scientific literature. The results found here differ from what has been discovered for terrestrial ecosystems and warn of the conditions under which the conclusions of experimental BEF relationships must be extrapolated to the real world, considering different types of functions, biological diversity, duration and spatial grain size.

Key-words: ecosystem properties, multifunctionality, productivity, stability.

Introdução

Com o crescente aumento das atividades antrópicas, os impactos como fragmentação de habitats, mudanças climáticas, invasões biológicas e poluição têm levado ao aumento considerável na perda de espécies e alterações no funcionamento dos ecossistemas (Hooper et al. 2005, Cardinale et al. 2012). Ao longo das últimas décadas, vários estudos avaliaram o efeito da perda da biodiversidade sobre as propriedades e funções dos ecossistemas (Hooper et al. 2005, 2012, Balvanera et al. 2006, Tilman et al. 2014, Gamfeldt et al. 2015). A principal hipótese desses estudos é que o funcionamento de um ecossistema é mais eficiente em locais com maior diversidade

biológica, tendo em vista que diferentes espécies utilizariam recursos de maneira mais eficiente através do mecanismo de complementariedade de nicho (Cardinale et al. 2006, Allan et al. 2013). Além disso, comunidades mais diversas também apresentam maiores chances de serem mais resilientes e resistentes contra distúrbios ambientais e invasões de espécies (Dzialowski 2010, Ricciardi and Macisaac 2011, Staats et al. 2016).

Os primeiros estudos experimentais sobre este tema testaram os efeitos da riqueza de espécies sobre a produtividade primária em ecossistemas terrestres. Experimentos conduzidos em câmaras de crescimento (Naeem et al. 1995) ou em campo (Tilman 1997) demonstraram que a produtividade primária aumenta em tratamentos com maior diversidade de espécies, sugerindo que a complementariedade de nichos seria o principal mecanismo para explicar a maior produtividade em locais com maior diversidade taxonômica e funcional. Posteriormente, vários estudos sobre a relação BEF avaliaram medidas de diversidade funcional que poderiam prever melhor o funcionamento dos ecossistemas do que a riqueza de espécies (Smith et al. 1997, Elmqvist et al. 2003). Por exemplo, algumas espécies possuem características dominantes nas comunidades e seu efeito sobre o funcionamento poderá ser superior aos efeitos de outras espécies presentes (Hooper et al. 2005).

Apesar das evidências sobre a importância da biodiversidade sobre o funcionamento dos ecossistemas (Hooper et al. 2005, Balvanera et al. 2006, Cardinale et al. 2006, Hooper and Vitousek 2008, Gamfeldt et al. 2015, Fox et al. 2017) algumas questões, principalmente considerando as abordagens experimentais, também foram discutidas ao longo dos últimos anos (Naeem and Wright 2003, Hooper et al. 2012). Uma das principais críticas refere-se à manipulação direta e aleatória de espécies a partir de um conjunto regional, predominante nos experimentos que testam a relação BEF. A principal crítica sobre essa abordagem é que deliberadamente os pesquisadores desconsideram os mecanismos adjacentes, o que não revela, portanto, um resultado possível de ser encontrado na natureza (Grime 1997).

Outro ponto a considerar é que, embora seja evidente a contribuição da diversidade para o funcionamento dos ecossistemas, através dos estudos experimentais e observacionais, o ambiente e sua variação espaço-temporal também afetam diretamente o funcionamento e estabilidade dos ecossistemas (Tilman et al. 2014). Experimentos de curto prazo e realizados em pequenas escalas espaciais, por exemplo, podem sobrestimar o efeito das espécies no funcionamento dos ecossistemas, principalmente porque são conduzidos em baixos níveis de riqueza de espécies

(Chesson 2000). Alguns autores apontam, ainda, que alguns efeitos abióticos são mais importantes para prever funções dos ecossistemas do que a diversidade em si (Wardle, 2016). Portanto, considerar diferentes fatores espaciais (e.g. escala espacial ou latitude) e temporais (tempo de duração dos experimentos) é importante para prever com mais confiança o efeito da biodiversidade sobre o funcionamento dos ecossistemas.

Além dos diversos debates em relação aos estudos BEF é necessário destacar também as lacunas e os vieses que ainda limitam o conhecimento sobre essa relação. Por exemplo, os estudos são desenvolvidos principalmente em escalas locais e grãos espaciais limitados (Schmid et al. 2001). O número manipulado de espécies nos experimentos também não reflete a grande diversidade existente na natureza, principalmente em regiões tropicais (Wardle, 2016). Além disso, muitos experimentos relacionaram os efeitos da biodiversidade sobre a produtividade primária em ambientes temperados terrestre, sobretudo em ecossistemas de pastagem/gramíneas (Tilman et al., 2014). Essas lacunas impedem generalizações para ecossistemas aquáticos (de água doce e marinhos) em diferentes regiões climáticas. Outro viés é que, embora seja bem aceito e evidenciado o efeito da biodiversidade sobre as propriedades ecossistêmicas, a grande maioria das manipulações experimentais considera apenas um nível trófico como variável explanatória, ou mesmo como resposta, ignorando interações tróficas que ocorrem a nível de ecossistemas (Balvanera et al., 2006). Para ambientes aquáticos o efeito *top-down*, por exemplo, é bem mais comum do que em ambientes terrestres e mais provável de encontrar direção idiossincrática considerando diferentes níveis tróficos (Cardinale et al., 2006).

Alguns autores realizaram meta-análises sobre a relação biodiversidade e funcionamento dos ecossistemas abrangendo ecossistemas terrestres e aquáticos com o objetivo de verificar os padrões gerais dessa relação (Balvanera et al., 2006; Cardinale et al., 2006). Entretanto, os tamanhos de efeito encontrados para ambientes de água doce não foram explorados, como por exemplo, sobre os fatores que podem explicar essa relação nesse tipo de ecossistema, ou sobre os padrões encontrados considerando os diferentes organismos aquáticos.

Dessa forma, o principal objetivo desse trabalho é avaliar, através de uma meta-análise, a direção e o efeito da biodiversidade sobre o funcionamento dos ecossistemas aquáticos continentais. Especificamente, os seguintes moderadores (variáveis explanatórias) da relação BEF (descritos em Balvanera et al. 2006) foram avaliados: medida de diversidade biológica, nível trófico, número máximo de espécies e nível de organização

. Além disso, o tempo de duração dos experimentos e o tamanho do grão espacial também foram utilizados como preditores do tamanho de efeito na relação BEF nos ambientes aquáticos continentais.

Métodos

Protocolo de busca e extração dos dados

A busca dos artigos que testaram experimentalmente o efeito da biodiversidade sobre o funcionamento nos ecossistemas aquáticos continentais foi conduzida seguindo o protocolo PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis*; Moher et al. 2009) e realizada em 25 de abril de 2018 através da plataforma do *Web of Science* (*Clarivate Analytics*). A combinação dos seguintes termos foi utilizada:

“ecosystem function*” OR “ecosystem* typ*” OR “ecosystem* product*” OR “ecosystem* process*” OR “ecosystem* service*” OR “ecosystem* propert*” OR “ecosystem* struct*” (Topic) AND “richness” OR “specie*” OR “diversit*” OR “biodiversit*” OR “funct*” OR “phylog*” OR “taxon*” (Topic) AND “aquatic*” OR “reservoir” OR “freshwater*” OR “river*” OR “lake*” OR “stream*” OR “pond*” OR “creek*” OR “wetland*” OR “floodplain*” OR “flood* plain*” (Topic) AND “experiment*” OR “mesocosm*” OR “microcosm*” OR “manipulat*” (Topic) NOT “marine*” OR “estuar*” OR “sea” (Title).*

Os estudos resultados dessa combinação foram filtrados para não abranger os estudos de revisão. Além disso, estudos indexados na base *Scielo* também foram inseridos para análise de critérios estabelecidos abaixo.

Os seguintes critérios foram considerados para a inclusão dos estudos:

- Testar experimentalmente o gradiente de diversidade sobre alguma propriedade dos ecossistemas de água doce. A manipulação da diversidade pode ser indireta por diluição ou através da manipulação de alguma variável ambiental, ou por manipulação direta do gradiente de espécies;
- Tipos de experimentos considerados: *in situ*, mesocosmos ou microcosmos.

- O estudo deve apresentar ao menos 2 níveis de diversidade (ex.: baixa e alta; monocultura comparado com policultura), mas sempre com riqueza total maior que 2. No entanto, para comparações múltiplas dentro de um mesmo estudo, riqueza menor ou igual a duas espécies foram consideradas para calcular os tamanhos de efeitos;
- Os experimentos devem apresentar tamanho amostral maior que 2 para ser possível calcular o tamanho de efeito;
- Os estudos devem apresentar o tamanho de efeito apresentado em texto, tabelas ou graficamente. Estudos reportaram apenas valor de p não foram considerados;

Os estudos foram classificados de acordo com as variáveis preditoras e respostas dos experimentos, as quais foram usadas posteriormente para meta-análise de subgrupos. Considerando a variável resposta, foram obtidas as seguintes informações dos estudos primários: i) tipo de função e ou serviço ecossistêmico, ii) as propriedades utilizadas para caracterizar as diferentes funções ecossistêmicas, iii) nível de organização da variável resposta (população, comunidade ou ecossistema). Nesse caso, os estudos primários foram classificados como “ecossistema” quando eles utilizaram variáveis químicas (e.g., oxigênio, nitrogênio, fósforo, carbono, etc.). Além disso, o iv) tipo de variável mensurada, e classificada como biótica ou abiótica. Aqui, métricas bióticas foram refinadas de acordo com os diferentes níveis tróficos: produtor primário, consumidores (herbívoros e predadores), detritívoros ou multitrófico quando a manipulação de espécies aconteceu em mais de um nível trófico. As métricas de característica abiótica seguiram a mesma classificação do nível ecossistema no tipo de organização. Essas diferentes medidas nos diferentes níveis tróficos (ou abiótico) foram subdivididas dentro dos diferentes tipos de funções encontradas nos experimentos. Em relação às variáveis preditoras, foram registrados i) os organismos manipulados para gerar o gradiente de riqueza, ii) o número de total espécies e, iii) a medida de diversidade utilizada.

Também foram retirados dos estudos, a localização (latitude e longitude transformados para graus decimais) dos experimentos. Quando as coordenadas geográficas não estavam disponíveis no texto do artigo, foram realizadas buscas no Google Earth. Também foram reportados o ano em que o experimento foi realizado, o tempo de duração total de cada experimento (em meses) e o tamanho do grão experimental (em metros quadrados), coletados a partir das informações disponíveis nos estudos ou estimados a partir das formas geométricas das unidades experimentais utilizadas.

Tamanho de efeito, análise de subgrupos e meta-regressão

Para mensurar os tamanhos de efeito da relação diversidade e funcionamento do ecossistema foram retirados do texto, tabelas ou figuras, os valores de média e variabilidade (intervalo de confiança, erro padrão ou desvio padrão), coeficiente de correlação, coeficiente de determinação ou valor de t , e os respectivos tamanhos amostrais. Quando registradas as médias dos tratamentos em diferentes níveis de riqueza, sempre foram comparados médias par a par dos tratamentos, um de menor riqueza com o tratamento de maior nível de riqueza. Portanto, não foram comparadas médias de dois tratamentos com igual número de espécies, mesmo com composições diferentes, tendo em vista que o interesse primário do trabalho é o de verificar o efeito da riqueza sobre o funcionamento dos ecossistemas. Por outro lado, o gradiente de diversidade em que o número de espécies e a composição eram os mesmos, porém eram manipuladas diferenças na densidade ou abundância dos organismos também foram considerados para os cálculos de tamanho de efeito. Nesse caso, o tipo de diversidade foi classificado como equitabilidade. Além da riqueza de espécies e equitabilidade, outras medidas de diversidade também foram consideradas para os cálculos dos tamanhos de efeito, tais como, riqueza funcional, diversidade funcional e diversidade filogenética.

Os valores de média e desvio padrão foram transformados em g de *Hedges*. Os coeficientes de determinação (R^2) foram convertidos, calculando a raiz quadrada, em coeficientes de correlação (r) e esses em z de Fisher pela equação (Rosenthal 1991):

$$z = 0.5 \times \left(\frac{r + 1}{r - 1} \right)$$

Dependendo da variável resposta analisada nos estudos primários, a relação entre biodiversidade e função ecossistêmica pode ser negativa. Por exemplo, é como esperado que as taxas de invasão decrescem com o aumento da biodiversidade. Ao incluir tamanhos de efeito negativos numa meta-análise, o tamanho de efeito acumulado seria erroneamente reduzido. Portanto, para evitar esse artefato, nós multiplicamos, quando necessário, os tamanhos de efeito negativos por -1.

Comumente, um estudo experimental sobre BEF pode gerar múltiplos resultados que não são independentes. Por exemplo, um mesmo estudo pode apresentar resultados com diferentes medidas para uma mesma função do ecossistema ou tamanhos de efeito calculados a partir de múltiplos tratamentos comparados com um mesmo grupo controle (Gleser & Olkin 2009). Assim,

nós realizamos uma meta-análise multinível de efeitos aleatórios para controlar a dependência dos tamanhos de efeito (Nakagawa and Santos 2012). Assim, para levar em conta a não independência dos tamanhos de efeito foram assumidos como efeitos aleatórios na meta-análise, a identificação dos estudos, e aninhados dentro dos estudos, a identificação dos tratamentos de menor nível de riqueza de espécies, os quais eram comparados com os múltiplos tratamentos de maior nível de riqueza.

A partir do modelo aleatório de 3 níveis através da Estimativa de Máxima Verossimilhança Restrita (*REML*) foram estimados os parâmetros do modelo com três fontes de variância: a variância de amostragem no nível 1, a variância dentro dos estudos (nível 2) e a variância entre os estudos (nível 3). Nós estimamos o tamanho de efeito, a variância total (T^2), a heterogeneidade entre os estudos (estatística Q) e a proporção da heterogeneidade que potencialmente pode ser explicada por moderadores (I^2). A heterogeneidade também foi particionada entre os efeitos aleatórios (estudos e tratamentos) para quantificar o quanto da heterogeneidade entre os tamanhos de efeito pode ser atribuída a variância entre e dentro de estudos. Para o modelo de três níveis é possível calcular também o coeficiente de correlação interclasse (ICC), que mostra o quanto dos efeitos aninhados são correlacionados, através da equação (Konstantopoulos 2011):

$$\rho = \frac{\sigma_1^2}{\sigma_1^2 + \sigma_2^2}$$

onde σ_1^2 é o componente de variância no nível 1 (agrupamento entre os estudos) e σ_2^2 é o componente de variância no nível 2 (efeitos aninhados dentro dos grupos de estudos).

Nós estimamos modelos de meta-regressão para avaliar a relação entre tamanho de efeito e as variáveis quantitativas tamanho do grão experimental, tempo de duração do experimento e número total de espécies. A meta-regressão foi conduzida considerando todas as variáveis em conjunto, porém com uma menor quantidade de efeitos (k), uma vez que nem sempre todas as informações a respeito dessas variáveis estavam disponíveis nos estudos primários. Assim, os estudos em que ao menos uma das informações (tamanho do grão experimental ou tempo) estavam indisponíveis não foram considerados na análise. Para minimizar a ausência dessas variáveis, outros modelos de meta-regressão foram realizados para cada variável separadamente.

Análises de subgrupos foram realizadas para as variáveis categóricas com o objetivo de estimar o tamanho de efeito médio (incluindo intervalo de confiança e significância) para diferentes tipos de função do ecossistema, níveis tróficos por função, nível de organização, métricas de

diversidade utilizadas, organismos biológicos e, finalmente, considerando as classes de riqueza de espécies. Para cada categoria também foi controlada a dependência entre os tamanhos de efeito por meta-análise de modelos aleatórios de 3 níveis. As análises de subgrupos foram representadas utilizando *forest plots* com o tamanho de efeito médio de cada nível das variáveis categóricas. Para os diferentes tipos de funções ecossistêmicas, modelos de meta-regressão, com os moderadores quantitativos (tamanho do grão experimental, tempo e número de espécies), também foram testados para cada nível das funções.

Viés de publicação

O viés de publicação resultante da publicação preferencial de estudos com resultados significativos foi analisado através de *fail safe number* ou *fsn* (Orwin 1983). Esse método estima quantos estudos ausentes (pelo viés de publicação) seriam necessários para tornar o resultado da meta-análise não significativo. Para calcular o *fsn*, nós utilizamos os valores médios dos tamanhos de efeito e variância para eliminar a dependência dentro dos estudos. Além disso, uma análise modificada da regressão de Egger (Nakagawa & Santos, 2012) foi realizada para verificar se existe assimetria no *funnel plot* (Egger et al. 1997). Assim, foi conduzida uma meta-análise multinível para efeitos aleatórios em que a variância de amostragem dos tamanhos de efeito foi usada como moderador no modelo. Com os resíduos desse método é possível controlar a dependência e minimizar a influência da heterogeneidade entre os tamanhos de efeito (Nakagawa & Santos, 2012). Se o intercepto do modelo for significativamente diferente de 0, existe assimetria e, portanto, o viés de publicação está presente. Por fim, uma análise de *trim-and-fill* (Duval and Tweedie 2000) foi testada com os resíduos, para ajustar a assimetria do *funnel plot*, e estimar a quantidade de estudos, se necessário, para corrigir o viés de publicação. Por fim, uma meta-análise cumulativa (Leimu and Koricheva 2004) foi realizada para verificar a variação no tamanho de efeito médio ao longo do tempo.

A extração dos dados em figuras foi realizada através do pacote “metaDigitise” (Pick et al. 2018), as transformações entre tamanhos de efeito com o pacote “esc” (Lüdecke 2019), e as análises foram conduzidas com o pacote “metafor” (Viechtbauer 2010). Todas as análises, portanto, foram conduzidas através do software R versão 3.6.2 (“R Core Team” 2019). O nível de significância considerado para as análises foi de 5%.

Resultados

Encontramos 1503 artigos na base do *Web of Science (Clarivate Analytics)*. Para a síntese qualitativa e quantitativa foram considerados 127 artigos selecionados de acordo com os critérios descritos anteriormente (Figura 1).

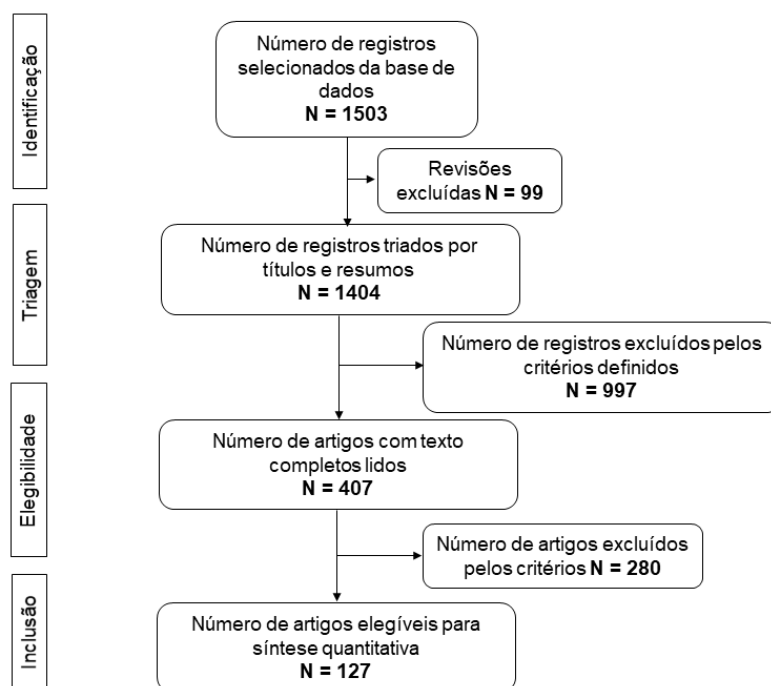


Figura 1 – Fluxograma PRISMA da etapa de identificação até a etapa de inclusão dos estudos elegíveis para a meta-análise dos estudos experimentais sobre a relação biodiversidade e funcionamento dos ecossistemas aquáticos de água doce.

O maior número de registros excluídos se encaixa no critério de experimentos sem gradiente de diversidade de espécies (Figura 2). Estudos realizados em ambiente marinho apareceram em menor frequência nos critérios de exclusão.

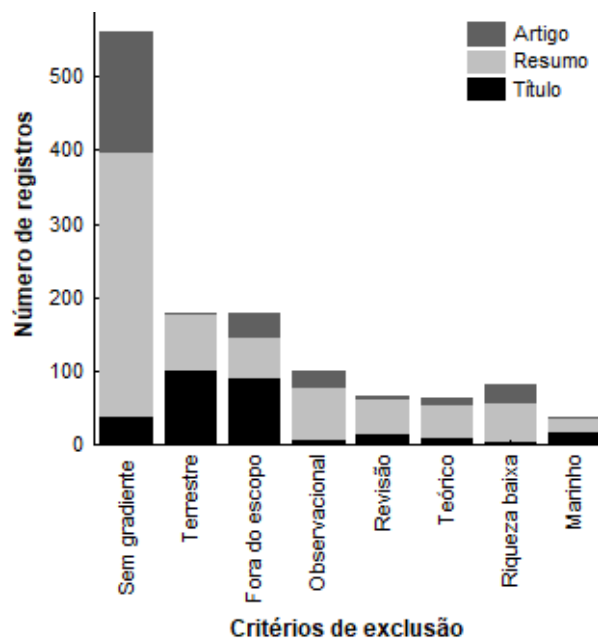


Figura 2 – Número de estudos excluídos de acordo com os critérios definidos após leitura de textos completos, resumos e títulos.

Alguns autores conduziram mais de um experimento por estudo, assim, foram analisados o total de 138 experimentos independentes. Desses experimentos, nós obtivemos 3845 tamanhos de efeito, sendo 22 valores estimados com base na estatística t , 377 obtidos de coeficientes de correlação, e 3447 valores de médias e medidas de variabilidade (intervalo de confiança, amplitude, erro padrão ou desvio padrão).

O resultado da meta-análise mostrou efeito positivo da biodiversidade sobre o funcionamento dos ecossistemas aquáticos. O tamanho de efeito médio de z de Fisher (Figura 3) foi de 0,2671 ($Z = 7,1492$, erro padrão = 0,0374, $p < 0,001$, $IC_{95} = -0,194; -0,34$). A variação dos valores de tamanho de efeito atingiu valor mínimo de $-10,43$ e máximo de $10,81$ com desvio padrão de 0,97. A variância total (T^2) entre os estudos foi igual a 0,353 e a correlação dos tamanhos de efeito (ρ) dentro dos estudos foi de 0,403. A heterogeneidade total (I^2) que pode ser potencialmente explicada por moderadores foi de 86,3825.

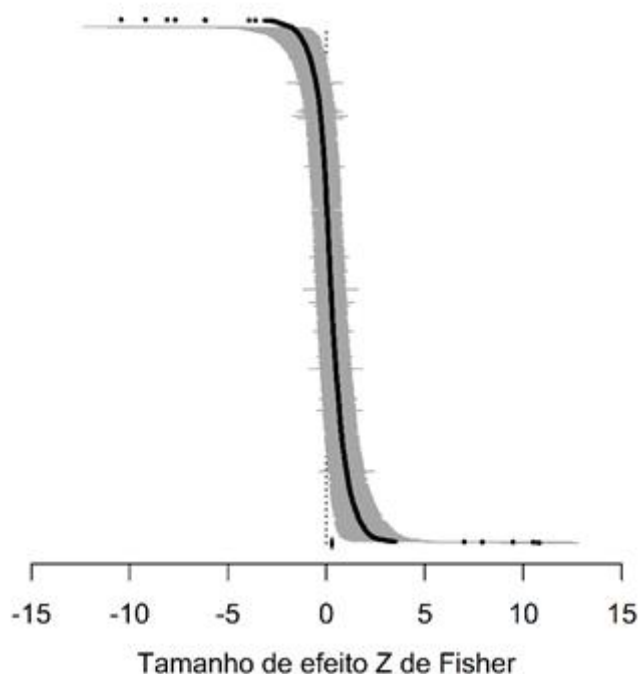


Figura 3 – Variação da estatística z de Fisher avaliando a relação entre biodiversidade e funcionamento dos ecossistemas aquáticos continentais. Os pontos indicam os valores dos tamanhos de efeito e seus respectivos intervalos de confiança a 95% (linhas cinzas). A linha tracejada mostra tamanhos de efeito igual a 0 e o diamante na base indica o tamanho de efeito médio para efeitos aleatórios.

Os experimentos foram conduzidos principalmente em climas temperados do continente Europeu e América do Norte (Figura 4). Apenas 12 experimentos foram conduzidos no hemisfério Sul (localizados no Brasil e Austrália). De maneira similar, a quantidade de medidas de tamanho de efeito também foi discrepante entre as latitudes (Figura 5a).

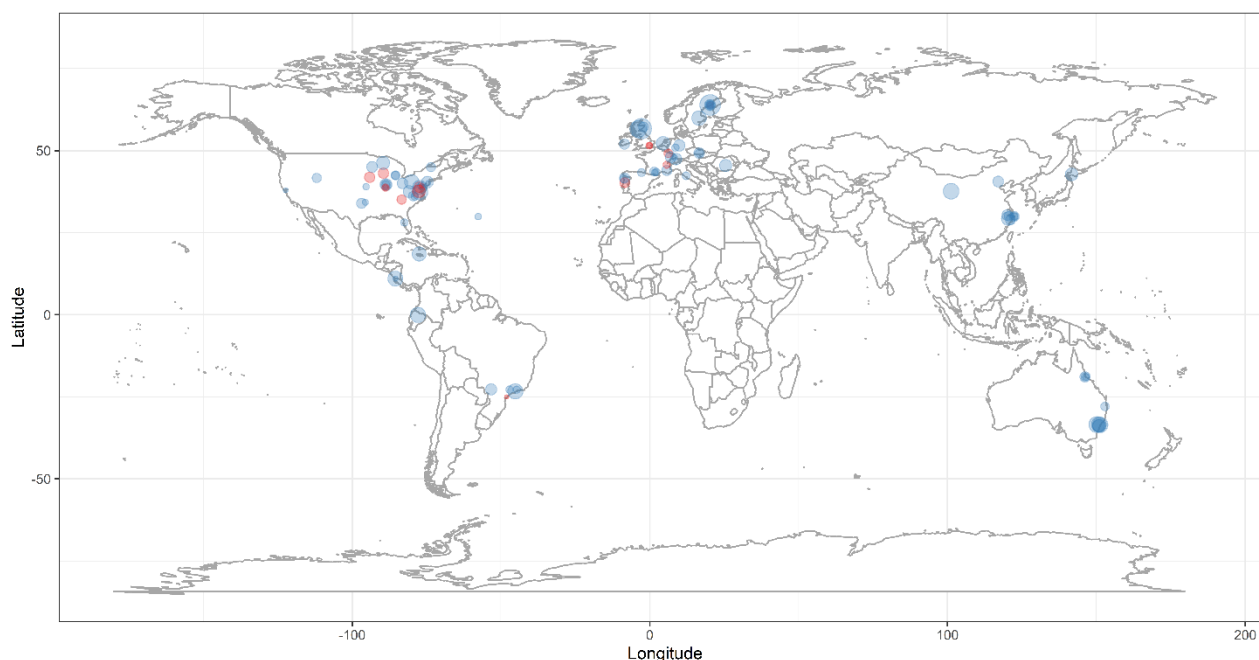


Figura 4 – Localização dos experimentos que testaram a relação entre biodiversidade e funcionamento dos ecossistemas aquáticos continentais. Os tamanhos dos pontos são proporcionais aos tamanhos de efeito médios para um mesmo estudo e/ou para diferentes experimentos realizados no mesmo local. Pontos vermelhos e azuis indicam relações negativas e positivas entre diversidade e funcionamento dos ecossistemas, respectivamente. Alguns estudos ($k = \text{????}$) não forneceram nenhuma informação a respeito do local de realização do experimento ou coleta dos dados biológicos, portanto, não foram localizados no mapa.

Grandes diferenças na quantidade de tamanho de efeito também foram observadas considerando o tempo de duração dos experimentos, o tamanho do grão experimental (Figuras 5b, c, d) e o número de espécies (Figura 6). O tempo de duração dos experimentos variou entre menos de 24 horas a 43 meses, com 45% ($N = 1727$) dos efeitos calculados em experimentos com tempo de duração de até 4 semanas. O grão experimental variou entre $0,002 \text{ m}^2$ (experimentos em laboratório) a 400 m^2 (experimentos realizados em pequenas lagoas), com cerca de 61,58% ($N = 2368$) dos tamanhos de efeito calculados em experimentos com até 1 m^2 de extensão espacial. Em relação a riqueza de espécies, o número máximo de espécies manipuladas foi igual a 1200 (bactérias), no entanto, aproximadamente 70,76% ($N = 2721$) dos tamanhos de efeito foram calculados com riqueza máxima de até 4 espécies.

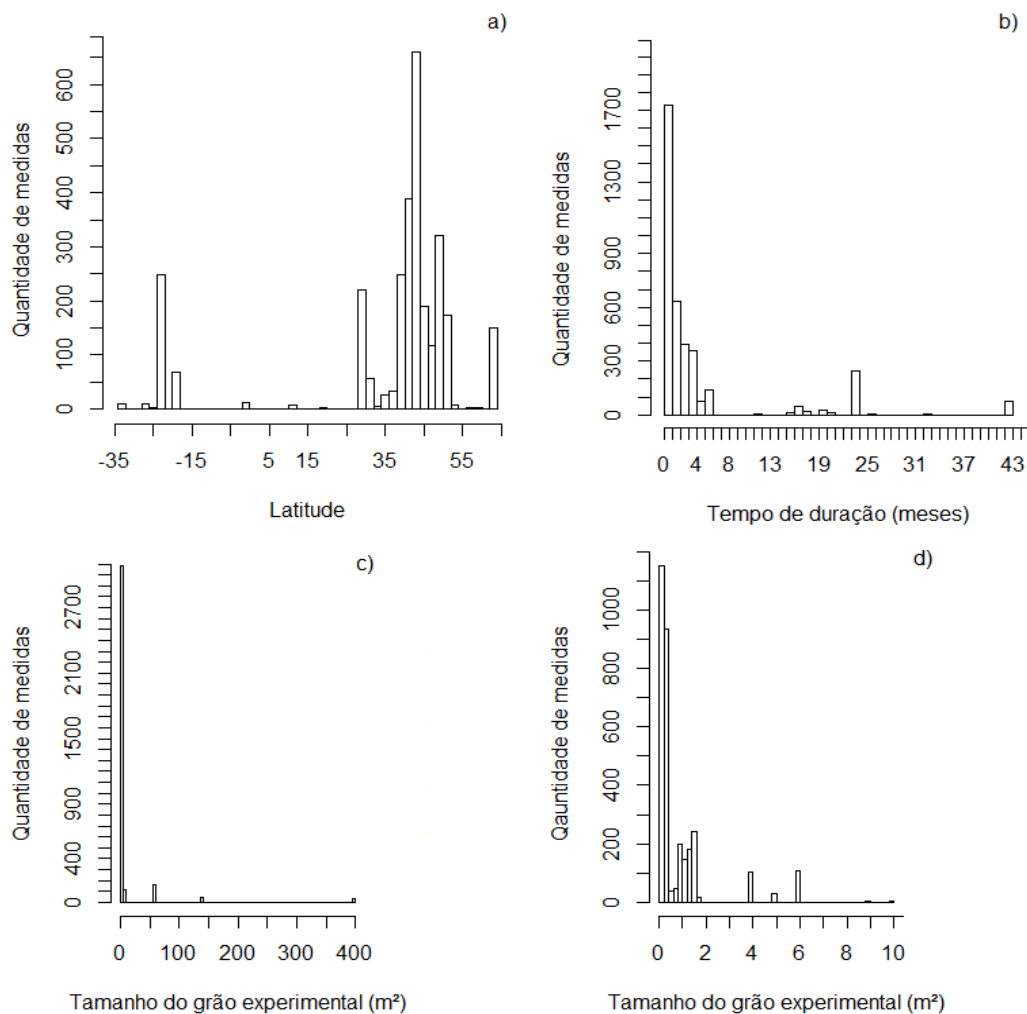
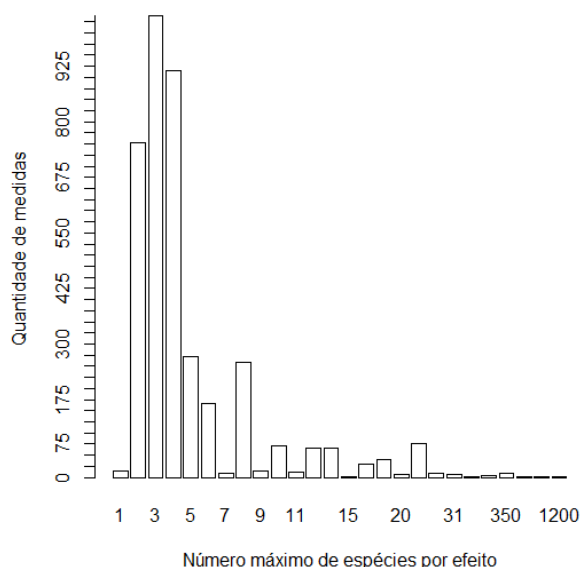


Figura 5 – Quantidade de medidas de tamanho de efeito calculados em função da (a) latitude, (b) tempo de duração dos experimentos e (c) tamanho do grão experimental na escala de 0 a 400 m^2 e (d) na escala de 0 a 10 m^2 em que se concentram 83,28% dos efeitos observados.



invertebrados) e plantas foram os grupos biológicos mais manipulados no gradiente de riqueza, enquanto protistas ciliados e microcrustáceos foram estudados em um menor número de experimentos (Tabela 2).

Grande variedade de métricas utilizadas para avaliar o funcionamento dos ecossistemas foram encontradas nos experimentos (Tabela 2). Algumas métricas poderiam se encaixar em mais de um tipo de função, nesses casos, a função categorizada para esta métrica sempre estava relacionado ao objetivo central do experimento. Se o objetivo de um experimento, por exemplo, era verificar o efeito da riqueza sobre a respiração, mesmo que a métrica se encaixasse para medir decomposição, o experimento foi classificado apenas para função de respiração. Da mesma forma, quando variáveis biológicas eram mensuradas para consumidores, mas o objetivo do experimento era verificar o efeito da riqueza no controle de pragas, o experimento foi categorizado apenas para esse serviço do ecossistema, mesmo que pudesse se encaixar em produtividade secundária também (Tabela 2).

Tabela 1 – Níveis de organização por tipo (biótico ou abiótico) e medidas utilizadas como variáveis respostas das funções/serviços ecossistêmicos.

Função/Serviço	Níveis de organização	Medidas
Produtividade primária	Produtor	Biomassa, biomassa abaixo do solo, clorofila- <i>a</i> , área de raiz, densidade, cobertura, equitabilidade, biovolume, biomassa algal, número de caules, taxa de acumulação algal, herbivoria, produção primária do ecossistema.
	Abiótico	Estoque de nitrogênio, Carbono, taxa de claridade, produção de oxigênio, carbono orgânico particulado, produtividade primária líquida, produtividade primária bruta.
Produtividade secundária	Consumidores, multitrófico	Riqueza, abundância, densidade, biomassa, biovolume, número de presas, massa média corporal, crescimento relativo, índice de Shannon, taxa de emergência.
Decomposição	Detritívoros (macroinvertebrados, fungos, bactérias, detrito foliar)	Perda de massa foliar, capacidade metabólica do detritívoro, taxa de decomposição, decomposição de celulose, remanescente de massa, eficiência no processamento foliar, taxa

		de biodegradação, taxa de consumo, taxa de esporulação, riqueza, biomassa, morfotipo de colônias, produção conidial, índice de Shannon, biomassa de micélio, número de fungos e bactérias, densidade de bactérias.
	Abiótico	Oxidação de xilose, diversidade metabólica, taxa de biodegradação de carbono orgânico dissolvido, sedimentação, número de fontes de carbono, produção de partículas, razão: nitrogênio/carbono, nitrogênio/fósforo, carbono/fósforo, quitinase, xilosidade, glucosidase, potencial de mineralização.
Ciclagem		
	Abiótico	Razão carbono/nitrogênio, potencial nitrificação, remoção de nitrogênio, estoque de nitrogênio, nitrogênio, fósforo, amônia, consumo de carbono, óxido nítrico, carbono dissolvido, remoção de nitrogênio, nitrato, nitrogênio particulado, fósforo total, substrato (derivados do nitrogênio), razão carbono/fósforo, eficiência no uso do recurso, filtração, perda de fósforo, número de partículas, potencial de desnitrificação, razão carbono/nitrogênio, produção de partícula.
Respiração		
	Abiótico	Fluxo de CO ₂ , respiração do ecossistema, respiração microbiana, respiração da comunidade, respiração, respiração da comunidade, utilização média de carboidratos, aminoácidos, aminas, ácido carboxílico, polímeros.
Controle ambiental		
	Abiótico	Acumulação ou concentração de NH ₄ , acumulação ou concentração de NO ₃ , acumulação ou concentração de TIN, fluxo de CH ₄ , concentração de carbono orgânico na água, concentração de carbono orgânico no substrato, potencial de desnitrificação, difusão, efluentes (NO ₃ , TIN, TOC), emissão de CH ₄ , N ₂ O, CO ₂ , pH, potencial redox, CH ₄ no sedimento, temperatura, fluxo de fósforo dissolvido.
Controle de pragas/doenças		
	Consumidor, multitrófico	Tamanho da ninhada, abundância do invasor, crescimento do invasor, densidade do invasor, sucesso de invasão, biomassa do invasor, biomassa do nativo.

Multifuncionalidade

Estabilidade	Multitrófico	Multifuncionalidade.
	Produtor, consumidor, decompositor, multitrófico	Abundância média, coeficiente de variação (clorofila- <i>a</i> , biovolume, biomassa, perda de massa, taxa de perda produção de esporos), média do coeficiente de variação, desvio padrão, estabilidade temporal, tempo de persistência, variação temporal.
	Abiótico	Coeficiente de variação de nitrogênio, coeficiente de variação de fósforo, desvio padrão de fluxo de CO ₂ .

Tabela 2 – Número de experimentos e número de tamanhos de efeito calculados para os diferentes níveis de subgrupos das variáveis categóricas.

Subgrupos	Nº de experimentos	Nº de efeitos calculados
Funções		
Decomposição	58	1599
Produtividade primária	52	1028
Produtividade secundária	26	410
Ciclagem de nutrientes	20	292
Respiração	13	119
Controle ambiental	12	118
Estabilidade	11	195
Controle de pragas	8	50
Multifuncionalidade	5	34
Nível de organização		
População	26	389
Comunidade	89	2561
Ecossistema	67	886
Métrica de diversidade		
Riqueza funcional	13	287
Diversidade funcional	1	12
Equitabilidade	10	145
Riqueza taxonômica	119	3400
Organismos manipulados		
Plantas	27	682
Algas	8	258
Detrito foliar	14	434
Vertebrados	9	324
Artrópodes	34	548

Moluscos	4	400
Microcrustáceos	6	53
Protistas ciliados	2	17
Bactérias	14	83
Fungos	14	761
Multitrófico	14	286

Análises de subgrupos e meta-regressão

As análises de subgrupos revelaram que os efeitos da biodiversidade sobre o funcionamento dos ecossistemas variaram de acordo com o tipo de função, nível de organização, medida de diversidade e grupos biológicos. A função “respiração” teve o maior tamanho de efeito, enquanto que o “controle ambiental” teve o menor tamanho de efeito (Figura 7). Por outro lado, controle de pragas e estabilidade não variaram em função da riqueza de espécies. Além disso, nós observamos uma variação na direção dos tamanhos de efeito tanto em relação aos níveis tróficos estudados quanto às variáveis abióticas mensuradas (Figura 7).

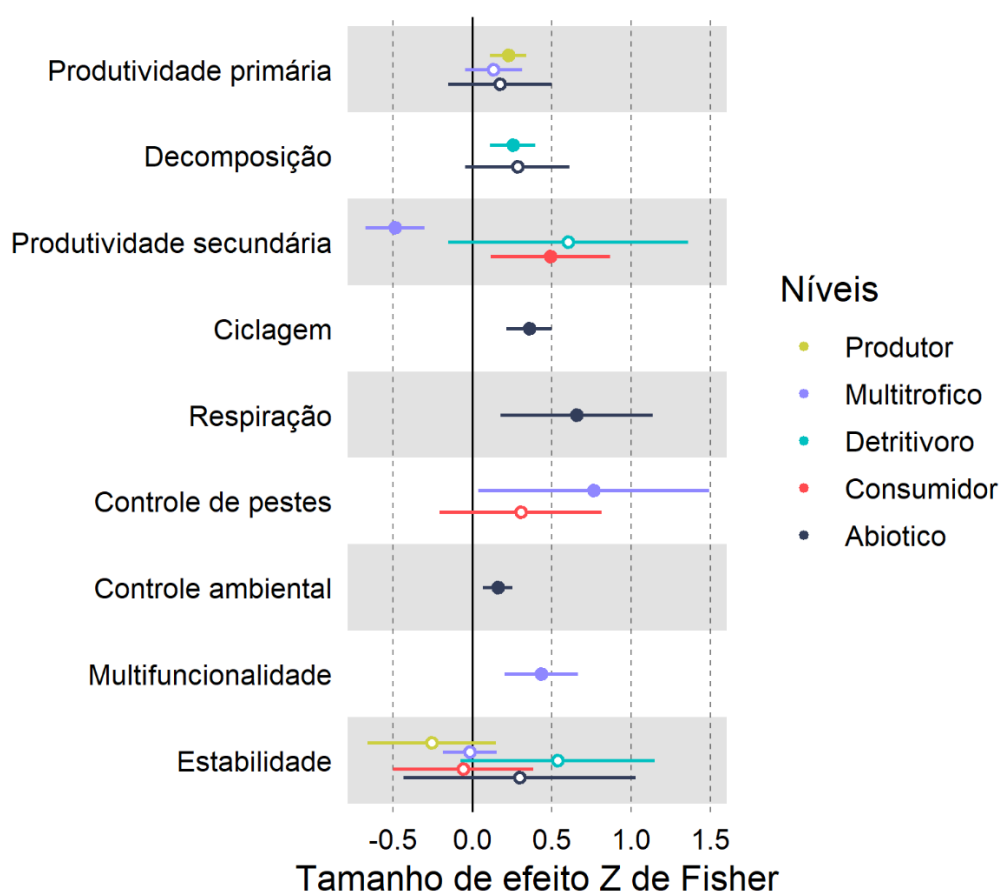


Figura 7 – Tamanhos de efeito médios para as diferentes funções ou serviços ecossistêmicos, para cada nível trófico ou variável abiótica mensurada nos experimentos. Diferentes cores mostram diferentes categorias dos níveis mensurados. Círculos preenchidos e vazios mostram resultados significativos e não significativos, respectivamente.

Para a função produtividade primária, o tamanho de efeito médio teve relação positiva e significativa quando a propriedade era obtida diretamente através dos produtores primários (z de Fisher = 0,224, se = 0,057, $IC_{95\%}$: 0,11 a 0,34, p = 0,0001) e sem efeito quando avaliada para os níveis multitrófico (z de Fisher = 0,132, se = 0,092, $IC_{95\%}$: -0,05 a 0,31, p = 0,1523) ou abiótico (z de Fisher = 0,172, se = 0,166, $IC_{95\%}$: -0,15 a 0,49, p = 0,2992). Para os detritívoros (fungos e bactérias) avaliados para decomposição, o tamanho de efeito médio foi positivo (z de Fisher = 0,253, se = 0,072, $IC_{95\%}$: 0,11 a 0,394, p = 0,0004), no entanto, o efeito da riqueza sobre a decomposição não foi significativo quando medidas abióticas foram utilizadas nos estudos primários (z de Fisher = 0,281, se = 0,168, $IC_{95\%}$: -0,04 a 0,61, p = 0,0938). Para produtividade secundária, o efeito da biodiversidade no funcionamento foi positivo quando a métrica era mesurada para consumidores (z de Fisher = 0,491, se = 0,192, $IC_{95\%}$: 0,11 a 0,86, p = 0,0106), sem efeito (z de Fisher = 0,60, se = 0,385, $IC_{95\%}$: -0,15 a 1,35, p = 0,1194) para detritívoros (macroinvertebrados), e negativo considerando mais de um nível trófico (z de Fisher = -0,497, se = 0,095, $IC_{95\%}$: -0,67 a -0,30, p = 0,0001).

Métricas que utilizaram variáveis abióticas para quantificar o funcionamento apresentaram efeitos positivos na relação da riqueza com ciclagem (z de Fisher = 0,356, se = 0,072, $IC_{95\%}$: 0,21 a 0,49, p = 0,0001), respiração (z de Fisher = 0,656, se = 0,244, $IC_{95\%}$: 0,17 a 1,13, p = 0,0072) e controle ambiental (z de Fisher = 0,158, se = 0,047, $IC_{95\%}$: 0,06 a 0,25, p = 0,0008). Medidas obtidas em mais de um nível trófico manipulado apresentaram efeito positivo da riqueza com multifuncionalidade (z de Fisher = 0,434, se = 0,118, $IC_{95\%}$: 0,20 a 0,66, p = 0,0002) e controle de pragas (z de Fisher = 0,764, se = 0,371, $IC_{95\%}$: 0,03 a 1,49, p = 0,0396). Para este último, a riqueza não foi capaz de prever controle de pragas quando mensurada apenas para um nível trófico de consumidor (z de Fisher = 0,303, se = 0,261, $IC_{95\%}$: -0,21 a 0,81, p = 0,2457). Por fim, riqueza não teve efeito com estabilidade de nenhum dos níveis obtidos nas variáveis respostas dos experimentos BEF (Figura 7).

Para os três níveis de organização do ecossistema foram encontrados efeitos positivos e significativos. O efeito da riqueza de espécies foi maior quando a função foi obtida em nível de

ecossistema (z de Fisher = 0,34, $IC_{95\%}$: 0,22 a 0,46, $p = 0,0001$) (Figura 8). O efeito médio para funções em nível populacional foi de 0,275 ($IC_{95\%}$: 0,10 a 0,45, $p = 0,0015$) e em nível de comunidade foi de 0,189 ($IC_{95\%}$: 0,11 a 0,27, $p < 0,001$).

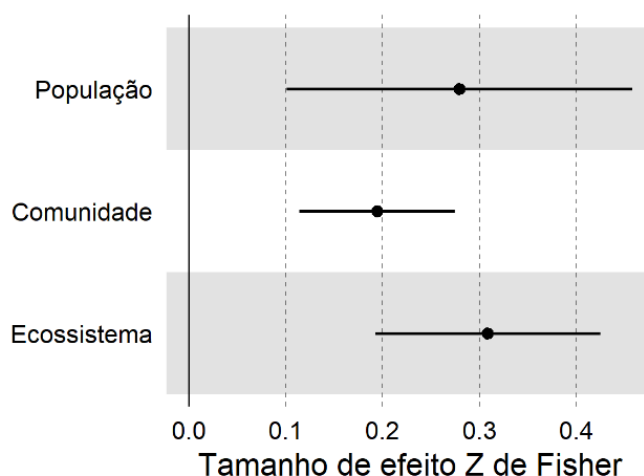


Figura 8 – Tamanho de efeito médio da relação biodiversidade e funcionamento dos ecossistemas para os diferentes níveis de organização do ecossistema nos quais as funções foram mensuradas.

Riqueza taxonômica foi a métrica de biodiversidade com maior efeito sobre o funcionamento dos ecossistemas (z de Fisher = 0,285, $IC_{95\%}$: 0,20 a 0,37, $p < 0,001$) (Figura 9). Outras métricas, utilizadas em menor frequência nos experimentos, apresentaram menores tamanhos de efeito, no entanto significativo, tais como o índice de diversidade funcional (z de Fisher = 0,134, $IC_{95\%}$: 0,03 a 0,23, $p = 0,0085$), riqueza funcional (z de Fisher = 0,187, $IC_{95\%}$: 0,013 a 0,36, $p = 0,034$) e equitabilidade (z de Fisher = 0,215, $IC_{95\%}$: 0,013 a 0,42, $p = 0,037$) (Figura 9).

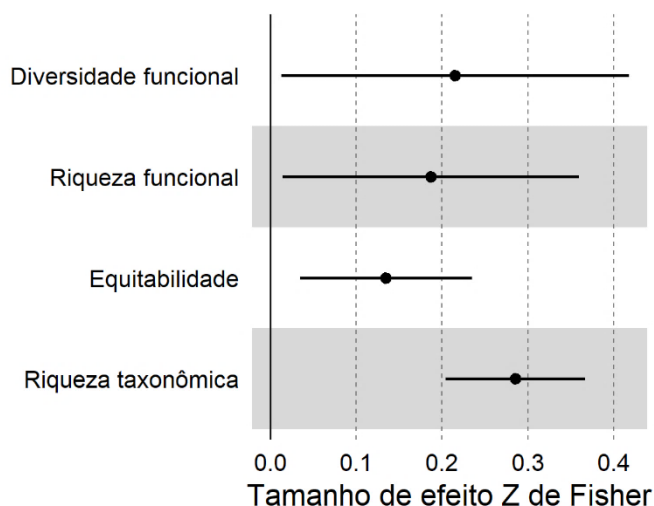


Figura 9 – Tamanho de efeito médio da relação riqueza e funcionamento dos ecossistemas considerando as métricas de diversidade encontrada nos experimentos.

Ao considerar os organismos, bactéria (z de Fisher = 0,71, $IC_{95\%}$: 0,32 a 1,10, $p = 0,0004$) foi o grupo biológico que mais se destacou no efeito da biodiversidade sobre o funcionamento dos ecossistemas (Figura 10). Por outro lado, microcrustáceos (z de Fisher = 0,049, $CI_{95\%}$: -0,11-0,21, $p = 0,55$), protistas (z de Fisher = 0,30, $IC_{95\%}$: -0,22 a 0,82, $p = 0,258$), fungos (z de Fisher = 0,2, $IC_{95\%}$: -0,23 a 0,47, $p = 0,50$) e grupos biológicos em mais de um nível trófico (z de Fisher = 0,307, $IC_{95\%}$: -0,06 a 0,68, $p = 0,107$) não apresentaram efeito sobre o funcionamento dos ecossistemas. Em ordem decrescente, além das bactérias, os organismos manipulados com maiores efeitos positivos e significativos foram os artrópodes (z de Fisher = 0,315, $IC_{95\%}$: 0,15 a 0,48, $p = 0,0002$), os moluscos (z de Fisher = 0,30, $IC_{95\%}$: 0,06 a 0,54, $p = 0,0151$), as algas (z de Fisher = 0,27, $IC_{95\%}$: 0,07 a 0,47, $p = 0,008$), os vertebrados (z de Fisher = 0,26, $IC_{95\%}$: 0,06-0,45, $p = 0,0091$), plantas (z de Fisher = 0,22, $IC_{95\%}$: 0,08-0,36, $p = 0,0014$) e detritos foliares (z de Fisher = 0,206, $IC_{95\%}$: 0,09 a 0,32, $p = 0,0003$).

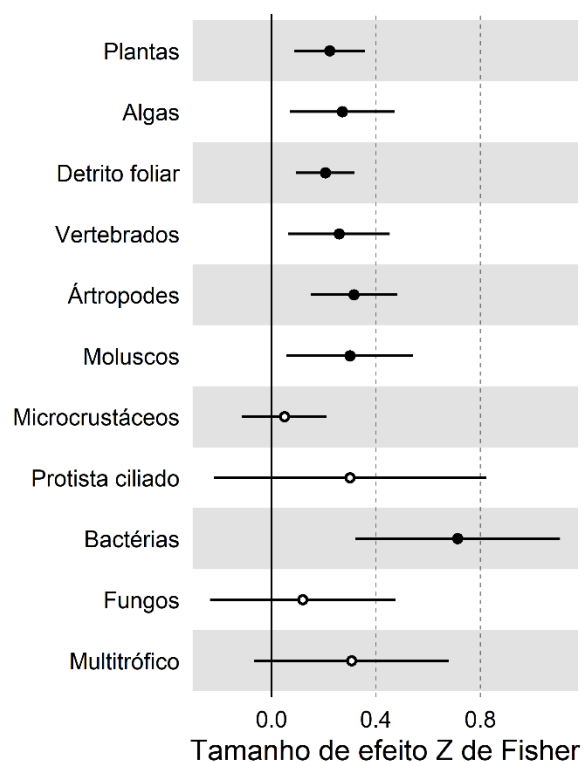


Figura 10 - Organismos biológicos manipulados nos gradientes de diversidade e respectivos tamanhos de efeito médios e intervalos de confiança. Linha vertical e círculos abertos indicam efeitos médios que não diferem significativamente de zero.

Foi possível observar que nos níveis mais baixos de riqueza, o efeito da biodiversidade de maneira geral foi menor quando comparado aos efeitos calculados por comunidades mais diversas, mais especificamente no gradiente de diversidade maior que 20 espécies manipuladas (Figura 11). Níveis de riqueza até duas espécies (z de Fisher = 0,176, IC_{95%}: 0,09 a 0,26, $p < 0,001$), três (z de Fisher = 0,22, IC_{95%}: 0,11 a 0,33, $p = 0,0001$), quatro (z de Fisher = 0,231, IC_{95%}: 0,11-0,34, $p = 0,0001$) e cinco ou seis (z de Fisher = 0,18, IC_{95%}: 0,08 a 0,27, $p = 0,0002$), apresentaram os menores efeitos sobre o funcionamento dos ecossistemas. Em geral, à medida que aumenta o número de espécies manipuladas nos níveis 9 ou 10 (z de Fisher = 0,28, IC_{95%}: 0,0007 a 0,56, $p = 0,049$), maior que 20 (z de Fisher = 0,576, IC_{95%}: 0,12 a 1,03, $p = 0,0123$) e maior que 60 (z de Fisher = 1,126, IC_{95%}: 0,80 a 1,45, $p = 0,0001$) é quando a biodiversidade apresenta maiores efeitos sobre o funcionamento dos ecossistemas.

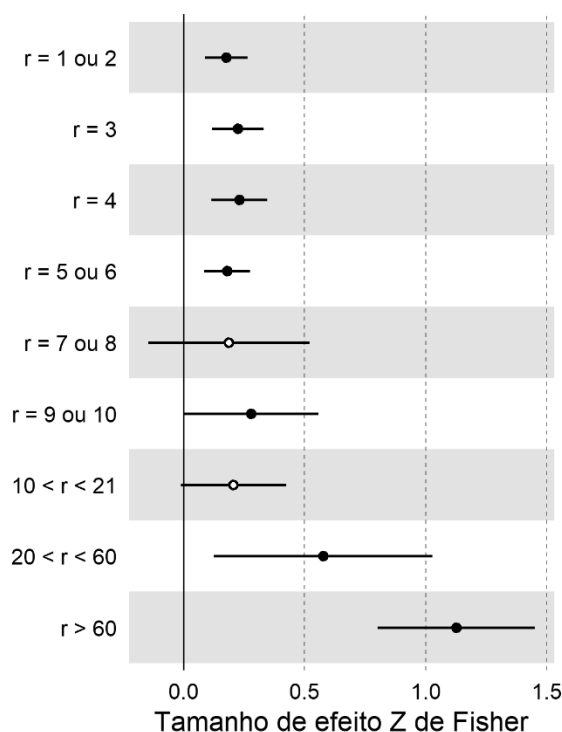


Figura 11 – Classes de riqueza de espécies cujos tamanhos de efeito foram calculados. As classes foram categorizadas de acordo com a frequência em que foram manipuladas nos experimentos (ver Figura 6).

Ao avaliar os efeitos com os moderadores quantitativos, o número de espécies, de fato explicou positiva e significativamente o efeito da biodiversidade sobre o funcionamento dos ecossistemas (Tabela 3).

Tabela 3 – Parâmetros do modelo da meta-análise e do modelo de meta-regressão com todas as variáveis testadas simultaneamente. Valores em negrito indicam tamanho de efeito médio e variáveis preditoras com efeitos significativos na relação biodiversidade e funcionamento dos ecossistemas.

Parâmetro	estimativa	se	z	IC _{95% mínimo}	IC _{95% máximo}	p
Efeito acumulado	0,2671	0,0374	7,1492	0,1939	0,3403	<0,001
<i>Modelo de meta-regressão</i>						
Intercepto	0,1090	0,0569	1,9162	-0,0025	0,2204	0,0553
Grão espacial	0,0078	0,0164	0,4731	-0,0244	0,0400	0,6362
Tempo	-0,0038	0,0018	5,3137	0,0062	0,0134	<0,001
Número de espécies	0,0098	0,0018	5,2773	0,0061	0,0133	<0,001

Em geral, com o aumento no tempo de duração dos experimentos o efeito da biodiversidade no funcionamento dos ecossistemas diminuiu. Nos modelos de meta-regressão quando se considera as funções separadamente, a riqueza de espécies manipuladas foi o único moderador com explicação sobre as funções, excetuando, ciclagem, controle de pragas, estabilidade e multifuncionalidade, em que não apresentaram nenhum efeito positivo para os moderadores quantitativos. Por outro lado, considerando a função de respiração, apesar do efeito médio da diversidade sobre essa função ter sido positivo, o número de espécies manipuladas em geral diminuiu o tamanho de efeito para essa função (Tabela 4).

Tabela 4 – Parâmetros da meta-análise para efeitos médios e dos modelos de meta-regressão considerando as funções separadamente. Valores em negrito indicam tamanho de efeito médio e variáveis preditoras com efeitos significativos na relação biodiversidade e funcionamento dos ecossistemas.

Parâmetro	estimativa	se	z	IC _{95% mínimo}	IC _{95% máximo}	p
Decomposição	0,267	0,0664	4,0184	0,1367	0,3970	< 0,001
<i>Intercepto</i>	0,1625	0,1341	1.2115	-0,1004	0,4254	0,2257
Grão espacial	0,0382	0,0375	1.0207	-0,0352	0,1117	0,3074

Tempo	-0,0977	0,0902	-1.0832	-0,2746	0,0791	0,2787
Número de espécies	0,0083	0,0042	2,0065	0,0002	0,0165	0,0448
Produtividade primária	0,2126	0,0556	3,8253	0,1037	0,3216	0,0001
<i>Intercepto</i>	0,0539	0,1015	0,5308	-0,1451	0,2529	0,5956
Grão espacial	0,0202	0,0330	0,6125	-0,0445	0,0849	0,5402
Tempo	-0,0372	0,0440	-0,8464	-0,1234	0,0489	0,3973
Número de espécies	0,0136	0,0032	4,1879	0,0072	0,0199	<0,001
Produtividade secundária	0,4353	0,1467	2,9677	0,1478	0,7228	0,0030
<i>Intercepto</i>	-0,1451	0,1731	-0,8381	-0,4844	0,1942	0,4020
Grão espacial	-0,0521	0,0496	-1.0493	-0,1493	0,0452	0,2940
Tempo	0,0032	0,1230	0,0262	-0,2379	0,2443	0,9791
Número de espécies	0,0220	0,0062	3.5160	0,0097	0,0342	0,0004
Ciclagem	0,3565	0,0724	4,9272	0,2147	0,4984	<0,001
<i>Intercepto</i>	0,2447	0,1408	1.7377	-0,0313	0,5208	0,0823
Grão espacial	-0,0247	0,0430	-0,5741	-0,1089	0,0595	0,5659
Tempo	0,0014	0,0646	0,0222	-0,1253	0,1281	0,9823
Número de espécies	0,0067	0,0047	1.4312	-0,0025	0,0159	0,1524
Respiração	0,6566	0,2442	2,6890	0,1780	1,1351	0,0072
<i>Intercepto</i>	0,2781	0,3266	0,8513	-0,3621	0,9182	0,3946
Grão espacial	0,0321	0,0769	0,4175	-0,1186	0,1827	0,6763
Tempo	-0,0724	0,2787	-0,2597	-0,6186	0,4738	0,7951
Número de espécies	-0,0132	0,0061	-2,1687	-0,0250	-0,0013	0,0301
Controle de pragas	0,3495	0,2337	1,4959	-0,1084	0,8075	0,1347
<i>Intercepto</i>	0,2389	0,2693	0,8873	-0,2889	0,7668	0,3749
Grão espacial	-0,0697	0,0907	-0,7689	-0,2474	0,1080	0,4420
Tempo	-0,1834	0,2839	-0,6461	-0,7398	0,3730	0,5182
Número de espécies	0,0176	0,0118	1,4872	-0,0056	0,0408	0,1370
Controle ambiental	0,1579	0,0470	3,3611	0,0658	0,2499	0,0008
<i>Intercepto</i>	-0,3974	0,2182	-1,8210	-0,8252	0,0303	0,0686
Grão espacial	-0,0316	0,0850	-0,3714	-0,1981	0,1350	0,7104
Tempo	0,0627	0,0587	1,0681	-0,0524	0,1778	0,2855
Número de espécies	0,0240	0,0082	2,9207	0,0079	0,0401	0,0035
Multifuncionalidade	0,3485	0,1467	2.3755	0,0610	0,6361	0,0175
<i>Intercepto</i>	0,2064	0,3298	0,6260	-0,4399	0,8528	0,5313
Grão espacial	0,1044	0,2618	0,3988	-0,4087	0,6175	0,6900
Tempo	-0,0968	0,1492	-0,6486	-0,3893	0,1957	0,5166
Número de espécies	0,0088	0,0095	0,9224	-0,0099	0,0274	0,3563

Estabilidade	0,3215	0,1736	1.8524	-0,0187	0,6617	0,0640
<i>Intercepto</i>	0,1296	0,3112	0,4164	-0,4804	0,7395	0,6771
Grão espacial	-0,0951	0,1154	-0,8247	-0,3213	0,1310	0,4095
Tempo	-0,1738	0,4602	-0,3777	-1.0758	0,7281	0,7056
Número de espécies	0,0050	0,0074	0,6862	-0,0094	0,0195	0,4926

Viés de publicação e meta-análise cumulativa

Por meio da análise *fail-safe-number* (método de Orwin) foi detectado que os resultados são robustos e que seria necessário o acréscimo de 121 estudos na meta-análise para tornar o tamanho de efeito médio menor (tamanho de efeito alvo = 0,13) que o observado (0,27). Pela análise de regressão modificada de Egger, foi encontrado um valor de intercepto significativo ($e = 0,1123$, $p = 0,0061$) e, portanto, o viés de publicação está presente nos resultados da meta-análise. Através da análise de *trim-and-fill*, o verdadeiro centro do *funnel plot* estimado para o ajuste foi de média -0,1174 (IC_{95%}: -0,144 a -0,091, $p < 0,0001$). Além disso, não seria necessária a adição de nenhum novo estudo na meta-análise, mas os valores menos precisos seriam adicionados ao lado direito do *funnel plot* para corrigir a assimetria. A meta-análise cumulativa mostrou que o tamanho de efeito médio tende a ser menor, mais preciso e se estabiliza com o passar do tempo, ou seja, há uma menor variação no tamanho do efeito médio nos anos mais recentes quando comparado aos anos iniciais (Figura 12).

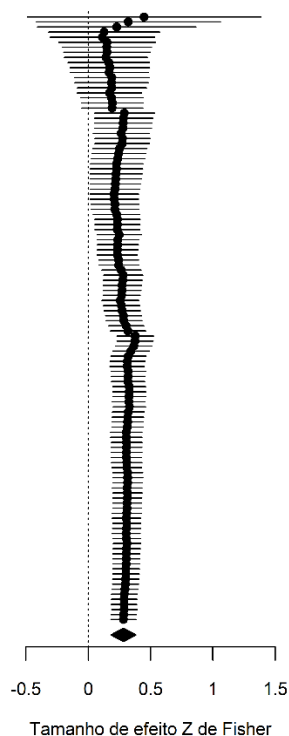


Figura 12 – Tamanho de efeitos médios acumulados temporalmente e respectivos intervalos de confiança dos estudos que testaram experimentalmente os efeitos da biodiversidade sobre o funcionamento dos ecossistemas aquáticos continentais. A linha vertical tracejada indica efeitos médios que não diferem de zero. O diamante na base corresponde ao tamanho de efeito médio acumulado total, e suas extremidades corresponde ao intervalo de confiança. Os efeitos médios foram calculados cumulativamente dos estudos mais antigos (topo do gráfico) até o mais recente (base do gráfico).

Discussão

Nossos resultados revelaram efeito positivo da biodiversidade sobre o funcionamento dos ecossistemas (BEF) nas manipulações experimentais testadas em ambientes aquáticos continentais. Outros trabalhos também encontraram o efeito positivo da biodiversidade sobre diversos tipos de funções ou serviços ecossistêmicos e em diversos tipos de habitat (Balvanera et al., 2006; Cardinale et al., 2006; Schmid et al., 2009; Quijas et al., 2010), contribuindo para a generalidade da relação BEF e ao mesmo tempo informando que as manipulações experimentais, em geral, são úteis em tratar questões globais, como os efeitos da perda de espécies para os ecossistemas (Benton et al., 2007).

Embora detectada uma relação global positiva, foi observada grande amplitude nos tamanhos de efeito que variam de efeitos negativos, nulos, a efeitos positivos. Essas observações quando combinadas contribuíram com a diminuição do tamanho de efeito médio e com a alta heterogeneidade encontrada na meta-análise. Quando comparado a ecossistemas terrestres, o efeito da biodiversidade sobre o funcionamento dos ecossistemas é menor em ecossistemas de água doce (Cardinale et al., 2006). Quanto à heterogeneidade, em ecologia é esperado que seja comum a grande variabilidade nos tamanhos de efeito devido às diferenças de ecossistemas, organismos, tempo, espaço e variações ambientais, sendo assim, possível distinguir diferentes tipos de replicações sobre um determinado tema (Parker and Nakagawa 2015). Em alguns experimentos, por exemplo, nós observamos a manipulação de riqueza de espécies, diferentes condições ambientais controladas influenciando direta ou indiretamente no efeito da biodiversidade e no funcionamento dos ecossistemas. Essas questões não foram diretamente abordadas neste estudo, porém, Baert et al. (2018) têm encontrado que a forma da relação BEF pode ser contexto-dependente, variando desde fatores ambientais controlando a diversidade de espécies às características biológicas dos organismos manipulados no gradiente de diversidade. No trabalho de Sutton-Grier et al. (2011), o efeito positivo ou negativo da diversidade funcional de plantas em planícies, sobre potencial de desnitrificação variou de acordo com um gradiente ambiental da disponibilidade de recursos presentes no solo. Portanto, diferentes direções da relação BEF podem ser encontradas dependendo do contexto da manipulação experimental.

Dentre os moderadores testados, o tempo de duração dos experimentos foi negativamente relacionado com o tamanho de efeito. Esse resultado contrasta com aquele obtido por Cardinale et al. (2006) uma vez que esses autores encontraram uma relação positiva entre tamanho de efeito e duração do experimentos. Alguns experimentos em que os tamanhos de efeito são mensurados ao longo do tempo revelaram uma variação temporal não linear da relação biodiversidade e funcionamento dos ecossistemas e, ocasionalmente, o último período de coleta de quantificação dos resultados apresentaram efeitos menores quando comparados a intervalos temporais intermediários. No experimento de Pendleton et al. (2014), por exemplo, o efeito de predação intraguilda, entre espécies de peixes, aumentou os valores de propriedades do ecossistema no início do experimento, enquanto que, ao longo do tempo houve a redução nesse efeito.

Predominantemente, experimentos que testaram o efeito da biodiversidade sobre o funcionamento dos ecossistemas aquáticos continentais foram realizados em unidades

experimentais menores que 10 m². De forma geral, pequenas escalas espaciais experimentais são suficientes para encontrar uma relação positiva entre biodiversidade e o funcionamento do ecossistema, principalmente considerando os sistemas experimentais com condições mais controladas, geralmente microcosmos (Balvanera et al., 2006). Em ambientes terrestres, a relação BEF, frequentemente, é testada experimentalmente em parcelas menores que 400 m² (Vellend et al. 2013). Nenhuma relação foi encontrada entre tamanho de efeito e tamanho do grão experimental, embora exista, com o aumento da escala espacial, uma tendência de diminuição do efeito da riqueza sobre algumas funções, como produtividade secundária e ciclagem de nutrientes, e serviços ecossistêmicos, como controle de pragas e controle ambiental.

Além disso, as manipulações experimentais em escalas menores são mais frequentes tendo em vista a praticidade, o menor custo e a possibilidade de manipular um maior número de réplicas. Escalas espaciais mais finas abrangem as relações interespecíficas entre as espécies e, portanto, maior efeito sobre o funcionamento dos ecossistemas pode ser detectado, ao passo que em escalas maiores, devido a heterogeneidade ambiental, espera-se uma relação BEF mais fraca (Hooper et al., 2001). Considerando, ainda, que os experimentos BEF em ambientes aquáticos são, frequentemente, realizados com um pequeno número de espécies (Cardinale et al. 2006), não há a necessidade de aumentar a escala espacial. Os menores tamanhos de efeito encontrados no presente estudo também podem ser explicados pelas relações não lineares em relação ao tamanho do grão experimental, o que é característico de estudos em pequenas escalas. Assim, o efeito pode ser enfraquecido, na meta-regressão de natureza linear. Por exemplo, é esperado, na maioria das vezes, uma relação em forma de sino na relação biodiversidade e produtividade primária em pequenas escalas, enquanto que nas maiores escalas é esperada uma relação linear e positiva (Waide et al. 1999). Nesse último caso, não foi possível efetivamente testar para maiores escalas espaciais o efeito BEF porque, apenas, uma pequena parte dos efeitos foi encontrada para maiores escalas espaciais, o que explica também a falta de relação BEF com maior tamanho do grão experimental.

O número de espécies manipuladas foi o melhor preditor da relação BEF geral e para as diferentes funções e serviços ecossistêmicos avaliados nos experimentos. Quando testado separadamente para as funções ecossistêmicas, por exemplo, o efeito da riqueza de espécies, teve efeito negativo sobre a respiração do ecossistema, embora o efeito médio global tenha sido positivo e significativo. É importante ressaltar que os experimentos que testaram a relação BEF em ambientes aquáticos continentais, frequentemente, manipularam um pequeno número de espécies,

enquanto que em ecossistemas terrestres, em média o número de espécies manipuladas é o dobro (Cardinale et al., 2006). Na presente análise, a maior parte dos estudos avaliou um número máximo de até três espécies, o que, provavelmente, contribuiu para grande quantidade de efeitos não significativos ou negativos. A manipulação de um maior número de espécies pode aumentar as chances em detectar o efeito BEF (Balvanera et al., 2006). Assim, considerando o efeito médio calculado para as diferentes classes de riqueza, o maior tamanho de efeito foi estimado quando a manipulação do gradiente de diversidade foi maior que 20 espécies. Além disso, como relatados por alguns autores, a identidade ou composição de espécies nos experimentos BEF muitas vezes são mais importantes em predizer o funcionamento do que a riqueza de espécies *per se* (Dawud et al. 2016, Setiawan et al. 2016). A meta-análise realizada por Cardinale e colaboradores (2006), demonstrou que a identidade das espécies foi o fator determinante na magnitude do efeito BEF. Além disso, se as espécies manipuladas são redundantes em termos de sua função no ecossistema a relação da riqueza com o funcionamento dos ecossistemas pode não ser linear (Loreau et al. 2001, 2003).

O baixo número de espécies nos experimentos BEF em ambientes aquáticos continentais (média = 6,4 espécies), em geral, não foi relevante para detectar grande magnitude no efeito. Embora, para outros ecossistemas, aumentar consideravelmente o número de espécies na manipulação experimental não aumenta o efeito sobre o funcionamento dos ecossistemas (Loreau et al., 2001), para ambientes aquáticos, essa afirmação parece não ser válida. Em locais onde a redundância funcional mantém a funcionalidade do ecossistema sob flutuações ambientais (Yachi and Loreau 1999), testar a relação BEF só será plausível em condições com altos níveis de riqueza de espécies. Se isso é ignorado, os reais efeitos poderão ser subestimados.

Quando analisados os efeitos para os níveis de organização na qual a variável da função ecossistêmica é mensurada, o efeito da biodiversidade foi maior quando analisado o nível ecossistema, comparando com comunidades ou populações, porém todos foram com efeitos positivos. Em contraste com Balvanera et al. (2006), o maior efeito da biodiversidade foi obtido quando a métrica de funcionamento foi mensurada em nível de comunidade, enquanto que o efeito da biodiversidade foi negativo quando analisou-se o nível populacional. Ao analisar separadamente apenas para ecossistemas aquáticos, os padrões do efeito BEF são diferentes daqueles encontrados quando se calcula o tamanho de efeito nas diferentes escalas de organização biológicas das funções não distinguindo os ecossistemas terrestres e aquáticos.

Esses resultados contrastantes podem estar relacionados, por exemplo, aos tipos de métricas utilizadas para quantificar as funções ecossistêmicas. Aqui, encontramos uma grande variedade de métricas para quantificar uma mesma função. Algumas métricas podem se mostrar com eficiência intermediária ou podem ser inapropriadas para prever o efeito da biodiversidade, visto que as medidas podem ter ligações diretas ou indiretas com as funções (Duncan et al. 2015). Métricas abióticas usadas para quantificar a produtividade primária ou decomposição, em geral, foram menos eficientes do que considerar medidas biológicas diretas dos produtores primários e dos detritívoros, respectivamente. Por outro lado, métricas exclusivamente abióticas foram mais importantes para detectar o efeito da biodiversidade sobre ciclagem de nutrientes, respiração e controle ambiental. Ressalta-se ainda que é necessário ter cautela ao explicar e comparar diferentes resultados para evitar interpretações errôneas, tendo em vista o uso de métricas em diferentes funções ecossistêmicas, por exemplo, a variável oxigênio dissolvido, pode ser utilizada como métrica para a função decomposição, ciclagem de nutrientes e respiração, assim como para indicar a produtividade primária de um local.

A relação BEF mostrou variação tanto na direção quanto na magnitude, dependendo do nível trófico no qual a função era obtida e se as medidas eram biológicas ou abióticas. Propriedades do ecossistema avaliadas em mais de um nível trófico, por exemplo, mostraram relação positiva, negativa ou sem efeito com a riqueza de espécies de acordo com a função mensurada. O fluxo de matéria e energia entre os níveis tróficos pode aumentar ou diminuir, dependendo da quantidade e dos grupos funcionais (produtor, consumidor, predador ou detritívoro) manipulados no experimento. E ainda, diferentemente do que prediz a relação, os ecossistemas avaliados não apresentaram menor variabilidade ambiental (maior estabilidade) quando avaliada em sistemas multitróficos. No entanto, a direção do efeito da biodiversidade sobre a estabilidade do ecossistema pode depender também do nível de organização biológica, onde se espera efeito positivo em nível de comunidade e efeito negativo em nível de população (Tilman 1999).

Com relação às métricas de biodiversidade, a riqueza taxonômica predominou na relação BEF tanto em quantidade quanto em magnitude. Embora com maior poder preditivo, críticas em relação a esta métrica também tem ganhado destaque dentro dos debates dos estudos BEF. A principal delas retrata que os efeitos mensurados a partir, somente, da riqueza de espécies podem ser obscurecidos por não refletir na contribuição para os serviços ecossistêmicos a partir dos traços, abundância, composição dentre outros parâmetros de diversidade biológica (Hooper et al. 2005).

Diversas manipulações experimentais contrariam o efeito da riqueza de espécies sobre o funcionamento dos ecossistemas (Chen et al. 2017a, 2017b, Dormann et al. 2017). Da mesma forma, os efeitos da biodiversidade no funcionamento dos ecossistemas podem estar subestimados quando se considera riqueza ou diversidade funcional, devido a pequena quantidade de estudos que consideraram diversidade funcional como métrica de biodiversidade.

Em contraste com os estudos realizados em ecossistemas terrestres, onde predominam os experimentos que avaliam a produtividade primária, principalmente, de gramíneas (Hooper et al., 2012; Balvanera et al. 2006), nos ecossistemas aquáticos continentais, a função ecossistêmica mais avaliada é a decomposição, através da manipulação dos organismos detritívoros. Tais resultados demonstram que é possível fazer alguma generalização sobre a relação BEF, no entanto, dependendo do tipo de ecossistema estudado, organismos e variáveis mensuradas, diferentes processos podem levar a resultados mais específicos de determinado ambiente.

Viés de publicação

Embora detectado um viés de publicação pela regressão de Eger, através da análise *trim-and-fill*, a adição de novos estudos é dispensável na meta-análise para ajustar os tamanhos de efeito. Além disso, uma grande quantidade de estudos seria necessária para tornar o tamanho de efeito médio menos preciso.

Foi possível identificar outros tipos de vieses, não necessariamente relacionados a quantidade de resultados positivos publicados. A maioria dos estudos foi conduzida em ambiente de clima temperado. Sabe-se que as variáveis climáticas, como temperatura e precipitação, interferem no tamanho do efeito da biodiversidade sobre o funcionamento dos ecossistemas. Mais uma vez, extrapolações dos padrões da relação BEF, podem ser falhos, considerando que diferentes processos distribuem a diversidade ao longo do espaço (Burley et al. 2016). Espera-se, por exemplo, que as relações BEF sejam mais fortes em regiões tropicais, comparando os ecossistemas de clima temperado, tendo em vista a maior heterogeneidade ambiental e, conseqüentemente, maior disponibilidade de recursos nas regiões tropicais, permitindo a coexistência de um maior número de espécies funcionalmente diferentes (Hodapp et al. 2016). Outra lacuna identificada está relacionada ao viés taxonômico, ou seja, muitos experimentos avaliando o papel dos detritívoros nas taxas de decomposição, em curtas escalas temporais e espaciais.

Assim, é de extrema importância considerar maiores escalas espaciais e maior número de funções no ecossistema (multifuncionalidade) na compreensão do efeito da biodiversidade sobre o funcionamento dos ecossistemas, considerando, por exemplo, que o manejo e conservação de espécies ocorrem em maiores escalas espaciais (Pasari et al. 2013). Nesse sentido, vale considerar, também, as diferentes métricas de biodiversidade, como diversidade beta e gama, que tem se mostrado eficientes em prever a multifuncionalidade dos ecossistemas em maior abrangência espacial (Pasari et al., 2013).

Referências

- Allan, E., W. W. Weisser, M. Fischer, E. S. Alexandra, C. Roscher, J. Baade, R. L. Barnard, H. Beßler, N. Buchmann, A. Ebeling, N. Eisenhauer, C. Engels, A. J. F. Fergus, G. Gleixner, M. Gubsch, S. Halle, S. T. Klein, V. D. Migunova, A. Milcu, P. A. Niklaus, Y. Oelmann, E. Pasalic, J. S. Pertermann, F. Poly, T. Rottstock, A. C. W. Sabais, C. Scherber, M. Scherer-Lorenzen, S. Scheu, S. Steinbeiss, G. Schwichtenberg, V. Temperton, T. Tschardt, W. Voigt, W. Wilcke, C. Wirth, and B. Schmid. 2013. A comparison of the strength of biodiversity effects across multiple functions. *Oecologia* 173:223–237.
- Baert, J. M., N. Eisenhauer, C. R. Janssen, and F. De Laender. 2018. Biodiversity effects on ecosystem functioning respond unimodally to environmental stress. *Ecology Letters* 21:1191–1199.
- Balvanera, P., A. B. Pfisterer, N. Buchmann, J. S. He, T. Nakashizuka, D. Raffaelli, and B. Schmid. 2006. Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and services. *Ecology Letters* 9:1146–1156.
- Burley, H. M., K. Mokany, S. Ferrier, S. W. Laffan, K. J. Williams, and T. D. Harwood. 2016. Macroecological scale effects of biodiversity on ecosystem functions under environmental change. *Ecology and Evolution* 6:2579–2593.
- Cardinale, B. J., J. E. Duffy, A. Gonzalez, D. U. Hooper, C. Perrings, P. Venail, A. Narwani, G. M. MacE, D. Tilman, D. A. Wardle, A. P. Kinzig, G. C. Daily, M. Loreau, J. B. Grace, A. Larigauderie, D. S. Srivastava, and S. Naeem. 2012. Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature* 486:59–67.
- Cardinale, B. J., D. S. Srivastava, J. E. Duffy, J. P. Wright, A. L. Downing, M. Sankaran, and C.

- Jouseau. 2006. Effects of biodiversity on the functioning of trophic groups and ecosystems. *Nature* 443:989–992.
- Chen, H., L. Mommer, J. van Ruijven, H. de Kroon, C. Fischer, A. Gessler, A. Hildebrandt, M. Scherer-Lorenzen, C. Wirth, and A. Weigelt. 2017a. Plant species richness negatively affects root decomposition in grasslands. *Journal of Ecology* 105:209–218.
- Chen, H., N. J. Oram, K. E. Barry, L. Mommer, J. van Ruijven, H. de Kroon, A. Ebeling, N. Eisenhauer, C. Fischer, G. Gleixner, A. Gessler, O. González Macé, N. Hacker, A. Hildebrandt, M. Lange, M. Scherer-Lorenzen, S. Scheu, Y. Oelmann, C. Wagg, W. Wilcke, C. Wirth, and A. Weigelt. 2017b. Root chemistry and soil fauna, but not soil abiotic conditions explain the effects of plant diversity on root decomposition. *Oecologia* 185:499–511.
- Chesson, P. L. 2000. Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31:343–366.
- Dawud, S. M., K. Raulund-Rasmussen, T. Domisch, L. Finér, B. Jaroszewicz, and L. Vesterdal. 2016. Is Tree Species Diversity or Species Identity the More Important Driver of Soil Carbon Stocks, C/N Ratio, and pH? *Ecosystems* 19:645–660.
- Dormann, C. F., L. von Riedmatten, and M. Scherer-Lorenzen. 2017. No consistent effect of plant species richness on resistance to simulated climate change for above- or below-ground processes in managed grasslands. *BMC Ecology* 17:1–12.
- Duncan, C., J. R. Thompson, and N. Pettorelli. 2015. The quest for a mechanistic understanding of biodiversity – ecosystem services relationships. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 282:1–10.
- Duval, S., and R. Tweedie. 2000. Trim and fill: a simple funnel-plot-based method of testing and adjusting for publication bias in meta-analysis. *Biometrics* 56:455–463.
- Dzialowski, A. R. 2010. Experimental effect of consumer identity on the invasion success of a non-native cladoceran. *Hydrobiologia* 652:139–148.
- Egger, M., G. Smith, S. M., and M. C. 1997. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *Br Med J* 315:629–634.
- Elmqvist, T., C. Folke, M. Nystrom, G. Peterson, J. Bengtsson, B. Walker, and J. Norberg. 2003. Response diversity, ecosystem change, and resilience. *Frontiers in Ecology and the Environment* 1:488–494.

- Fox, W., C. Rixen, J. Van Ruijven, P. B. Reich, M. Scherer-lorenzen, B. J. Wilsey, B. J. Cardinale, K. Gross, K. Fritschie, P. Flombaum, J. W. Fox, C. Rixen, J. Van Ruijven, P. B. Reich, M. Scherer-lorenzen, and B. J. Wilsey. 2017. Biodiversity simultaneously enhances the production and stability of community biomass , but the effects are independent Author (s): Bradley J . Cardinale , Kevin Gross , Keith Fritschie , Pedro Flombaum , Jeremy Published by : Wiley on behalf of the Ec. Wiley:1–5.
- Gamfeldt, L., J. S. Lefcheck, J. E. K. Byrnes, B. J. Cardinale, J. E. Duffy, and J. N. Griffin. 2015. Marine biodiversity and ecosystem functioning: What’s known and what’s next? *Oikos* 124:252–265.
- Gleser, L. I., and I. Olkin. 2009. “Stochastically Dependent Effect Sizes.” Page The Handbook of Research Synthesis and Meta-Analysis.
- Grime, J. P. 1997. Biodiversity and Ecosystem Function: The Debate Deepens. *Science* 277:1260–1261.
- Hodapp, D., H. Hillebrand, B. Blasius, and A. B. Ryabov. 2016. Environmental and trait variability constrain community structure and the biodiversity-productivity relationship. *Ecology* 97:1463–1474.
- Hooper, D. U., E. C. Adair, B. J. Cardinale, J. E. K. Byrnes, B. A. Hungate, K. L. Matulich, A. Gonzalez, J. E. Duffy, L. Gamfeldt, and M. I. Connor. 2012. A global synthesis reveals biodiversity loss as a major driver of ecosystem change. *Nature* 486:105–108.
- Hooper, D. U., F. S. Chapin, J. J. Ewel, A. Hector, P. Inchausti, S. Lavorel, J. H. Lawton, D. M. Lodge, M. Loreau, S. Naeem, B. Schmid, H. Setälä, A. J. Symstad, J. Vandermeer, and D. A. Wardle. 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledged. *Ecological Monographs* 75:3–35.
- Hooper, D. U., and P. M. Vitousek. 2008. Effects of Plant Composition and Diversity on Nutrient Cycling Author (s): David U . Hooper and Peter M . Vitousek Published by : Ecological Society of America Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/2657146> 68:121–149.
- Konstantopoulos, S. 2003. Variance components estimation in meta-analysis. University of Chicago.
- Leimu, R., and J. Koricheva. 2004. Cumulative meta-analysis: a new tool for detection of temporal trends and publication bias in ecology. *Proceedings of the Royal Society of London* 271:1961–1966.

- Loreau, M., N. Mouquet, and A. Gonzalez. 2003. Biodiversity as spatial insurance in heterogeneous landscapes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100:12765–12770.
- Loreau, M., S. Naeem, P. Inchausti, J. Bengtsson, J. P. Grime, A. Hector, D. U. Hooper, M. A. Huston, D. Raffaelli, B. Schmid, D. Tilman, and D. A. Wardle. 2001. Ecology: Biodiversity and ecosystem functioning: Current knowledge and future challenges. *Science* 294:804–808.
- Lüdtke, D. 2019. Effect Size Computation for Meta Analysis (Version 0.5.0).
- Moher, D., A. Liberati, J. Tetzlaff, D. G. Altman, and T. P. Group. 2009. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *Anticancer Res.* 6:1–6.
- Naeem, S., L. J. Thompson, S. P. Lawler, and J. H. Lawton. 1995. Empirical evidence that declining species diversity may alter the performance of terrestrial ecosystems. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 347:249–262.
- Naeem, S., and J. P. Wright. 2003. Disentangling biodiversity effects on ecosystem functioning: deriving solutions to a seemingly insurmountable problem. *Ecology Letters* 6:567–579.
- Nakagawa, S., and E. S. A. Santos. 2012. Methodological issues and advances in biological meta-analysis. *Evolutionary Ecology* 26:1253–1274.
- Orwin, R. G. 1983. A fail-safe N for effect size in meta-analysis. *J. Educ. Stat* 8:157–159.
- Parker, T. H., and S. Nakagawa. 2014. Mitigating the epidemic of type I error : ecology and evolution can learn from other disciplines 2:1–3.
- Pasari, J. R., T. Levi, E. S. Zavaleta, N. K. Tonthat, S. L. Milam, N. Chinnam, W. Margolin, M. A. Schumacher, S. Sitch, M. A. White, and H. Hashimoto. 2013. Correction for Wang et al., Variations in atmospheric CO₂ growth rates coupled with tropical temperature. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110:15163–15163.
- Pendleton, R.M., D.J. Hoeinghaus, L.C. Gomes, and A.A. Agostinho. Trophic downgrading results in complex ecosystem dynamics in experimental tropical floodplain food webs. 2015. *Hydrobiologia* 760: 15-28.
- Pick, J. L., S. Nakagawa, and D. W. A. Noble. 2018. Reproducible, flexible and high throughput data extraction from primary literature: The metaDigitise R package. *BioRxiv*:1–25.
- Powell, K. I., J. M. Chase, and T. M. Knight. 2011. A SYNTHESIS OF PLANT INVASION EFFECTS ON BIODIVERSITY 98:539–548.

- Quijas, S., B. Schmid, and P. Balvanera. 2010. Plant diversity enhances provision of ecosystem services : A new synthesis. *Basic and Applied Ecology* 11:582–593.
- R Core Team. 2019. .
- Ricciardi, A., and H. J. Macisaac. 2011. Impacts of Biological Invasions on Freshwater Ecosystems. Pages 211–224 *in* D. M. Richardson, editor. *Fifty Years of Invasion Ecology: The Legacy of Charles Elton*. Blackwell Publishing Ltd.
- Rosenthal, R. 1991. Meta-analysis: a review. *Psychom* 53:247–271.
- Schmid, B., D. Tilman, D. A. Wardle, M. Loreau, S. Naeem, P. Inchausti, J. Bengtsson, J. P. Grime, A. Hector, D. U. Hooper, M. A. Huston, and D. Raffaelli. 2001. Biodiversity and Ecosystem Functioning: Current Knowledge and Future Challenges. *Science* 294:804–808.
- Setiawan, N. N., M. Vanhellemont, A. De Schrijver, S. Schelfhout, L. Baeten, and K. Verheyen. 2016. Mixing effects on litter decomposition rates in a young tree diversity experiment. *Acta Oecologica* 70:79–86.
- Smith, T. M., H. H. Shugart, and F. I. Woodward. 1997. Plant functional types: their relevance to ecosystem properties and global change. Page (T. M. Smith, H. H. Shugart, and F. I. Woodward, Eds.).
- Staats, E. G., S. J. Agosta, J. R. Vonesh, and E. G. Staats. 2016. Predator diversity reduces habitat colonization by mosquitoes and midges. *Biology Letters* 12:1–4.
- Tilman, D. 1997. The Influence of Functional Diversity and Composition on Ecosystem Processes. *Science* 277:1300–1302.
- Tilman, D. 1999. The ecological consequences of changes in biodiversity: a search for general principles. *Ecology* 80:1455–1474.
- Tilman, D., F. Isbell, and J. M. Cowles. 2014. Biodiversity and Ecosystem Functioning. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 45:471–493.
- Vellend, M., L. Baeten, I. H. Myers-smith, S. C. Elmendorf, R. Beauséjour, and C. D. Brown. 2013. Global meta-analysis reveals no net change in local-scale plant biodiversity over time 110.
- Viechtbauer, W. 2010. Conducting meta-analyses in R with the metafor package. *Journal of Statistical Software* 36:1–48.
- Waide, R. B., M. R. Willig, C. F. Steiner, G. Mittelbach, L. Gough, S. I. Dodson, G. P. Juday, and R. Parmenter. 1999a. The relationship between productivity and species richness. *Ann.*

- Rev. Ecol. Syst. 30:257–300.
- Waide, R. B., M. R. Willig, C. F. Steiner, G. Mittelbach, L. Gough, S. I. Dodson, G. P. Juday, and R. Parmenter. 1999b. and S Pecies R Ichness. Sciences-New York:257–300.
- Wardle, D. A. 2016. Do experiments exploring plant diversity-ecosystem functioning relationships inform how biodiversity loss impacts natural ecosystems? *Journal of Vegetation Science* 27:646–653.
- Yachi, S., and M. Loreau. 1999. Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: The insurance hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96:1463–1468.

Conclusões gerais

Diversas questões testadas experimentalmente em ecologia de ambientes aquáticos continentais têm contribuído com o avanço de teorias ecológicas, compreensão de relações causa e efeito na natureza, e para tratar questões de impactos globais como mudanças climáticas, espécies invasoras e consequentemente, os efeitos da perda de biodiversidade sobre o funcionamento dos ecossistemas. Ao longo do tempo, a experimentação em ecologia aquática se mostrou bastante dinâmica em termos de tópicos abordados, tipo de manipulação experimental, e na questão do acúmulo de evidências científicas na busca por generalização das conclusões para outros grupos biológicos e ecossistemas. Após o surgimento de novos tópicos ecológicos testados experimentalmente, uma característica comum e de extrema importância para generalizações está na replicação destes temas e hipóteses por diferentes pesquisadores. Em termos gerais, as questões ecológicas abordadas nos experimentos são replicadas em diferentes níveis, considerando diferentes abordagens conceituais e metodológicas para reproduzir resultados semelhantes. Entretanto, ao mesmo tempo é necessário ter cautela na interpretação dos padrões na natureza, devido às diferentes condições de heterogeneidade que os experimentos são manipulados, e próprios dentro da disciplina de Ecologia. Embora seja conhecido que a biodiversidade melhora o funcionamento dos ecossistemas, por diversas evidências experimentais que corroboram essa premissa, dada as diferentes condições experimentais que um determinado teste de hipóteses da relação biodiversidade e funcionamento dos ecossistemas podem ocorrer, o efeito dessa relação poderá estar superestimada ou subestimada quando comparados conjuntamente os resultados individuais em uma síntese meta-analítica. Assim, talvez uma abordagem mais refinada que a análise individual para subgrupos deverá ser considerada para futuras sínteses quantitativas em meta-análises, na busca por padrões e interpretações das relações ecológicas.