UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Instituto de Biociências
Câmpus do Litoral Paulista

Variação Sazonal na Tolerância Térmica de Peixes de Riachos de Águas Pretas da Bacia do Rio Itanhaém (SP)

Guilherme Ramos Panizza

SÃO VICENTE - SP
2024

Instituto de Biociências - Câmpus do Litoral Paulista
Praça Infante D. Henrique s/nº - CEP 11330-900 - São Vicente (SP) - Brasil
Tel. (13) 3569-7100 - Fax (13) 3569-7146 - diretor.clp@unesp.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS
CÂMPUS DO LITORAL
PAULISTA

Variação Sazonal na Tolerância Térmica de Peixes de Riachos de Águas Pretas da Bacia do Rio Itanhaém (SP)

Mestrando: Guilherme Ramos Panizza
Orientador: Rafael Mendonça Duarte

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus do Litoral Paulista, UNESP, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade de Ambientes Costeiros.

SÃO VICENTE - SP
2024

P193v

Panizza, Guilherme Ramos
Variação Sazonal na Tolerância Térmica de Peixes de Riachos de Águas Pretas da Bacia do Rio Itanhaém (SP) / Guilherme Ramos Panizza. -- São Vicente, 2024
65 p. : il., tabs., fotos, mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, São Vicente
Orientador: Rafael Mendonça Duarte

1. CTMáx. 2. Aquecimento global. 3. Plasticidade térmica. 4. Ecofisiologia. 5. Peixes tropicais. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Rafael Mendonça Duarte, por todo o seu apoio durante estes sete anos juntos, e por ele sempre ter estado comigo em todos os momentos e fases, sempre me apoiando e orientando, abrindo portas e laboratórios. Por toda a sua paciência, talvez sua maior virtude, sua inteligência e visão clareadora que sempre transformaram meus conhecimentos e dados. Obrigado por tudo, e principalmente por ter me ajudado a realizar o sonho de trabalhar no campo, sentindo um pouco o doce gosto da ecofisiologia e conservação, que saltam em meu coração e mente...

A Deus e à Natureza, por toda a inspiração que sempre trouxeram em meu coração, por permitir eu realizar meu trabalho, e pelas vidas dos organismos que colocaram em minhas mãos, que desejo sempre honrar e proteger, dedicando parte do meu trabalho e vida à conservação das espécies e de seus habitats. AUM!

Ao meu laboratório, LECTA, do qual me orgulho muito, por ter me acolhido. Agradeço infinitamente por poder ter vivido o crescimento deste laboratório desde praticamente seu início, até o ponto atual, onde possuí equipamentos de ponta, nos permitindo fazer pesquisas exemplares, inclusive na vanguarda e fronteiras do conhecimento acadêmico.

À minha família, por todo o apoio, carinho e incentivo, encorajando-me a seguir o meu sonho, que tenho desde criança, de ser um cientista.

À minha namorada, Carolina, por também sempre me apoiar, ajudando em tudo que é possível, inclusive escrever inúmeras etiquetas para meus tubos falcon e "eppendorfs"!

Aos meus grandes amigos, Fernando e Fernanda, Leo, e Thomas, por trazerem momentos de alívios e risadas, além de sempre estarem ali quando precisei de ajuda!

Ao Tuca, Jane e todos que nos ajudaram a realizar o campo em Itanhaém.

Ao IEAMar, pela bolsa técnica em meu primeiro ano de mestrado, essencial para minha permanência.

À CAPES, pela bolsa fornecida a partir de meu segundo no ano mestrado, também essencial para minha permanência.

À Nutricon ©, pelo fornecimento de rações, utilizadas na manutenção dos animais em laboratório.

A todos os professores, laboratórios e colegas que me ajudaram, ensinaram e incentivaram, a pós-graduação foi um divisor de águas na minha vida e na minha percepção do que é, e como fazer ciência de qualidade.

Por fim, a Unesp IB-CLP, meu berço científico, muito obrigado pelas oportunidades!

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados ambientais, obtidos através de sonda multiparâmetro (Horiba-U50) e data logger (Hobo). Dados expressos como média ± erro padrão (exceto para temperatura, expressos como média e variação mínima e máxima).

Tabela 2. Pesos (g) das três espécies considerando as quatro estações, nos quatro pontos de coleta. Dados expressos como média ± erro padrão.

Tabela 3. Valores de ARR para as três espécies, dentro dos pontos de coleta e durante as 4 estações do ano

Tabela 4. Valores de %CV para as três espécies, dentro dos pontos de coleta e durante as 4 estações do ano

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Imagem demonstrando as diferentes estratégias térmicas presentes no reino animal (Buffenstein et al., 2022)

Figura 2. Curva de performance térmica hipotética, demonstrando o efeito da temperatura sobre a performance dos organismos (Schulte et al., 2011).

Figura 3. Curva de performance térmica hipotética associada a OCLTT, demonstrando o efeito da temperatura sobre a performance dos organismos (Pörtner, 2010).

Fig. 4: fotos ilustrativas das espécies estudadas neste trabalho: *Hyphessobrycon reticulatus* (A), *Phalloceros reisi* (B), e *Scleromystax barbatus* (C).

Figura 5. Foto demonstrando a camuflagem disruptiva de um exemplar de *Scleromystax barbatus*. Retirado de Gonçalves e Cestari, 2013a.

Figura 6. Mapa hidrográfico da planície costeira da bacia do Rio Itanhaém (Itanhaém/SP), identificando os quatro pontos de coleta e o Rio Panema.

Figura 7. Fotos da margem esquerda (A) e direita (B) do Ponto 1 (P1)

Figura 8. Fotos do Ponto 2 (P2), mostrando a porção mais próxima à estrada (C), e mais adentro do riacho (A e B)

Figura 9. Fotos do Ponto 3 (P3), evidenciando a pequena lagoa (A), um canal de drenagem (B) que cruza a estrada, e a porção do riacho que corre dentro do fragmento florestal (C).

Figura 10. Fotos do Ponto 4 (P4), em A e B a poça formada pela vala de drenagem, em C uma casa e bar que fica ao lado, e em D o canal de drenagem e a estrada que beira o local

Figura 11. Métodos de coleta e petrechos de pesca utilizados durante as coletas e experimentos em campo.

Figura 12. Demonstração da estrutura experimental *in situ*, mostrando os equipamentos utilizados e onde os animais eram dispostos para realização do CTMáx.

Figura 13. Caixa experimental montado em laboratório, para realizar o CTMáx pós-aclimatação a evento de HW.

Figura 14. Variação da temperatura dos quatro pontos, conforme as estações do ano.

Figura 15. Valores da temperatura crítica máxima (CTMáx) das espécies *H. reticulatus* (A), *P. reisi* (B) e *S. barbatus* (C) obtidos em 4 pontos da micro bacia do Rio Preto ao longo das 4 estações do ano. Letras iguais representam que não há diferenças significativas; letras diferentes, demonstram diferenças significativas entre os tratamentos. Letras maiúsculas indicam diferenças entre os pontos em cada estação, e minúsculas entre as estações em cada ponto.

Figura 16. Gráfico dos resultados de testes ANOVA de 2 fatores (estações e pontos), para TSM das espécies *H. reticulatus* (A), *P. reisi* (B) e *S. barbatus* (C). Letras iguais representam que não há diferenças significativas; letras diferentes, demonstram diferenças significativas entre os tratamentos. Letras maiúsculas indicam relações entre os pontos em cada estação, e minúsculas entre as estações em cada ponto.

Fig. 17: Gráficos comparando valores de CTMáx e TSM de *H. reticulatus* e *P. reisi* nas quatro estações, dentro de P2 com os valores de CTMáx e TSM obtidos pela HW em laboratório. Letras diferentes representam diferenças significativas entre os tratamentos em cada espécie.

SUMÁRIO:

1. INTRODUÇÃO: 12
1.1 Temperatura e aquecimento global 12
1.2 - Estratégia térmica 13
1.3 - Tolerância térmica 15
1.3.1 – Temperatura crítica máxima (CTMáx) 16
1.3.2 – Margem de segurança térmica (TSM) 17
1.3.3 – Índice de aclimatação térmica (ARR) e Coeficiente de variação intraespecífico (%CV) 18
1.4 – Riachos costeiros da Mata Atlântica e Ictiofauna 19
1.4.1 – As águas pretas 19
1.4.2 –Ictiofauna 20
2. OBJETIVOS 24
2.1 Objetivos gerais 24
2.2 Objetivos específicos 24
3. MATERIAL & MÉTODOS 25
3.1 – Área de estudo 25
3.2 – Coleta de animais e experimentos 25
3.3 – Procedimentos Experimentais 32
3.3.1 – CTMáx em campo 32
3.3.2 – CTMáx em laboratório (simulação *heatwaves*) 33
3.4 – Técnicas Analíticas e Cálculos 34
3.4.1 – CTMáx, TSM e ARR 34
3.4.2 – Coeficiente de variação intraespecífico 35
3.4.3 – Íons 35
3.5. Análise estatística 35
4. RESULTADOS: 36
4.1. Parâmetros ambientais e biometria 36
4.2 – Temperatura crítica máxima (CTMáx) 39
4.2 – Margem de segurança térmica (TSM) 42
4.3 – Capacidade de aclimatação térmica (ARR) e %CV 44
4.4 – Estações vs. *Heatwave* 45
5 – DISCUSSÃO 46

6. CONCLUSÕES 56
7. REFERÊNCIAS 57

Resumo

A temperatura é um dos principais fatores abióticos determinantes à performance dos organismos, interferindo diretamente em fatores como metabolismo, tolerância térmica, distribuição, desenvolvimento e abundância de espécies. O aumento da temperatura das águas, causado pelas alterações climáticas globais, pode colocar as espécies em risco, principalmente as ectotérmicas com baixa tolerância e plasticidade térmica. Junto às alterações climáticas globais, a urbanização e o desmatamento de áreas costeiras, como da Mata Atlântica, têm colocado em risco áreas ainda preservadas, muitas com espécies endêmicas. Inserido neste bioma, está a bacia do Rio Itanhaém (SP/Brasil) que apresenta ecossistemas de águas pretas, com alto número de espécies endêmicas. Os estudos em campo investigando efeitos da temperatura são escassos, embora possuam um importante valor para o entendimento das respostas ecofisiológicas e conservação das espécies. Com isso, este estudo avaliou o efeito da variação anual da temperatura da água na tolerância térmica máxima (CTMáx) de peixes de riachos de águas pretas da bacia do Rio Itanhaém, verificando a margem de tolerância térmica (TSM), a taxa de resposta de aclimatação (*acclimation response ratio* – ARR) e a variação intraespecífica da tolerância térmica de três espécies de peixes presentes em 4 riachos de águas pretas da micro bacia do Rio Preto, um dos principais corpos d'água da bacia. Além disso, foi verificado o efeito do regime térmico anual natural, e de uma simulação de *heatwave*, na tolerância térmica de duas espécies em um dos pontos amostrados. O CTMáx e a TSM foram significativamente influenciados pela variação térmica anual (P <0.001), e pelos diferentes pontos (P <0.001) e estações, para as três espécies analisadas, onde maiores valores de CTMáx foram observados na Primavera e Verão. *S. barbatus* foi a espécie mais sensível, com os menores valores de CTMáx e TSM, em todo as estações, enquanto *P. reisi* apresentou os maiores CTMáx e TSM em todas as condições, com os maiores limites térmicos. O maior valor de ARR em cada ponto foi de 0,46 em P1 para *P. reisi*; 0,61 em P2 e 0,89 em P3 para *S. barbatus*; e 0,88 e, P4 para *H. reticulatus*, o qual apresentou a maior média anual, possuindo maiores chances de adaptação a regimes mais quentes dentre as três espécies. O menor e o maior valor de %CV foi 0,6 em P1 no Outono, para *H. reticulatus*, e 7,2 em P3 no Outono para *P. reisi*. Tais dados são importantes para determinar o nível de plasticidade térmica e fenotípica das espécies de peixes da região, determinando o grau de sensibilidade térmica das espécies, e o risco frente ao aquecimento global e alterações no uso da terra, facilitando medidas de conservação nestes locais.

Palavras chave: CTMáx; Aquecimento global; Plasticidade térmica; Ecofisiologia; Peixes tropicais

Abstract

Temperature is one of the main abiotic factors affecting the performance of organisms, directly interfering in factors such as metabolism, thermal tolerance, distribution, development and abundance of species. The increase in water temperature promoted by global climate change could led species to extinction risk, especially the ectotherms with low thermal tolerance and plasticity. Along with global climate change, urbanization and the deforestation of coastal areas, such as the Atlantic Rainforest, have endangered areas that are still preserved, many with endemic species. Within this biome is the Itanhaém River basin (SP/Brazil), which has black water ecosystems with a high number of endemic species. Field studies investigating the effects of temperature are scarce, although they have an important value for understanding the ecophysiological responses and conservation of species. With this in mind, this study evaluated the effect of annual variation in water temperature on the maximum thermal tolerance (CTMax) of fish from blackwater streams in the Itanhaém River basin, verifying the thermal tolerance margin (TSM), the *acclimation response ratio* – ARR and the intraspecific variation in thermal tolerance of three species of fish found in 4 blackwater streams in the Rio Preto micro-basin, one of the main bodies of water in the basin. In addition, the effect of the natural annual thermal regime and a heatwave simulation on the thermal tolerance of two species at one of the sampling points was verified. CTMax and TSM were significantly influenced by the annual thermal variation ($P < 0.001$), and by the different points ($P < 0.001$) and seasons, for the three species analyzed, where higher CTMax values were observed in spring and summer. *S. barbatus* was the most sensitive species, with the lowest CTMax and TSM values in all seasons, while *P. reisi* showed the highest CTMax and TSM in all conditions, with the highest thermal limits. The highest ARR value at each point was 0.46 at P1 for *P. reisi*; 0.61 at P2 and 0.89 at P3 for S. *barbatus*; and 0.88 at P4 for *H. reticulatus* which had the highest annual average, giving it the best chance of adapting to warmer regimes of the three species. The lowest and highest %CV values were 0.6 at P1 in the fall for *H. reticulatus* and 7.2 at P3 in the fall for *P. reisi*. These data are important for determining the level of thermal and phenotypic plasticity of fish species in the region, determining the degree of thermal sensitivity of the species, and the risk in the face of global warming and changes in land use, facilitating conservation measures in these locations.

Key words: CTMax; Global warming; Thermal plasticity; Ecophysiology; Tropical fishes

1. INTRODUÇÃO:

1.1 Temperatura e aquecimento global

As alterações climáticas, como o aquecimento global, representam um alto risco para o equilíbrio ambiental regional e mundial, uma vez que a temperatura é um dos fatores abióticos de maior influência na complexidade e estabilidade dos ecossistemas, afetando diretamente diferentes níveis da organização biológica, desde o nível micro (moléculas) ao macro (ecossistemas) (Hochachka & Somero, 2002). Existem previsões de que essas mudanças podem resultar em um aquecimento das águas de 3 a 5°C até o final do século em cenários mais extremos (IPCC, 2014), sendo que, desde a revolução industrial, já houve um aumento de cerca de 1,2°C na temperatura média global (IPCC, 2018). O relatório mais atual do IPCC cita que mesmo com os acordos atuais até 2030 este acréscimo ocorrerá, e que até o fim do século será muito improvável que a temperatura não esteja 2°C mais elevada que atualmente (IPCC, 2023). A ocorrência de regimes térmicos extremos dependerá das medidas ambientais atuais e futuras, principalmente acerca do desmatamento e emissão de gases de efeito estufa. Caso sigamos com os atuais acordos e conjunturas, há 66% de chance de um aumento de 3,2°C ocorrer nas águas até 2100, no qual cerca de 30% das espécies de água doce podem ter sua distribuição alterada (Barbarossa et al., 2021).

Barbarossa e colaboradores (2021), também citam que alguns sistemas aquáticos mais estáveis, ou com maior estratificação térmica, podem servir de refúgio térmico às espécies; porém, isso não se aplica para habitats como pequenos córregos e riachos, uma vez que estes são, em geral, rasos e estreitos impedindo que haja uma estratificação térmica significativa, principalmente nas áreas já desmatadas (sem sombreamento). Há locais onde já foram comprovadas mudanças no regime térmico nos últimos tempos, levando a modificações na distribuição das espécies em rios (Comte & Olden, 2017; Hochachka & Somero, 2002; Jackson & Mandrak, 2002; Mendonça et al., 2005), ou até mesmo extinção em certos locais, no caso de organismos mais sensíveis a variações térmicas (Lynch et al., 2016).

O alto e crescente grau de urbanização e emissões de carbono, de forma global, segue como um dos principais responsáveis pelo desequilíbrio e deterioração da qualidade das reservas naturais (Camargo et al., 1996; Lapointe et al., 2018). Isso pode afetar direta e indiretamente a ecologia, distribuição e resiliência das espécies presentes na natureza (Ferreira

et al., 2014; C. da S. Gonçalves et al., 2016) . Junto a isso, o elevado e crescente grau de urbanização, agricultura e desmatamento das matas ciliares podem alterar a estabilidade dos bancos laterais dos riachos, influenciando diretamente a distribuição das espécies presentes (Cetra et al., 2012; Ferreira et al., 2014).

Modificações no uso da terra em áreas de drenagem de rios e riachos, como ocorrido na bacia do Rio Itanhaém (São Paulo, Brasil) (Ferreira & Petrere, 2009), têm grande potencial para alterar significativamente a incidência de luz, produtividade primária e a temperatura dos corpos d'água, o que tende a facilitar o aquecimento de 3 a 5 °C (menos áreas abrigadas e sombreadas) (Turko et al., 2020), principalmente nos riachos, por possuírem um volume menor de água, com profundidas as vezes menores de 1 m. Tal como visto para outros ecossistemas lênticos, esses fatores podem levar a alterações drásticas na estrutura e a composição das comunidades aquáticas presentes nestes ecossistemas (Bojsen & Barriga, 2002).

Nesse contexto de mudanças nas temperaturas globais, estudos sugerem que animais da região Tropical correm mais riscos frente ao aquecimento global por viverem em regimes térmicos mais próximos de seus limites máximos (C. Madeira et al., 2017; Vinagre et al., 2016), além de não experimentarem variações térmicas sazonais significativas, comparados aos ambientes de região temperada, refletindo em menor plasticidade fenotípica que pode prejudicar seu potencial de aclimatação à novos regimes térmicos (McDonnell & Chapman, 2015).Assim, os organismos presentes nos ambientes aquáticos tropicais podem sofrer mais danos em função de alterações nos parâmetros ambientais, dependendo fortemente de sua história de vida (Barrett et al., 2011), plasticidade fenotípica (Leclair et al., 2020) padrão de distribuição e resiliência (Gale et al., 2011). Além da distribuição geográfica, fatores como a abundância de espécies também são comumente influenciados pelos regimes térmicos (Schulte et al., 2011).

1.2 - Estratégia térmica

A temperatura interfere diretamente no metabolismo e homeostase dos organismos (Hochachka & Somero, 2002), principalmente dos ectotérmicos (Fig. 1), tal como a maioria dos peixes (Angilleta Jr., 2009; Islam et al., 2020). Estes organismos não possuem a capacidade de regular metabolicamente sua temperatura corporal (Tc) (Sarma et al., 2010), sendo a Tc

controlada pela temperatura do ambiente (Ta), o que determina o grau de desempenho ótimo das funções fisiológicas e bioquímicas do animal (D. Madeira, Narciso, Cabral, & Vinagre, 2012). Existem vantagens e desvantagens em cada estratégia térmica, em diversos níveis, como no metabolismo, forrageamento e predação (Wegner et al., 2015a). Por exemplo, na endotermia vista em aves e mamíferos, estratégia na qual o organismo produz metabolicamente calor, sua Tc não varia conforme a Ta, possibilitando maior eficiência enzimática, pois estas atuam próximos às suas temperaturas ótimas, o que permite maior independência em relação ao regime térmico ambiental. Por outro lado, isso tem um custo elevado, já que manter a Tc diferente de Ta é extremamente custoso metabolicamente. Em contrapartida, os ectotérmicos por não regularem sua Tc gastam menos energia com seu metabolismo, mas necessitam muitas vezes de enzimas específicas para cada faixa de temperatura, para que os sistemas fisiológicos mantenham o seu funcionamento conforme a Ta varie, o que gera custos adicionais para a manutenção (Bícego & Gargaglioni, 2020). Basicamente, quando comparamos animais ectotérmicos e endotérmicos de tamanhos e massas semelhantes, a taxa metabólica basal do segundo será muito mais elevado indicando um maior custo metabólico para a manutenção da Tc.

Dentro das estratégias térmicas, ainda existem a pecilotermia, na qual a temperatura do organismo varia conforme Ta, e a homeotermia, em que Tc se mantém constante independente de Ta (Fig.1). Contudo, para alguns organismos, as estratégias térmicas (ectotermia, endotermia, pecilotermia e homeotermia) podem se sobrepor, como em répteis ("sangue frio") que quando ativos, apresentam temperaturas elevadas, e o oposto em mamíferos ("sangue quente") que hibernam ou entram em torpor, onde sua temperatura pode chegar a menos de 0°C (Bícego & Gargaglioni, 2020). Os autores citam que este último caso pode ocorrer em algumas aves e mamíferos, os quais são atualmente classificados como heterotérmicos, uma vez que, apesar de comumente regularem sua Tc, durante eventos de torpor/hibernação ficam equilibrados ou muito próximos da Ta. Outro exemplo de heterotermia, denominada endotermia local, ocorre em grandes peixes marinhos (e. g atum e marlim), nos quais algumas porções do corpo, como musculatura esquelética (atum), apresentam uma temperatura mais elevada que a da água, o que pode favorecer metabolismo celular local, ou organismal (Wegner et al., 2015b).

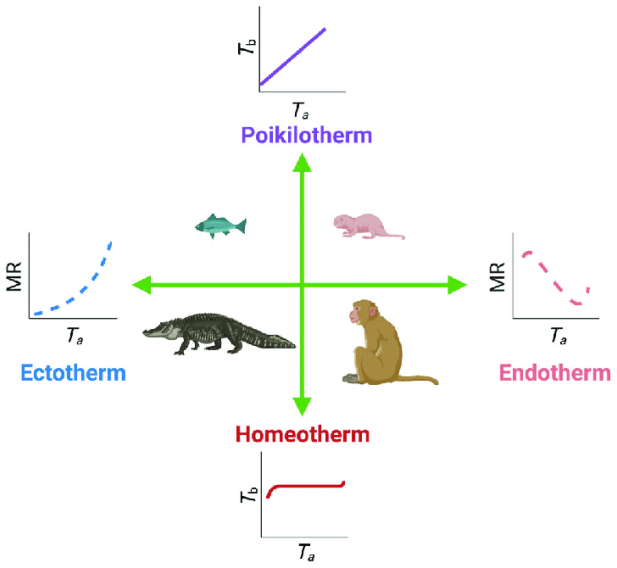


Figura 1: Imagem demonstrando as diferentes estratégias térmicas presentes no reino animal (Buffenstein et al., 2022). Note que nos ectotérmicos a taxa metabólica basal (MR) aumenta exponencialmente com a temperatura ambiental (Ta).

De modo semelhante ao que ocorre com os corpos d'água, organismos com grande volume/massa corporal, podem "manter" suas temperaturas mais estáveis, mesmo a Ta variando consideravelmente em dias de inverno (Bícego & Gargaglioni, 2020), fazendo com que o animal se comporte como um ectotérmico-homeotérmico (Fig.1). Isso traz à tona algumas preocupações já que espécies miniaturizadas e de massa diminuta, tal qual os peixes de riachos, podem ser mais suscetíveis ao estresse térmico, onde a rápida variação da Ta levaria a uma abrupta elevação da Tc.

1.3 - Tolerância térmica

Nesse contexto, a tolerância térmica denota a capacidade dos organismos em ajustar suas funções fisiológicas e bioquímicas (tais como velocidade enzimática, ventilação, batimentos cardíacos e natação, entre outros), ou mantê-las conforme é exposto a diferentes temperaturas. Assim, limite térmico seria o ponto no qual o animal não é mais capaz de realizar certas funções fisiológicas de forma eficiente, e começa um declínio em sua performance, até um ponto onde cessa completamente suas atividades (Ern et al., 2016). A curva de performance térmica (*thermal performance curve*) determina o nível de desempenho dos organismos conforme a variação da temperatura, estabelecendo limites mínimos e máximos para o

funcionamento de suas funções vitais (McKenzie et al., 2021; Schulte et al., 2011) (Fig. 2).

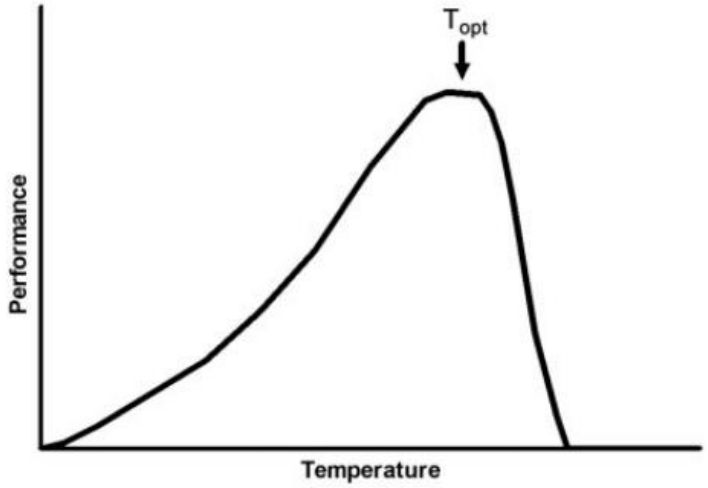


Figura 2. Curva de performance térmica hipotética, demonstrando o efeito da temperatura sobre a performance dos organismos (Schulte et al., 2011).

1.3.1 – Temperatura crítica máxima (CTMáx)

Nesse contexto, as metodologias de temperatura crítica (*critical thermal method* – CTM) são extremamente úteis e importantes para verificar a tolerância térmica das espécies, além de permitir simulações de exposições a novos eventos climáticos, como os aumentos de temperatura previstos até o fim do século (Roni et al., 2019), e como isso afeta o desempenho do animal no teste de estresse térmico (e. g., seu comportamento no teste e sua temperatura crítica). Basicamente, esses testes de estresse são realizados expondo os organismos a uma taxa de acréscimo ou decréscimo de temperatura, até que o mesmo atinja o *end-point* escolhido (Ern et al., 2020; Lefevre et al., 2021; Zhou et al., 2019), sendo a perda de equilíbrio (*loss of equilibrium* – LOE) o mais utilizado (Campos et al., 2019; Hernández-Sandoval et al., 2018; Loeschcke & Hoffmann, 2007; Vinagre et al., 2015).

O espectro entre a temperatura crítica mínima (CTMín) e a temperatura crítica máxima (CTMáx) determina a janela de performance térmica (*performance window*) (McDonnell & Chapman, 2015). Também conhecida como nicho térmico, esta janela dita o gradiente e os limites de tolerância térmica para o desenvolvimento normal da espécie e o *fitness* aumentado no ambiente, possibilitando desenvolver e perpetuar sem riscos relativos a estresses térmicos

(D. Madeira, Narciso, Cabral, & Vinagre, 2012; Zhou et al., 2019). O nicho térmico tem intima relação com as condições de temperatura que o organismo experiencia sem eu ambiente, como durante estações do ano, e sua capacidade de lidar com essas mudanças está diretamente relacionada a sua plasticidade térmica e fenotípica (Pörtner, 2010). O regime térmico (e.g., temperatura de aclimatação, aclimatização e sazonalidade) no qual o organismos é exposto tem marcada relação com seus valores de tolerância e limites térmicos (Butler, 2024; Lamptey et al., 2022; Somero, 2010), com limites definidos pelo CTMín e CTMáx.

Por meio dos testes de CTMáx, é possível inferir os níveis críticos de estresse fisiológico e comportamental em que o indivíduo tem suas capacidades cognitivas ou locomotoras prejudicadas, a ponto de não conseguir evitar situações que podem levar à sua morte (Ern et al., 2020; Hernández-sandoval et al., 2018), como competição ou predação.

1.3.2 – Margem de segurança térmica (TSM)

Outro fator de vital importância para as espécies ectotérmicas é sua margem de segurança térmica (*thermal safety margin* - TSM), sendo a TSM definida pela aptidão da espécie em responder a mudanças térmicas (e.g. a aclimatação a maiores temperaturas). A TSM é obtida subtraindo os valores da temperatura de aclimatação (ou a Ta média) do CTMáx dos indivíduos. Assim, para manter suas janelas térmicas em regimes térmicos aumentados os organismos precisam ser capazes de elevar seus CTMáx conforme a Ta, o que garante sua performance metabólica e aumenta assim suas chances de sobrevivência. Com isso, estes índices em conjunto (CTMáx e TSM) são fundamentais para investigação da capacidade de aclimatação térmica das espécies (Campos et al., 2019; Kikuchi et al., 2019a; C. Madeira et al., 2017; Stillman, 2003; Sunday et al., 2012; Vinagre et al., 2016, 2019). Assim, as TSM obtidas por meio de testes de CTMáx, realizados em diferentes regimes de aclimatação, podem indicar se o organismo foi capaz de se aclimatar ou não, aos novos regimes térmicos (Cereja, 2020; Leclair et al., 2020) .

Atualmente, a grande maioria dos trabalhos realizados com CTMáx são feitos em laboratório/*ex-situ* (Campos et al., 2018; Kikuchi et al., 2019b; C. Madeira et al., 2017; D. Madeira, Narciso, Cabral, Vinagre, et al., 2012; Vinagre et al., 2018), nos quais os animais são aclimatados a certas temperaturas, geralmente utilizando regimes térmicos estáveis, os quais

não ocorrem no ambiente natural (Schulte et al., 2011). Entretando, muitas vezes é inviável realizar experimentos em campo, ou a pesquisa não exige/permite que tais variações ocorram, portanto, análises em laboratório são e serão sempre muito importantes. Por outro lado, estudos de respostas fisiológicas, realizando testes com organismos mantidos em seu ambiente, e expostos a seus regimes térmicos naturais (Leclair et al., 2020), podem trazer resultados mais confiáveis e aplicáveis, principalmente para estudos de cunho ecofisiológico e voltados para a conservação de espécies e de seus ecossistemas.

Assim, o uso dos dois tipos de metodologias permite comparações e compreensões sobre a relação entre regimes térmicos ambientais e performance das espécies, e diferenças entre respostas a exposições agudas, durante as ondas de calor (*heatwaves* - HW), e crônicas, como ao longo das estações do ano. Existem algumas classificações para os eventos de ondas de calor sendo, por exemplo, um aumento de até 5°C na temperatura do ar por mais de 5 dias consecutivos (Mameri et al., 2020; Vinagre et al., 2016), porém a mais aceita atualmente é quando a Ta ultrapassa os 90% da média ou temperatura absoluta daquele local comparado aos últimos anos no mesmo período ou dia (Erlat et al., 2021; Faye et al., 2021).

No caso dos eventos agudos, os organismos podem não ter tempo, ou a plasticidade térmica necessária para responder de forma eficiente ao estresse térmico. Enquanto isso, as alterações sazonais naturais na temperatura ambiental podem trazer riscos adicionais para as espécies, uma vez que, em períodos mais quentes (e.g. no verão) algumas espécies já enfrentam regimes térmicos próximos ao seu CTMáx (Leclair et al. 2020). Logo, pode-se concluir que a soma de uma estação ou regime térmico elevado, junto a uma HW, pode ser fatal, como já registrado para peixes de região Tropical (Le et al., 2020; D. Madeira et al., 2020) e Temperada (Westley, 2020), e até mesmo para humanos (Lo et al., 2022).

1.3.3 – Índice de aclimatação térmica (ARR) e Coeficiente de variação intraespecífico (%CV)

As respostas das espécies frente à temperatura podem variar conforme a população (Schulte et al., 2011), sendo a variação intraespecífica (Nati et al., 2021) e o coeficiente de variação intraespecífico (C. Madeira et al., 2017) métodos para avaliar potenciais diferenças na plasticidade térmica dos indivíduos. Maior plasticidade pode indicar maior diversidade genética

em uma população (Nati et al., 2021), fornecendo informações sobre o potencial de adaptação térmica das espécies em determinados locais (Anlauf-Dunn et al., 2022). A taxa de aclimatação térmica (*acclimation response ratio* – ARR), apesar de simples, fornece dados importantes sobre a capacidade ou magnitude de aclimatação de uma espécie, quando exposta a diferentes temperaturas de aclimatação (A_T) (Denisse Re et al., 2012; Xia et al., 2017). Ele é obtido ao subtrair os valores de CTMáx entre duas temperaturas, e dividindo o resultado pela diferença entra as duas A_T (Claussen, 1977). Dessa forma, maiores ARR's indicam que a espécie conseguiu elevar de forma eficaz seus limites máximos de tolerância, frente a um dado aumento de temperatura, enquanto o contrário demonstra pouca capacidade de resposta quando exposta a estes cenários. A segunda condição tende a ser mais preocupante, e indicar baixos níveis de plasticidade térmica, ao menos dentro do intervalo estudado. Os organismos que experienciam maiores variações de temperatura no ambiente tendem a desenvolver maiores ARR's (Bugg et al., 2020) e, geralmente, apresentam maior plasticidade térmica (Bícego & Gargaglioni, 2020; Rahman et al., 2020).

Além das diferenças na tolerância térmica entre espécies e locais, existe também uma variação entre os organismos de um mesmo grupo/população, podendo ser resultante de fatores do habitat e histórico evolutivo da população (Nati et al., 2021). O coeficiente de variação intraespecífico (%CV), obtido através do desvio padrão e média, fornece uma porcentagem do quanto certo fator varia dentro de um grupo (C. Madeira et al., 2017). Essa metodologia aplicada aos valores de CTMáx, pode ser utilizada como mais uma peça para investigar a plasticidade térmica.

1.4 – Riachos costeiros da Mata Atlântica e Ictiofauna

1.4.1 – As águas pretas

Dentro do contexto dos riachos de água doce, a Bacia do Rio Itanhém, situada na região sudeste do Brasil, possui cerca de 954 km^2, sendo a segunda maior do estado de São Paulo, abrangendo duas áreas metropolitanas, da Grande São Paulo e da Baixada Santista (Ferreira et al. 2014). Os riachos costeiros que compõem a bacia do Rio Itanhém são cercados pelo bioma da Mata Atlântica e apresentam marcadas diferenças limnológicas e na estrutura de seus habitats, favorecendo elevada biodiversidade nestes ecossistemas, sendo divididos

principalmente em cursos de águas claras e pretas.

Estes rios e riachos são distribuídos em diferentes sub-bacias, como a do Rio Preto, que possuí afluentes de águas claras e pretas (Ferreira, 2007), sendo que os segundos tem valores de pH entre 3,3 e 5. Outra característica desses ambientes é grande quantidade de matéria orgânica dissolvida (MOD) ricas em substancias húmicas, presentes em todos os estratos ecossistêmicos (solos, águas e sedimentos), e que são formadas a partir da decomposição de plantas e tecidos animais (Al-Reasi et al., 2011; Gaffney et al., 1996).

Tais substâncias são classificadas em duas categorias, os ácidos fúlvicos e ácidos húmicos, ricos nos riachos de águas pretas (Gaffney et al., 1996). O carbono orgânico dissolvido (COD) é muitas vezes sinônimo do MOD (Holland et al., 2017), o qual é reconhecido por sua importância e eficiência na redução de danos causados por condições ambientais extremas em peixes, como baixo pH, podendo reduzir danos sobre a ionorregulação (Duarte et al., 2016) e excreção de nitrogênio (Duarte et al., 2018). Além de alta concentração de COD e baixo pH as águas pretas geralmente tem baixas concentrações de oxigênio dissolvido, mas alta riqueza e diversidade da ictiofauna (Ferreira and Petrere 2009; Gonçalves and Braga 2013; Gonçalves and Cestari 2013; Ferreira et al. 2014), com diversas espécies endêmicas (Gonçalves and Cestari 2013ª; Gonçalves et al. 2016). Tais atributos, além do fato da Mata Atlântica ser um bioma ameaçado, principalmente pela expansão urbana na planície costeira, faz com que esses ambientes sejam considerados *hotspots* de biodiversidade da ictiofauna para esses ecossistemas de água preta (Myers et al., 2000).

1.4.2 –Ictiofauna

Como descrito acima, os riachos costeiros exibem alto grau de endemismo, sendo considerados *hot-spots* de biodiversidade da ictiofauna (Myers et al., 2000), com espécies ameaçadas de extinção presentes na região sudeste da Mata Atlântica do estado de São Paulo, como o caracídeo *Mimagoniates lateralis* (popularmente conhecido como manjubinha) e o calictídeo *Scleromystax macropterus* (popularmente conhecido como coridora) (Gonçalves et al. 2016; Moraes et al. 2020). Além de fatores como pH e COD, a própria composição dos habitats, como geomorfologia, granulometria do sedimento, velocidade da correnteza e profundidade também afetam as assembleias destes corpos d'água (S. Gonçalves et al., 2012).

O gênero *Hyphessobrycon* (Characiformes) é amplamente distribuído nos ambientes de

água doce, desde o México à Argentina (Dagosta et al., 2016), abrangendo cerca de 130 espécies, incluindo onívoros, carnívoros, herbívoros, oportunistas e até mesmo espécies com hábito alimentar especialista (Santana et al., 2019). A espécie *Hyphessobrycon reticulatus* (Characiformes: Characidae) (Ellis, 1911), popularmente conhecido como Tetra Reticulado (Fig. 4A) ocorre principalmente nos riachos de águas pretas da restinga (também ocorre em águas claras, mas com pouca abundância), com alta abundância nas planícies costeiras da Mata Atlântica (Ferreira, 2007). *H. reticulatus* pode ser encontrado nas águas escuras de Itanhaém e Peruíbe (S. Gonçalves et al., 2013), tendo uma dieta insetívora, com predominância de insetos terrestres, o que reforça a importância da vegetação ripária para a espécie (C. da S. Gonçalves et al., 2018). Quanto à performance térmica, em um estudo feito em laboratório, com espécimes de água preta (Rio Panema – Itanhém/SP), *H. reticulatus* sofreu grande influência da temperatura de aclimatação sobre seu CTMáx, com valores de 34,4°C, 35,9°C e 38,2°C, quando aclimatado a 20, 25 e 30°C, respectivamente (Vidal, 2023). A alteração do CTMáx nas três temperaturas de aclimatação, com um aumento de 11%, demonstra que a espécie foi capaz de aclimatar-se a regimes térmicos mais elevados.

O poecilídio *Phalloceros reisi* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) (Lucinda, 2008), também conhecido como Guaru ou Barrigudinho (Fig. 4 B), é uma espécie onívora (Peressin et al., 2018) pertencente ao gênero com maior representantes de sua família na América do Sul (Thomaz et al., 2019), com espécies podendo ser encontradas inclusive em águas salobras (de Souza, 2022; Lucinda, 2008). Os poecilídeos, diferente de muitos outros grupos de peixes, possuem fertilização interna e viviparidade (Pollux et al., 2009), sendo um fator que provavelmente deu muitas vantagens para a eficiência reprodutiva e alta abundância do grupo (Thomaz et al., 2019). *P. reisi* distribui-se pelos riachos costeiros e grandes rios de São Paulo, como rio Ribeira de Iguape, Paranapanema e Sorocaba (Cetra et al., 2017), Tietê (Loeb et al., 2014; Lucinda, 2008) e Itanhaém e seus afluentes, sendo capaz de habitar águas claras e escuras (Ferreira et al., 2014), em corpos d'água de primeira e segunda ordem (Thomaz et al., 2019). *P. reisi* é na maioria das vezes uma das espécies mais abundantes nas comunidades de peixes, e uma das únicas capazes de habitar certos locais mais extremos ou desfavoráveis (Loeb et al., 2014). Em um trabalho realizado com populações do Rio do Castro (Itanhaém/SP), aclimatada a 22°C foi reportado um CTMáx de 34,6°C, o qual elevou-se quando passou a um regime de 26°C (36,7°C). Contudo, o mesmo não foi observado quando a espécie foi aclimatada a 30°C

(36,6°C), demonstrando que ela não conseguiu aumentar a sua tolerância em um regime térmico mais extremo (Panizza, 2021).

O gênero *Scleromystax* (do grego *sclero*, "duro" e do latim *mystax*, "lábio superior"), (Siluriformes, Callichthyidae, Corydoradinae) possuí quatro espécies, todas endêmicas de rios e riachos costeiros da Mata Atlântica (C. da S. Gonçalves & Cestari, 2013a), com ocorrência desde o sul da Bahia até o sul de Santa Catarina (Britto & Reis, 2005). Entra as espécies encontra-se o *Scleromystax barbatus* (Siluriformes: Callychtidae) (Quoy & Gaimard 1824), de nome popular Coridora-bandada, com respiração aérea facultativa (comum na família Callichthyidae) (Satora et al., 2018), e ocorrendo em águas pretas (Esteves et al., 2019) e claras (Fig. 4C).

Nestes ambientes, a espécie utiliza seu aparato bucal para forragear entre o substrato, sugando seu alimento (C. da S. Gonçalves & Cestari, 2013a). Assim como muitos exemplares popularmente nomeados como coridoras, *S. barbatus* é muito conhecido no aquarismo, devido ao seu belo padrão de camuflagem disruptiva e suas características manchas douradas (Fig 5) (Reis, 2003).



Fig. 4: fotos ilustrativas das espécies estudadas neste trabalho: *Hyphessobrycon reticulatus* (A), *Phalloceros reisi* (B), e *Scleromystax barbatus* (C).



Fig. 5: Foto demonstrando a camuflagem disruptiva de um exemplar de *Scleromystax barbatus*. Retirado de Gonçalves e Cestari, 2013a.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Diante do exposto, os objetivos gerais dessa dissertação foram avaliar o efeito da variação anual da temperatura da água na vulnerabilidade térmica de peixes de riachos de águas pretas da sub bacia do Rio Panema, verificando a variação intraespecífica na tolerância térmica das espécies ao longo de diferentes pontos. Além de verificar o efeito do regime térmico aumentado na capacidade de aclimatação térmica de peixes de riachos de águas pretas da sub bacia do Rio Panema.

2.2 Objetivos específicos

i) Determinar o CTMáx e a TSM das espécies *Hyphessobrycon reticulatus*, *Phalloceros reisi* e *Scleromystax barbatus* ao longo do ciclo hidrológico local (Verão, Outono, Inverno e Primavera) em diferentes riachos de águas pretas ao longo do Rio Panema;

ii) Verificar a capacidade de aclimatação térmica (ARR); o nível de variação intraespecífico, a partir do coeficiente de variação intraespecífico (CV); os valores de CTMáx e TSM em função da sazonalidade, para cada espécie, e entre diferentes pontos de águas pretas do Rio Panema;

iii) Determinar o CTMáx e TSM para as espécies aclimatadas a um regime de 5°C acima da temperatura máxima do Verão, simulando um evento de *heatwave*.
iiii) Comparar os limites e índices de tolerância térmicas para as três espécies, entre os quatro pontos durante as estações do ano.

3. MATERIAL & MÉTODOS

3.1 – Área de estudo

As coletas e experimentos ocorreram em quatro pontos distintos da sub-bacia do Rio Preto (Itanhaém/SP) (Fig. 6), a saber: Ponto 01 (P1), sendo o próprio Rio Panema, um local mais aberto, com maior profundidade e largura, e uma zona ripária desmatada na margem leste (Fig. 7); Ponto 02 (P2), um riacho lateral, com mata mais fechada, e regiões sombreadas (Fig. 8); Ponto 03 (P3), riacho que corre em uma estrada marginal e forma uma pequena lagoa, com densa mata ao redor, mas margens desmatadas beirando a estrada (Fig. 9); Ponto 04 (P4) o mais artificial, sendo uma vala de drenagem que acabou formando uma lagoa na beira da estrada, com pouca sombra e circulação de água (Fig. 10).

Em cada ponto, estação e experimento foram determinados a temperatura, pH, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido da água do riacho, com o auxílio de um medidor multiparâmetro (Horiba U-50), enquanto amostras de água (100 ml) foram coletadas em triplicata em frascos âmbar, e armazenadas em gelo (até o laboratório, onde foram armazenadas em geladeira), para posterior determinação da concentração de amônia e outros íons dissolvidos (Na^+, Cl^-). Os dados do regime térmico de cinco dias pretéritos aos experimentos foram coletados utilizando *data loggers* Hobo – Pendant MX Temp (± 0.5°C), uma vez que já foi relatado forte influência dos últimos dias de exposição térmica nos resultados do CTMáx dos organismos (Leclair et al., 2020).

3.2 – Coleta de animais e experimentos

Os indivíduos das espécies de peixes *Hyphessobrycon reticulatus* (Tetra Reticulado), *Phalloceros reisi* (Guaru/Barrigudinho) e *Scleromystax barbatus* (Coridora Bandada) foram coletados nos 4 pontos de coleta descritos acima, com exceção de *S. barbatus* no Ponto 04 que não foi coletado em nenhuma das 4 campanhas. As capturas foram feitas com auxílio de peneiras, puçás, redes e armadilhas/covos (Fig. 11). Essas espécies foram escolhidas por serem abundantes em praticamente todos os pontos de coleta previamente analisados, o que lhes confere uma relevância ecológica, e ao mesmo tempo diminuiu o risco de não capturar as espécies em algum ponto ou estação, como foi verificado para algumas espécies em expedições prévias, o que prejudicaria as comparações a análises.

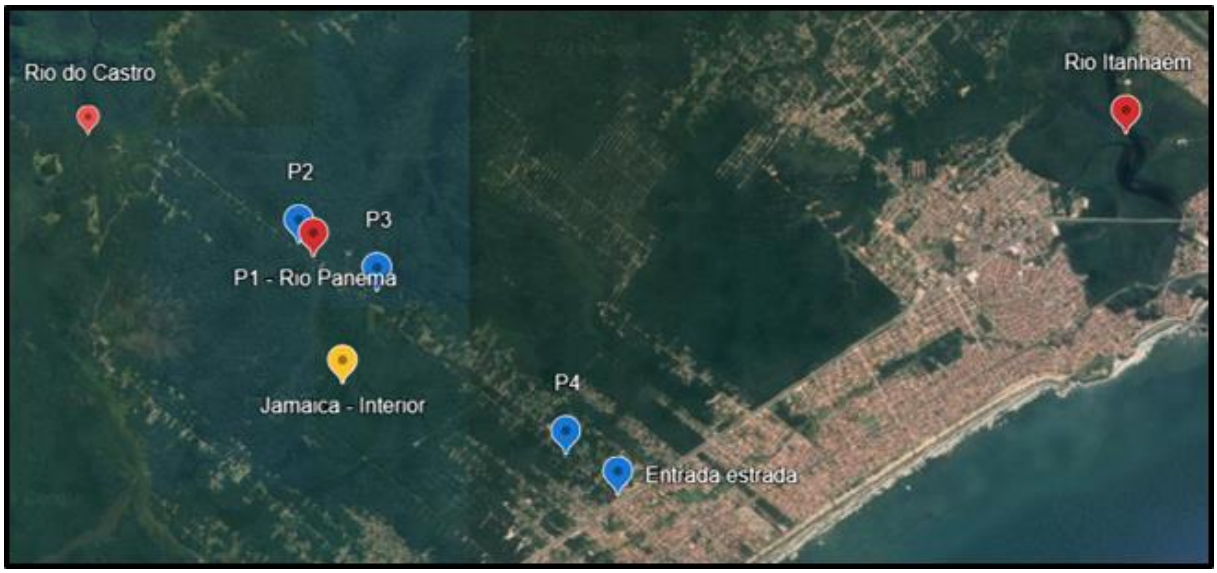


Fig. 6: Mapa hidrográfico da planície costeira da bacia do Rio Itanhaém (Itanhaém/SP), identificando os quatro pontos de coleta e o Rio Panema.

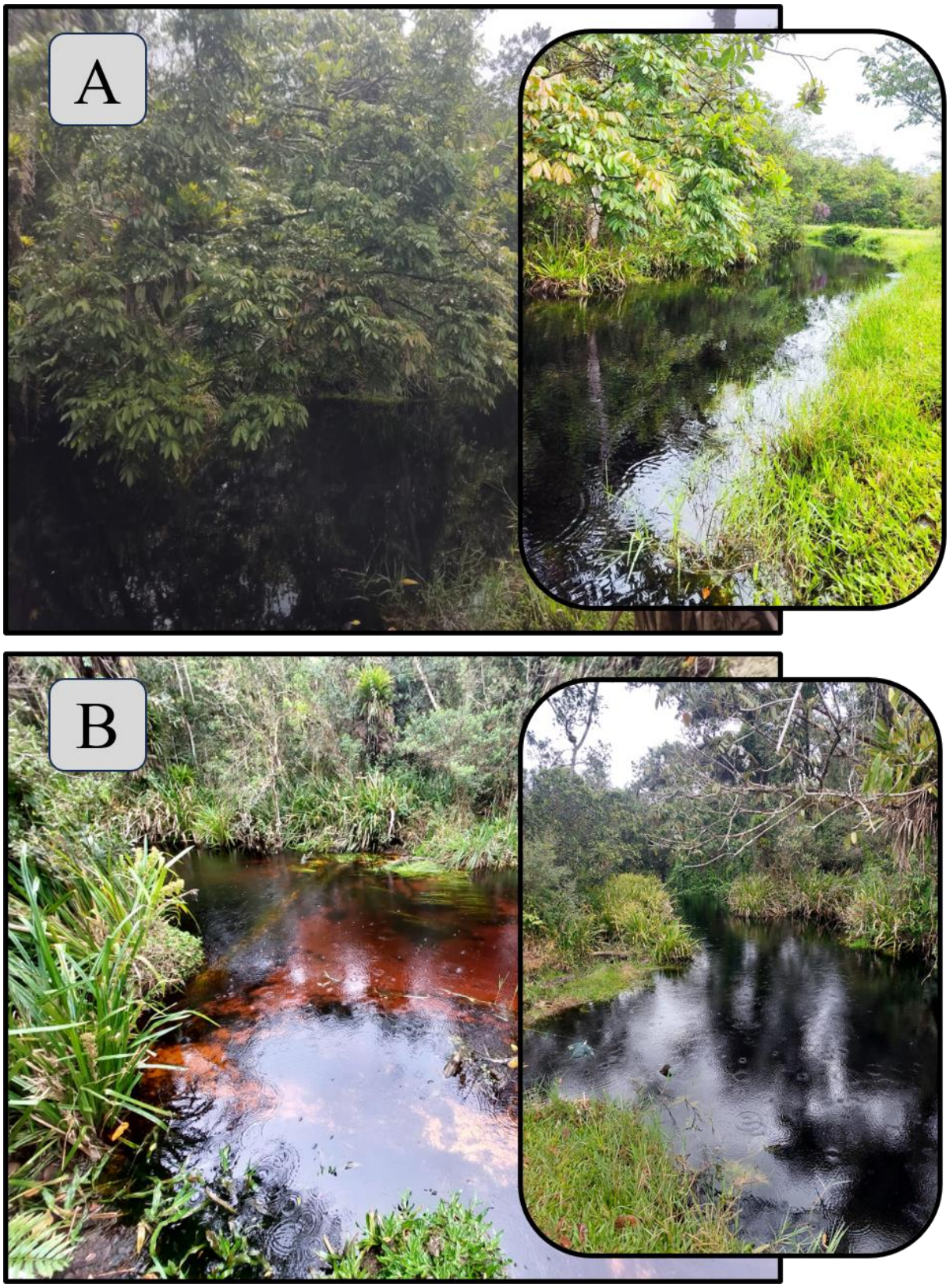


Fig. 7: Fotos da margem esquerda (A) e direita (B) do Ponto 1 (P1)

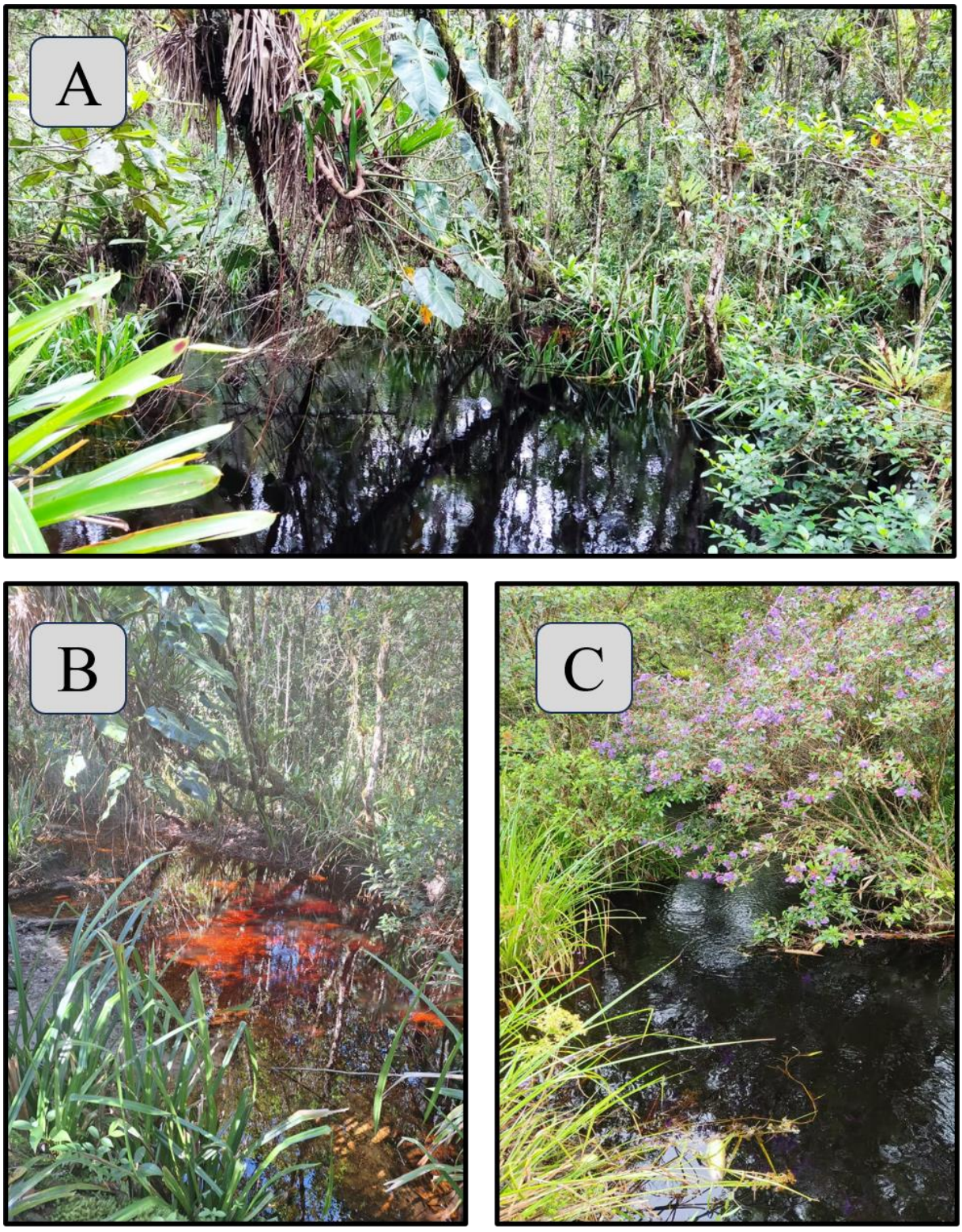


Fig. 8: Fotos do Ponto 2 (P2), mostrando a porção mais próxima à estrada (C), e mais adentro do riacho (A e B)

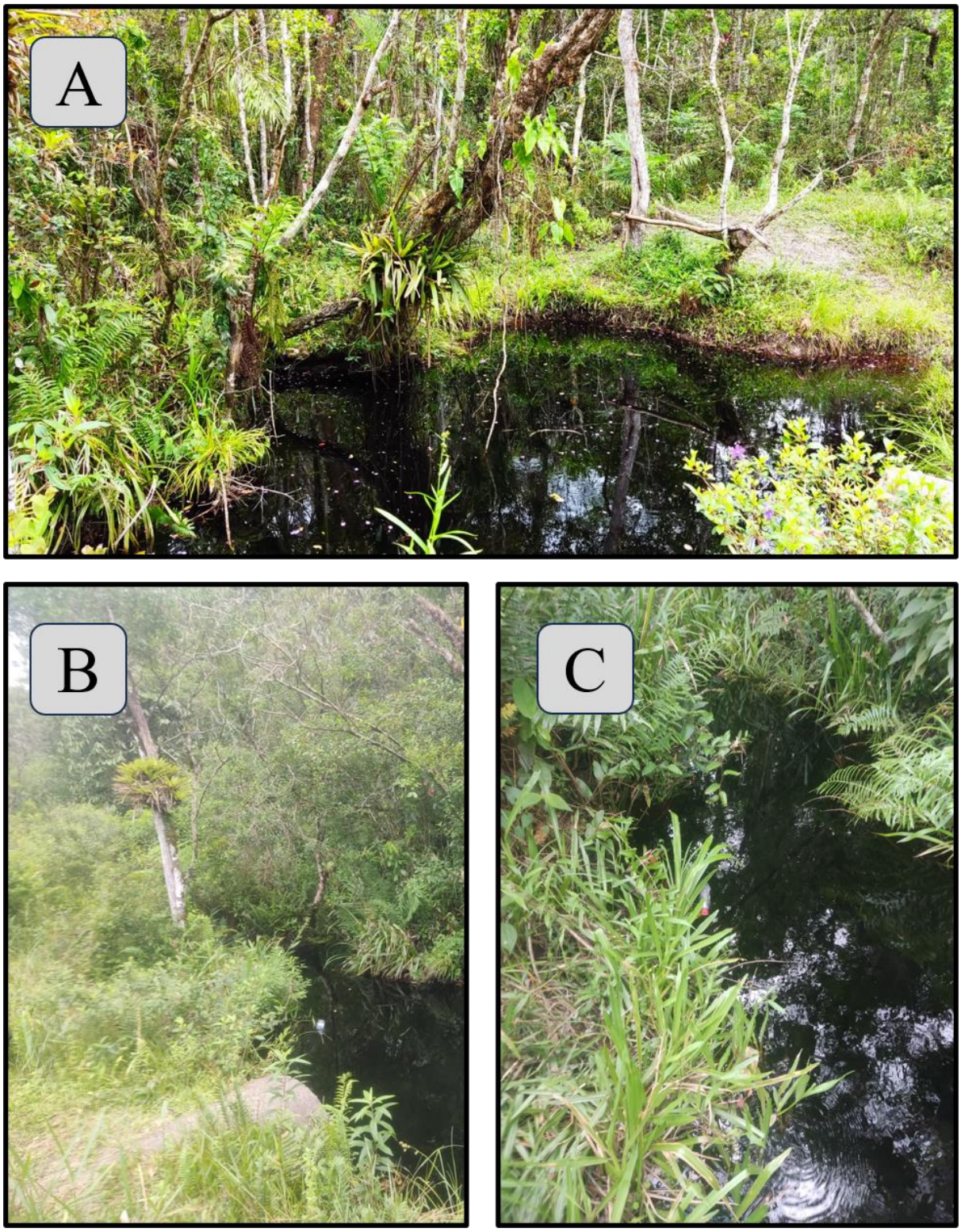


Fig. 9: Fotos do Ponto 3 (P3), evidenciando a pequena lagoa (A), um canal de drenagem (B) que cruza a estrada, e a porção do riacho que corre dentro do fragmento florestal (C).

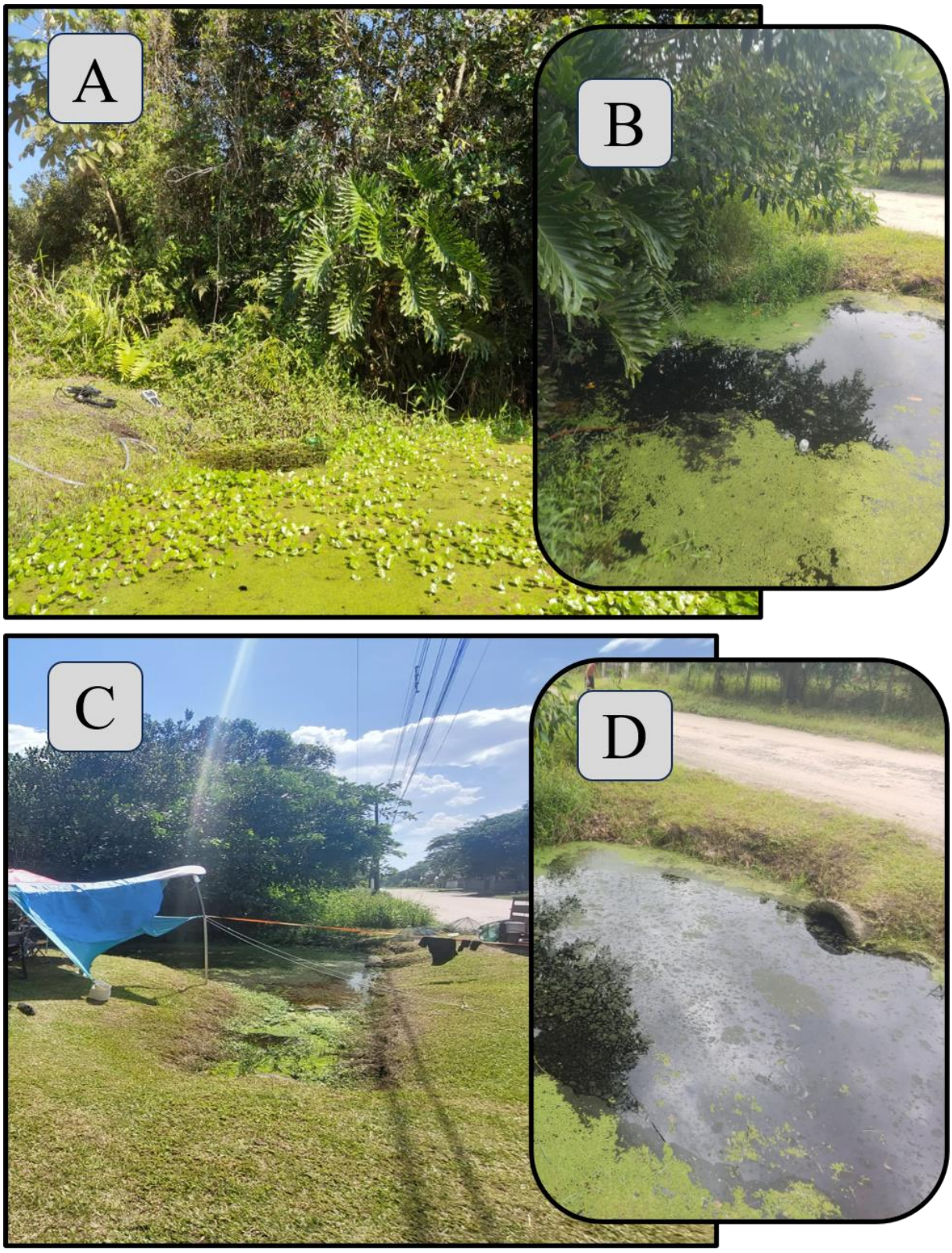


Fig. 10: Fotos do Ponto 4 (P4), em A e B a poça formada pela vala de drenagem, em C uma casa e bar que fica ao lado, e em D o canal de drenagem e a estrada que beira o local

Após capturados, os animais foram alocados em tanques plásticos de 20 L, com água do próprio local de coleta, com aeração constante, e destinados para a estrutura experimental montada *in situ* próximo ao local de coleta, onde foram realizados os testes para a determinação do CTMáx e da TSM, por meio do protocolo adaptado de Leclair et al. (2020) – experimento de exposição aguda. Em cada um dos quatro pontos amostrais (Fig. 7-11), as coletas foram realizadas trimestralmente, representando os períodos de Outono (junho/2023), Inverno (setembro/2023) e Primavera (dezembro/2023) e Verão (fevereiro/2024) do ciclo hidrológico local; os experimentos foram realizados tentando evitar frentes de frio ou calor, para melhor representar a média das temperaturas de cada estação, o que não permitiu um intervalo uniforme das coletas, ou realizá-las no meio das estações. Em cada ponto e período amostral foram coletados 10 indivíduos de cada espécie (N=10) para a realização do experimento para a determinação da CTMáx e TSM. Todos os procedimentos experimentais e de coleta e transporte dos animais foram submetidos e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da unidade (projeto nº 13/2022-CEUA), e ao SISBIO (número 95674-1).



Fig. 11: métodos de coleta e petrechos de pesca utilizados durante as coletas e experimentos em campo.

3.3 – Procedimentos Experimentais

3.3.1 – CTMáx em campo

Para realização da rampa do CTMáx, os peixes foram alocados em um recipiente de 20 L, em cinco cestas plásticas, contendo dois organismos cada (adaptado de Turko et al. 2020) com divisórias e telas para não haver fugas, permitindo rodar 10 animais por teste. Havia um sistema de recirculação de água, que direcionava água do ambiente constantemente, mantendo os animais na mesmas condições físico-químicas que se encontravam no ambiente natural na hora da coleta (Fig. 12). Tal renovação acontecia durante 30 minutos, tempo estipulado para a redução do estresse de coleta e manuseio. Após isso, a circulação da água foi interrompida, e a rampa térmica iniciada. Utilizou-se uma resistência de 500 W, capaz de aquecer os 20 L de água a uma taxa 0,3°C/mín., sendo a rampa mais utilizada nos trabalhos de temperatura crítica, pois permite um aquecimento homogêneo do animal, sem que haja um choque térmico, nem uma aclimatação térmica (Anlauf-Dunn et al., 2022; Becker & Genoway, 1979; Brahmane et al., 2020; McDonnell & Chapman, 2015; Roni et al., 2019).

Assim que o animal atingia o LOE (Beitinger et al., 2000), o qual indica uma desorganização fisiológica no animal causada direta ou indiretamente pela temperatura (McDonnell & Chapman, 2015), eram contados 30 segundos e a temperatura medida com o auxílio de um termômetro Full Gauge (TIC-17RGTi - ± 0,1°C) foi anotada para o cálculo posterior da CTMáx. Em seguida os peixes foram realocados em outro recipiente com água (mistura de água quente do teste e fresca do riacho), sendo então anestesiados e eutanasiados com Etil 3-aminobenzoato metanosulfato (MS222) para biometria (pesagem e medição). A metodologia deste teste *in situ*, realizado ao lado do ponto de coleta (*streamside*), foi adaptado e inspirado no trabalho de Leclair e colaboradores (2020) realizado com trutas no Canadá. Durante todo o experimento a temperatura foi monitorada por meio de termômetro digital (Full Gauge)



Fig. 12: demonstração da estrutura experimental *streamside*, mostrando os equipamentos utilizados e onde os animais eram dispostos para realização do CTMáx.

3.3.2 – CTMáx em laboratório (simulação *heatwaves*)

Ao final dos experimentos do Verão, 10 indivíduos de *H. reticulatus* e 10 de *P. reisi* foram capturados no P2, alocados em baldes de 20 L com aeração constante e levados imediatamente para Laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia Aquática (LECTA), do Instituto de Biociências do Campus do Litoral Paulista (IB/CLP) da Unesp, para começar os experimentos de simulação de onda de calor (HW). Não foi possível realizar o experimento de HW com *S. barbatus* pois não foram capturados indivíduos suficientes.

Chegando ao laboratório, os espécimes foram imediatamente dispostos em aquários, e 50% da água foi renovada, com água coletada no P2. A temperatura foi aumentada 1°C por dia, até atingir 30°C, o que corresponde a uma temperatura 5°C acima da média do Verão em P2 (24,82°C ± 0,02). Após atingir a temperatura desejada, os organismos foram mantidos por cinco dias a esta temperatura, simulando um evento de HW, e então foram realizados os testes de CTMáx, tal como descrito acima (Fig. 13).

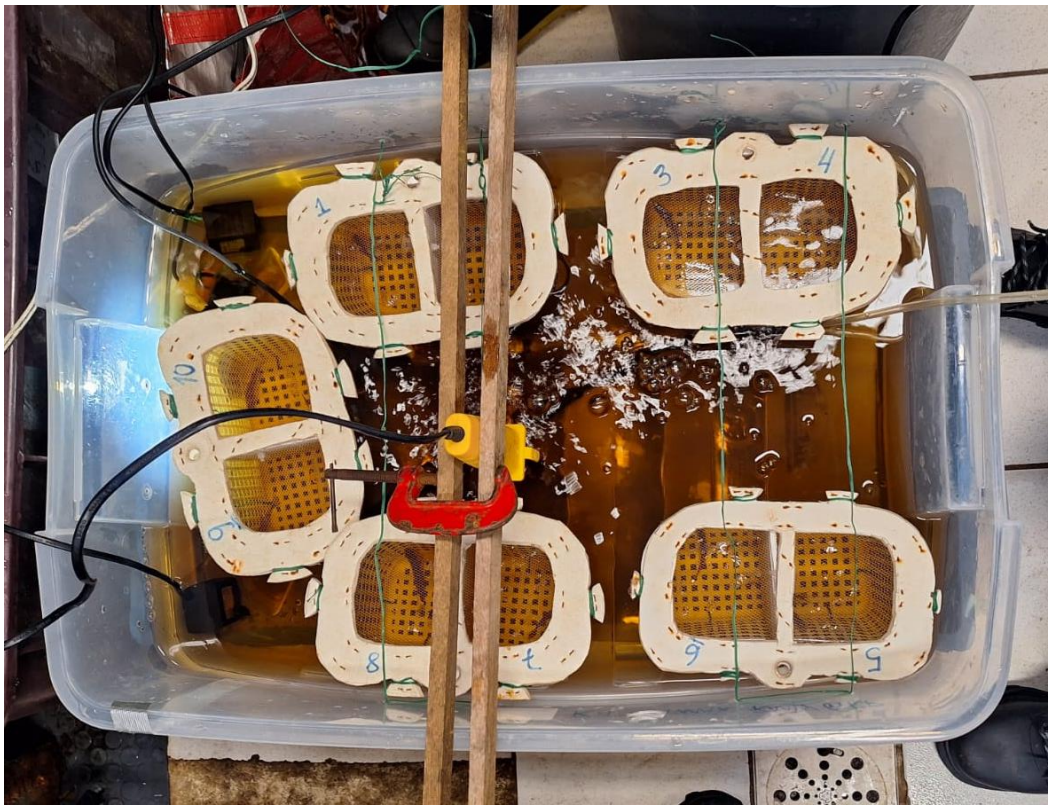


Fig. 13: Caixa experimental montado em laboratório, para realizar o CTMáx pós-aclimatação a evento de HW.

3.4 – Técnicas Analíticas e Cálculos

3.4.1 – CTMáx, TSM e ARR

A partir dos valores de CTMáx e das temperaturas ambientais registradas em cada período do ciclo hidrológico (i.e Verão, Outono, Inverno e Primavera), as margens de segurança térmica (TSM) foram calculadas para todos os animais. Assim, a TSM foi determinada pela subtração da média da temperatura ambiental (Ta), em cada ponto durante cada estação, da CTMáx obtida para cada indivíduo (CTMáx – Ta), obtendo-se uma média para cada espécie e local amostrado. A ARR foi calculada a partir da seguinte fórmula: $((CTMáx_{Verão} - CTMáx_{Outono})/(Ta_{Verão}-Ta_{Outono}))$, ou seja, subtraindo os menores valores (ocorreram no Outono) dos maiores valores (ocorreram na Verão) de CTMáx, e dividindo pela diferença de Ta do ambiente entre os dois períodos, sendo os dois períodos com maiores e menores temperaturas médias, respectivamente.

3.4.2 – Coeficiente de variação intraespecífico

O coeficiente de variação (CV) intraespecífico (em porcentagem) foi obtido a partir do desvio padrão (DV) e a média dos valores de CTMáx e TSM em cada experimento, sendo obtido a partir da seguinte fórmula (Madeira et al. 2017):

$$\%\text{CV} = \left(\frac{\text{DV}}{\text{Média}}\right) \text{x } 100$$

3.4.3 – Íons

A concentração de Na^+ na água dos riachos foi determinada por meio de fotometria de chama, enquanto a concentração de Cl^- foi determinada pelo ensaio colorimétrico descrito por Zall e colaboradores (1956). A determinação da concentração de amônia seguiu o protocolo de Verdouw e colaboradores (1978), que ocorre através da formação de indofenol por meio da reação entre o salicilato de sódio e o hipoclorito na presença de nitroprussiato de sódio.

3.5. Análise estatística

Todas as análises estatísticas e gráficos foram realizadas através dos softwares SigmaStat e SigmaPlot, respectivamente. Os valores de CTMáx e TSM para cada espécie e temperatura de aclimação foram expressos como Média ± SEM. As diferenças entre os valores de CTMáx e TSM entre as espécies, nas diferentes estações e pontos foram determinadas por meio de Análise de variância de dois fatores (ANOVA two-way), sendo as estações e pontos considerados como fatores da ANOVA. As diferenças significativas foram testadas por meio de teste a posteriori de Holm Sidak. Para os dados de *heatwave* foram usados os mesmos programas e testes estatísticos (ANOVA two-way e teste a posteriori de Holm Sidak), porém os fatores foram as duas espécies (*H. reticulatus* e *P. reisi*) e as quatro estações em P2 junto ao regime simulado de *heatwave*.

4. RESULTADOS:

4.1. Parâmetros ambientais e biometria

A figura 14 apresenta a variação e amplitude térmica nos riachos ao longo das 4 coletas, nos 5 dias anteriores à determinação da CTMáx dos peixes, medida por meio de *data loggers*, pois este intervalo pode influenciar diretamente na tolerância térmica (Leclair et al., 2020). Durante o ciclo hidrológico anual a temperatura da água variou de 18,5 a 25,39 °C em P1, 17,98 a 24,82°C em P2, 17,26 a 24,9°C em P3 e 18,64 a 25,15°C em P4 (variação média de quase 7ºC ao longo do ciclo hidrológico). Os menores e maiores valores para cada estação foram: Outono 17,07°C ± 0,03 (P3) a 18,64°C ± 0,05 (P4); Inverno 19,97°C ± 0,03 (P2) a 21,44°C ± 0,02 (P4); Primavera 22,95°C ± 0,02 (P2) a 24,66°C ± 0,06 (P4); e 24,82°C ± 0,02 (P2) a 25,39°C ± 0,02 (P1) no Verão.

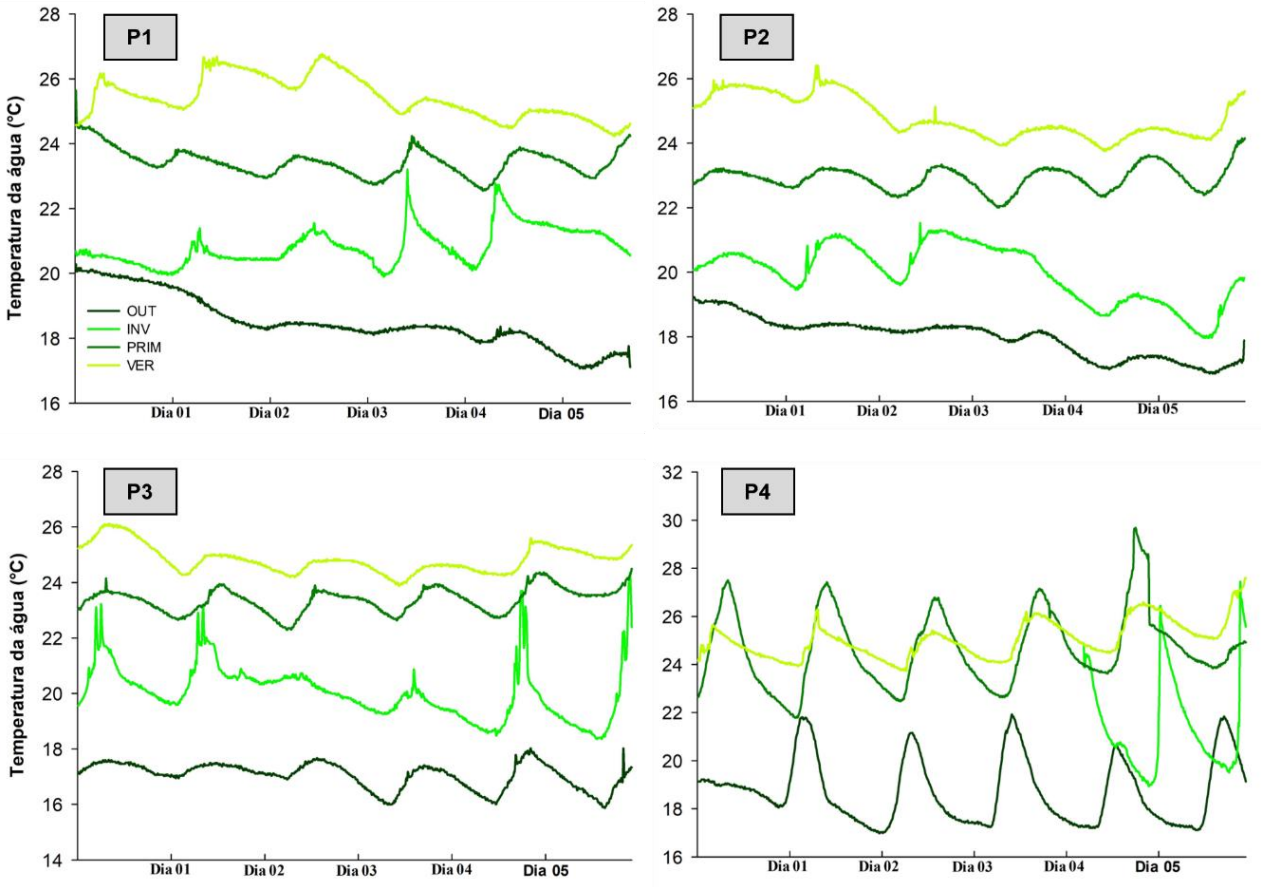


Fig. 14: Variação da temperatura dos quatro pontos, nas estações do ano, durante 5 dias pretéritos aos experimentos.

Já os valores de pH variaram entre 3,85 ± 0,04 e 4,33 ± 0,11 em P1; 3,40 ± 0,03 e 3,87

± 0,08 em P2; 3,59 ± 0,01 e 4,14 ± 0,06 em P3; e 3,80 ± 0,03 e 4,61 ± 0,11 em P4. O oxigênio (mg/L) foi de 1,29 ± 0,13 a 3,77 ± 0,25 em P1; 1,44 ± 0,10 a 4,01 ± 0,16 em P2; 1,78 ± 0,18 a 3,89 ± 0,24 em P3; e 0,35 ± 0,14 a 2,82 ± 0,15 em P4. A condutividade atingiu valores de 63 ± 9 a 79 ± 1 em P1; 49 ± 3 a 88 ± 2 em P2; 68 ± 3 a 75 ± 1 em P3; e 52 ± 5 a 94 ± 8 em P4. Já o sódio (Na^+) (µM) foi de 219 ± 0 a 293 ± 8 em P1; 162 ± 8 a 244 ± 8 em P2; 178 ± 8 a 260 ± 8 em P3; e 268 ± 16 a 375 ± 8 em P4. O cloreto (Cl^-) (µM) variou de 394 ± 26 a 496 ± 24 em P1; 323 ± 29 a 438 ± 29 em P2; 307 ± 26 a 457 ± 26 em P3; e 531 ± 26 a 617 ± 26 em P4. E por fim, a amônia (NH_4) (µM) foi de 0 a 20,523 ± 6,722 em P1; 1,782 ± 1,13 a 52,932 ± 7,002 em P2; 0 a 62,483 ± 8,002 em P3; e 0 a 18,088 ± 3,519 em P4. Todas as médias dos parâmetros físico-químicos da água nos pontos e estações estão dispostos na tabela 1.

O peso (g) médio (média ± erro padrão) de *H. reticulatus* em P1 foi de 1,563 ± 0,097; em P2 2,090 ± 0,154; em P3 1,623 ± 0,153, e em P4 1,649 ± 0,095. Seguindo a mesma ordem dos pontos de coleta, para *P. reisi* os valores foram 0,308 ± 0,024; 0,427 ± 0,022; 0,427 ± 0,022; 0,246 ± 0,023. Para *S. barbatus*, os valores foram 1,981 ± 0,188; 1,658 ± 0,152; 1,539 ± 0,121; 1,882 ± 0,197. Os pesos para cada ponto, independente das estações, estão descritos na tabela 2.

Tabela 2. Pesos (g) das três espécies considerando as quatro estações, nos quatro pontos de coleta. Dados expressos como média ± erro padrão.

	Peso (g)		
Ponto	*H. reticulatus*	*P. reisi*	*S. barbatus*
P1	1,563 ± 0,097	0,308 ± 0,024	1,981 ± 0,188
P2	2,090 ± 0,154	0,427 ± 0,022	1,658 ± 0,152
P3	1,623 ± 0,153	0,264 ± 0,017	1,539 ± 0,121
P4	1,649 ± 0,095	0,246 ± 0,023	-

Tabela 1: Dados ambientais, obtidos através de sonda multiparâmetro (Horiba-U50) e data logger (Hobo). Dados expressos como média ± erro padrão (exceto para temperatura, expressos como média e variação mínima e máxima).

	Ponto 1				Ponto 2			
	Out.	**Inv.**	**Prim.**	**Ver.**	**Out.**	**Inv.**	**Prim.**	**Ver.**
Ta (°C)	18,52 (16,6–21,75)	20,54 (20,29-25,95)	23,45 (22,56-24,79)	25,39 (24,24-26,77)	18,38 (16,99-20,42)	20,28 (19,47-21,53)	22,93 (22,01-24,66)	24,82 (23,76-26,38)
pH	3,85 ± 0,04	3,86 ± 0,03	4,33 ± 0,11	4,04 ± 0,06	3,48 ± 0,03	3,40 ± 0,03	3,87 ± 0,08	3,57 ± 0,09
O_2 (mg/L)	1,29 ± 0,13	1,95 ± 0,17	1,57 ± 0,22	3,77 ± 0,25	1,44 ± 0,10	4,01 ± 0,16	1,87 ± 0,15	3,99 ± 0,22
NH_4 (µM)	0	13,218 ± 1,649	20,523 ± 6,722	0,383 ± 0,383	2,805 ± 1,342	10,927 ± 1,193	52,932 ± 7,002	1,782 ± 1,13
Na^+ (µM)	219 ± 0	293 ± 8	293 ± 8	268 ± 66	162 ± 8	170 ± 33	244 ± 8	162 ± 8
Cl^- (µM)	394 ± 26	407 ± 24	496 ± 24	472 ± 24	363 ± 26	323 ± 29	438 ± 29	377 ± 29
Cond, (µS/cm)	76 ± 3	66 ± 5	79 ± 1	63 ± 9	69 ± 5	83 ± 1	88 ± 2	49 ± 3
	Ponto 3				**Ponto 4**			
	Out.	**Inv.**	**Prim.**	**Ver.**	**Out.**	**Inv.**	**Prim.**	**Ver.**
Ta (°C)	17,06 (15,85-18,44)	20,24 (18,49-26,12)	23,36 (22,31-25,01)	24,90 (23,89-26,12)	19,28 (16,99-23,89)	23,15 (18,96-27,50)	23,95 (21,79-27,50)	25,15 (23,76-27,71)
pH	3,66 ± 0,02	3,59 ± 0,01	4,14 ± 0,06	3,67 ± 0,11	3,80 ± 0,03	4,03 ± 0,17	4,61 ± 0,11	4,50 ± 0,12
O_2 (mg/L)	1,83 ± 0,14	2,72 ± 0,12	1,78 ± 0,18	3,89 ± 0,24	0,91 ± 0,15	0,58 ± 0,23	0,35 ± 0,14	2,82 ± 0,15
NH_4 (µM)	0	27,658 ± 2,209	62,483 ± 8,002	0	0	13,721 ± 2,374	18,088 ± 3,519	9,141 ± 4,582
Na^+ (µM)	186 ± 0	236 ± 0	260 ± 8	178 ± 8	301 ± 0	375 ± 8	317 ± 0	268 ± 16
Cl^- (µM)	307 ± 26	389 ± 26	457 ± 26	336 ± 26	537 ± 26	617 ± 26	612 ± 26	531 ± 26
Cond, (µS/cm)	69 ± 1	68 ± 3	75 ± 1	75 ± 1	85 ± 5	87 ± 7	94 ± 8	52 ± 5

4.2 – Temperatura crítica máxima (CTMáx)

Os testes realizados com análises de variância (*two-way ANOVA*), tendo como fatores as estações do ano e pontos de coleta, indicaram que tanto o CTMáx quanto a TSM das três espécies foram significativamente influenciados pelas estações, pontos de coleta e interação entre estações e pontos, com $P < 0,001$ para todas as espécies e condições/interações, exceto para *S. barbatus*, onde o a diferença significativa entre pontos e TSM gerou um valor de $P = 0,041$, ainda significativo.

De modo geral, envolvendo todos os pontos, *H. reticulatus* não apresentou diferenças significativas entre o Outono (32,3°C ± 0,2) e Inverno (32,6°C ± 0,1) ($P = 0,210$), e Primavera (36,7°C ± 0,3) e Verão (37,1°C ± 0,2) ($P = 0,194$), mas sim entre o Outono e Primavera ($P = 0,017$) e Primavera e Inverno ($P = 0,025$); os valores do Verão diferiram tanto dos de Outono quanto dos da Primavera ($P = < 0,001$). No Outono, os menores valores de CTMáx para a espécie ocorreram em P3 (31,2°C ± 0,1), e os maiores em P2 (33,4°C ± 0,2); no Inverno variaram de 32,1°C ± 0,3 (P2) a 33,2°C ± 0,3 (P1); na Primavera de 35,3°C ± 0,7 (P3) a 37,8°C ± 0,1 (P4) e no Verão de 36,0°C ± 0,5 (P1) a 37,6°C ± 0,2 (P4). Com isso, foi possível verificar que *H. reticulatus* teve uma variação de aproximadamente 15 e 12% em seus valores mínimos e máximos de CTMáx, respectivamente, entre as estações. Por fim, considerando os pontos e estações, os menores valores ocorreram em P3 (31,2°C ± 0,1) no Outono, e os maiores em P4 (37,8°C ± 0,1) na Primavera.

Para *P. reisi*, o CTMáx apresentou o mesmo padrão observado para *H. reticulatus*, i.e., Primavera (38,2°C ± 0,2) diferente de Outono (33,5°C ± 0,4) e Inverno (34,7°C ± 0,3), enquanto o CTMáx no Outono e Inverno não diferiram significativamente entre si, assim como Primavera e Verão (37,5°C ± 0,3) (exceto para P4). Apesar disso, todos os pontos tiverem valores sazonais significativamente distintos entre Outono e Primavera ($P < 0.001$), exceto no P1 ($P = 0.669$) . Para a espécie no Outono, tanto os menores (31,8°C ± 0,5) quanto os maiores valores (33,4°C ± 0,2) ocorreram em P4; enquanto no Inverno variaram de 33,4°C ± 0,6 (P2) a 36,6°C ± 0,5 (P1), mesmo padrão e pontos observados em *H. reticulatus*.Já na Primavera, a espécie teve um CTMáx de 37,6°C ± 0,4 (P3) a 38,8°C ± 0,2 (P4), novamente, mesmo padrão visto na espécie da família Caracidae. *P. reisi* teve uma variação de aproximadamente 18 e 6% em seus valores mínimos e máximos de CTMáx, respectivamente, conforme as estações. Por fim, considerando os pontos e estações, os menores e maiores absolutos de temperatura crítica máxima ocorreram

ambos em P4, sendo (31,8°C ± 0,8), no Outono, (38,8°C ± 0,2), na Primavera, respectivamente.

Diferente do observado para as outras duas espécies aqui estudadas, *S. barbatus* demonstrou diferenças significativas em seu CTMáx entre as estações (P <0.001), exceto entre Outono e Inverno ($P = 0,46$). As médias foram de 31,2°C ± 0,2 no Outono, 31,0°C ± 0,2 no Inverno, 35,0°C ± 0,2 na Primavera e 35,8 ± 0,2 no Verão. Independente da estação, o CTMáx em P1 (33,7 ± 0,1) foi diferente de P2 (33,1 ± 0,1) e P3 (32,9 ± 0,1), mas P2 e P3 não apresentaram diferenças entre si. Utilizando-se os petrechos de pesca deste trabalho, a espécie não foi encontrada em P4. Dentro das estações, os menores e maiores valores foram, respectivamente: 29,6°C ± 0,1 (P3) e 32,6°C ± 0,2 (P1) no Outono; 30,6°C ± 0,2 (P2) e 31,8°C ± 0,2 (P1) no Inverno; 34,7°C ± 0,2 (P3) e 35,2°C ± 0,4 (P2) na Primavera; e 35,3°C ± 0,3 (P1) e 36,6°C ± 0,4 (P3) no Verão. *S. barbatus* variou sua CTMáx entre 17 e 10% em seus valores mínimos e máximos de CTMáx, respectivamente, conforme as estações, sendo que as porcentagens dos valores máximos foram semelhantes aos de *P. reisi* e *H.* reticulatus, mas não aos valores mínimos de *P. reisi*, que apresentaram uma variação menor (6%). Por fim, considerando os pontos e estações, a espécie desempenhou os menores valores de temperatura crítica durante o Outono em P3 (29,6°C ± 0,1), e maiores durante o Verão, no P3 (36,6°C ± 0,4).

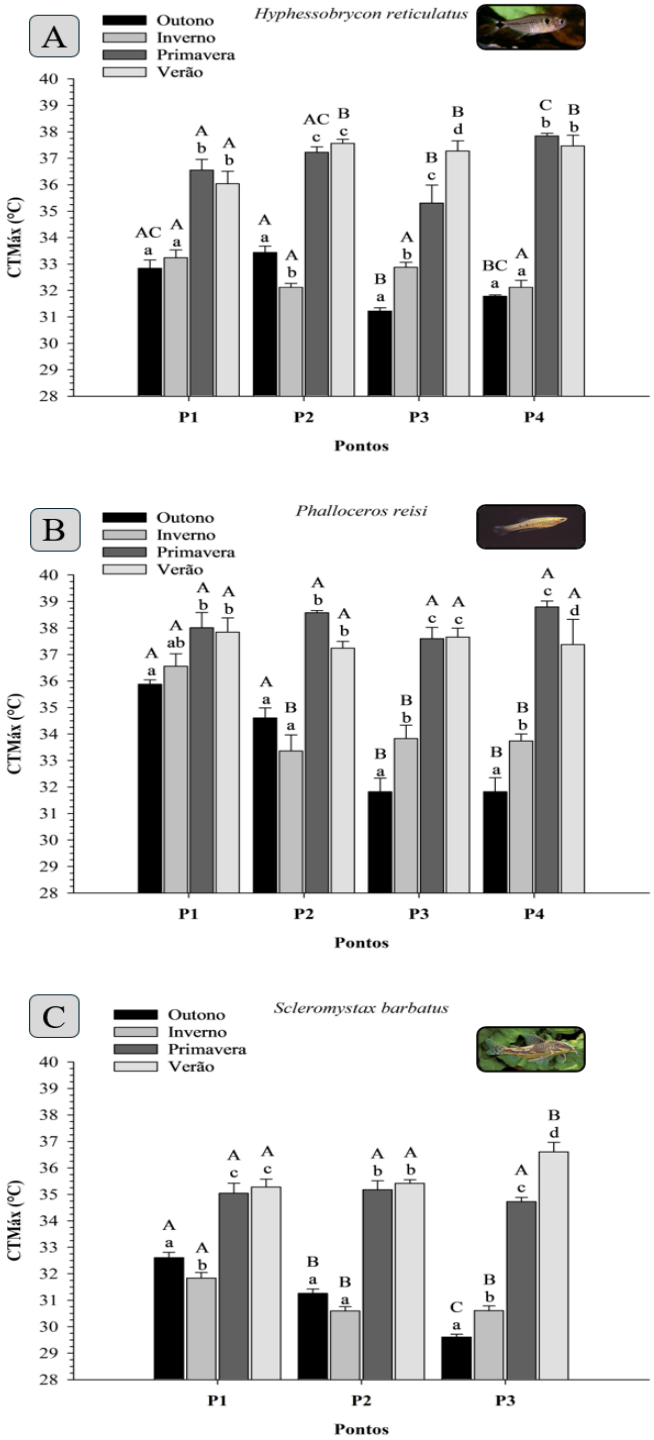


Fig. 15: Valores da temperatura crítica máxima (CTMáx) das espécies *H. reticulatus* (A), *P. reisi* (B) e *S. barbatus* (C) obtidos em 4 pontos da micro bacia do Rio Preto ao longo das 4 estações do ano. Letras iguais representam que não há diferenças significativas; letras diferentes, demonstram diferenças significativas entre os tratamentos. Letras maiúsculas indicam diferenças entre os pontos em cada estação, e minúsculas entre as estações em cada ponto.

4.2 – Margem de segurança térmica (TSM)

Para as três espécies, a TSM decresceu conforme o aumento da Ta. Para *H. reticulatus*, os menores e maiores valores por estação foram, respectivamente: 13,1°C ± 0,1 (P4) e 15,5°C ± 0,2 (P2) no Outono; 11,2°C ± 0,3 (P4) e 12,8°C ± 0,2 (P3) no Inverno; 11,9 °C ± 0,7 (P3) e 14,3°C ± 0,2 (P2) na Primavera; e 12,3°C ± 0,5 (P1) a 12,7°C ± 0,2 (P2) no Verão. O menor valor foi de 11,2°C ± 0,3 (Inverno P4) e o maior 15,5°C ± 0,2 (Outono P2), o que resulta em uma variação de aproximadamente 38% na TSM da espécie. Levando em conta todas as estações, apenas P2 diferiu significativamente dos demais pontos ($P < 0,001$); quanto as estações, todas diferiram entre si ($P < 0,001$), exceto para Primavera vs. Verão ($P < 0,002$) e Verão vs. Inverno ($P < 0,007$).

Já para *P. reisi*, os menores e maiores valores por estação foram, respectivamente: 13,2°C ± 0,5 (P4) e 18,5°C ± 0,2 (P1) no Outono; 12,8°C ± 0,3 (P4) e 16,6°C ± 0,2 (P2) no Inverno; 14,1 °C ± 0,2 (P4) e 15,6°C ± 0,1 (P2) na Primavera; e 12,3°C ± 1,0 (P4) a 12,8°C ± 0,3 (P3) no Verão. O menor valor foi de 12,2°C ± 1,0 (Verão P4) e o maior 18,5°C ± 0,2 (Outono P1), o que resulta em uma variação de aproximadamente 51% na TSM da espécie. Dentro de um período hidrológico completo, a TSM foi diferente em todos os pontos ($P < 0,001$), exceto entre P1 e P2 ($P = 0,988$) e P3 e P4 ($P = 0,053$); quanto as estações, todas diferiram entre si, com $P < 0,001$, exceto para Primavera vs. Inverno ($P = 0,601$).

Por fim, para *S. barbatus*, os menores e maiores valores por estação foram, respectivamente: 12,3°C ± 0,1 (P3) e 15,3°C ± 0,2 (P1) no Outono; 10,6°C ± 0,2 (P2) e 11,0°C ± 0,2 (P1) no Inverno; 11,3 °C ± 0,2 (P3) e 12,2°C ± 0,3 (P2) na Primavera; e 9,9°C ± 0,3 (P1) a 11,7°C ± 0,3 (P3) no Verão. O menor valor foi de 9,9°C ± 0,3 (Verão P1) e o maior 15,3°C ± 0,2 (Outono P1), o que resulta em uma variação de aproximadamente 54% na TSM da espécie. No decorrer das quatro estações, a TSM foi diferente apenas entre P1 e P3 ($P = 0,036$); quanto as estações, todas diferiram entre si, com $P < 0,001$, exceto para Inverno e Verão ($P = 0,96$).

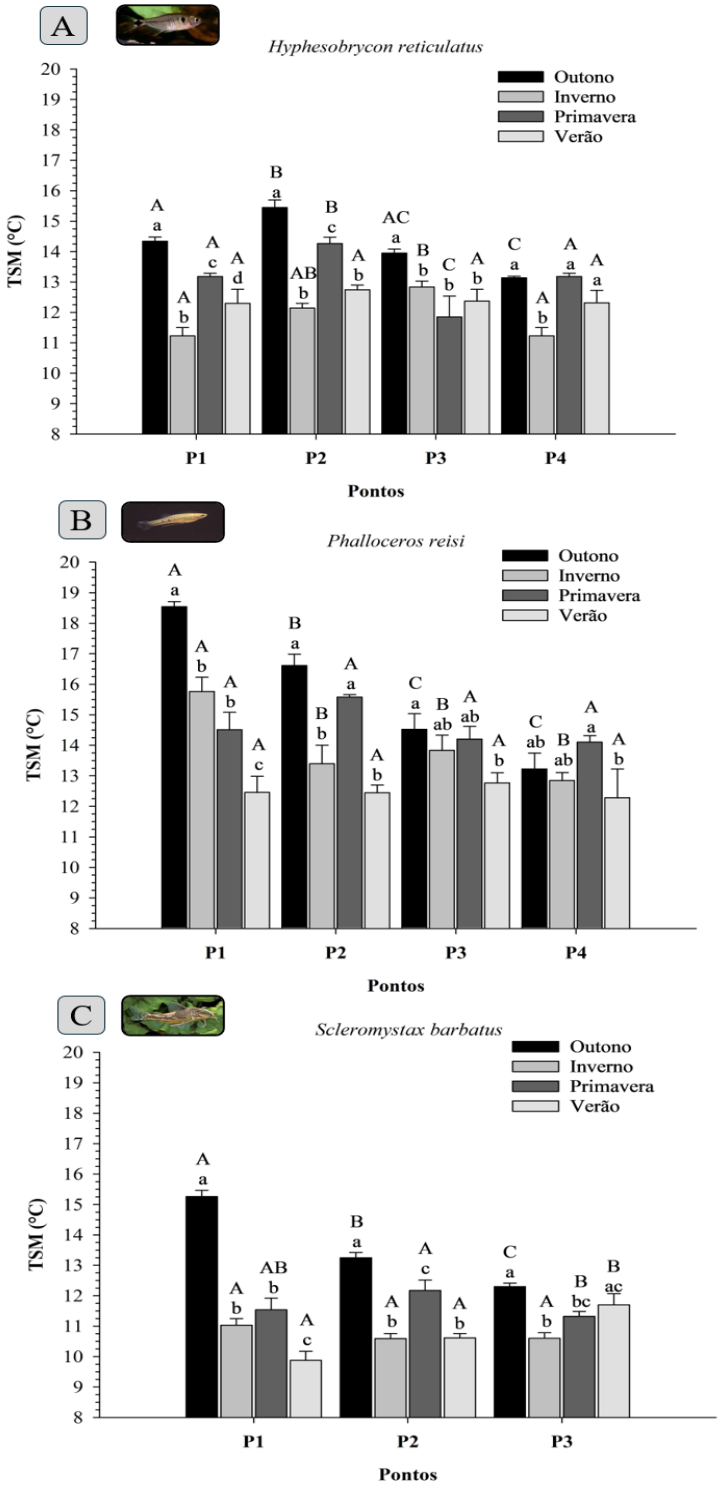


Fig. 16: Valores de testes ANOVA de 2 fatores (estações e pontos), para TSM das espécies *H. reticulatus* (A), *P. reisi* (B) e *S. barbatus* (C). Letras iguais representam que não há diferenças significativas; letras diferentes, demonstram diferenças significativas entre os tratamentos. Letras maiúsculas indicam diferenças entre os pontos em cada estação, e minúsculas entre as estações em cada ponto.

4.3 – Capacidade de aclimatação térmica (ARR) e %CV

De modo geral, para as espécies *H. reticulatus* e *P. reisi* os menores valores de ARR ocorreram em P1 e P2, e os maiores em P4. Enquanto isso, para *S. barbatus*, a menor ARR também ocorreu em P1, porém a maior em P3; apesar disso, a espécie não foi capturada em P4, o que não permite inferir sobre sua capacidade de aclimatação neste local.

S. barbatus apresentou o maior valor de ARR (0,89, em P3, enquanto o menor valor foi de 0,29 para *P. reisi* em P1 (Tabela 2). Já o menor e o maior valor de %CV (Tabela 3) foi 0,6 em P1 no Outono, para *H. reticulatus*, e 7,2 em P3 no Outono para *P. reisi*. As três espécies apresentaram "padrões" diferentes de ARR e coeficiente de variação (CV) da CTMáx, conforme os pontos e estações. A maior ARR de *H. reticulatus* foi em P4, de *P. reisi* em P4 e *S. barbatus* em P3, por exemplo. Já os maiores valores médios de %CV ocorreram na Primavera para *H. reticulatus* (3,1) e *S. barbatus* (2,5) e no Verão para *P. reisi* (4,2).

Tabela 3. Valores de ARR para as três espécies, dentro dos pontos de coleta e durante as 4 estações do ano. A ARR foi calculada a partir da diferença dos valores de CTMáx em função da amplitude térmica de cada ponto utilizando os dados de temperatura da água nos períodos de outono e primavera

	ARR		
Ponto	*H. reticulatus*	*P. reisi*	*S. barbatus*
P1	0,46	0,29	0,39
P2	0,60	0,38	0,61
P3	0,77	0,75	0,89
P4	0,88	0,86	-
HW	0,52	0,64	-

Tabela 4. Valores de %CV do CTMáx para as três espécies, dentro dos pontos de coleta e durante as 4 estações do ano

		% CV		
Estação	Ponto	*H. reticulatus*	*P. reisi*	*S. barbatus*
Outono	*P1*	3,1	1,4	2,0
	P2	2,3	3,4	1,7
	P3	1,3	5,4	1,2
	P4	0,6	4,9	-
Inverno	*P1*	2,9	4,1	2,2
	P2	1,5	5,8	1,7
	P3	1,9	4,7	1,9
	P4	2,7	2,5	-
Primavera	*P1*	3,5	4,8	3,1
	P2	1,8	0,7	3,1
	P3	6,2	3,6	1,4
	P4	0,9	1,8	-
Verão	*P1*	4,0	4,5	2,4
	P2	1,3	2,2	1,1
	P3	3,3	2,8	3,2
	P4	3,5	7,2	-
	HW	0,9	2,4	-

4.4 – Estações vs. *Heatwave*

Ambas as espécies, *H. reticulatus* e *P. reisi*, levadas ao laboratório para os experimentos de regime térmico aumentado (simulação de onda de calor) foram capazes de aumentar seus CTMáx. Isso demonstra que foram capazes de aclimatar-se a temperaturas mais elevadas que as médias do Verão, condição que estavam em campo antes do experimento. As duas espécies não apresentaram diferenças entre seus CTMáx (Fig. 17) conforme os pontos durante o Verão, mas os valores em laboratório foram significativamente maiores que as médias em todos os locais nesta estação. Apesar disso, os valores de TSM durante a simulação de HW (Fig. 17) foram os menores quando comparados aos valores no ambiente natural, para ambas as espécies.

Os organismos utilizados nas simulações foram coletados em P2, onde no Verão foi registrada uma temperatura média de 24,82°C ± 0,02. Com um CTMáx de 40,3°C ± 0,1 (~3°C acima da média do Verão em regime natural), e aclimatados a uma HW de 30°C, *H. reticulatus* apresentou uma TSM de 10,3°C ± 0,1. Enquanto isso, exposto as mesmas condições, *P. reisi* apresentou um CTMáx de 40,6°C ± 0,3 (também ~3°C acima da média do Verão, mas apenas 2°C acima da média da Primavera), resultando em uma TSM de 10,6°C ± 0,3. Ambos tiveram uma redução de cerca de 2°C em sua TSM no regime de HW, quando comparado ao Verão.

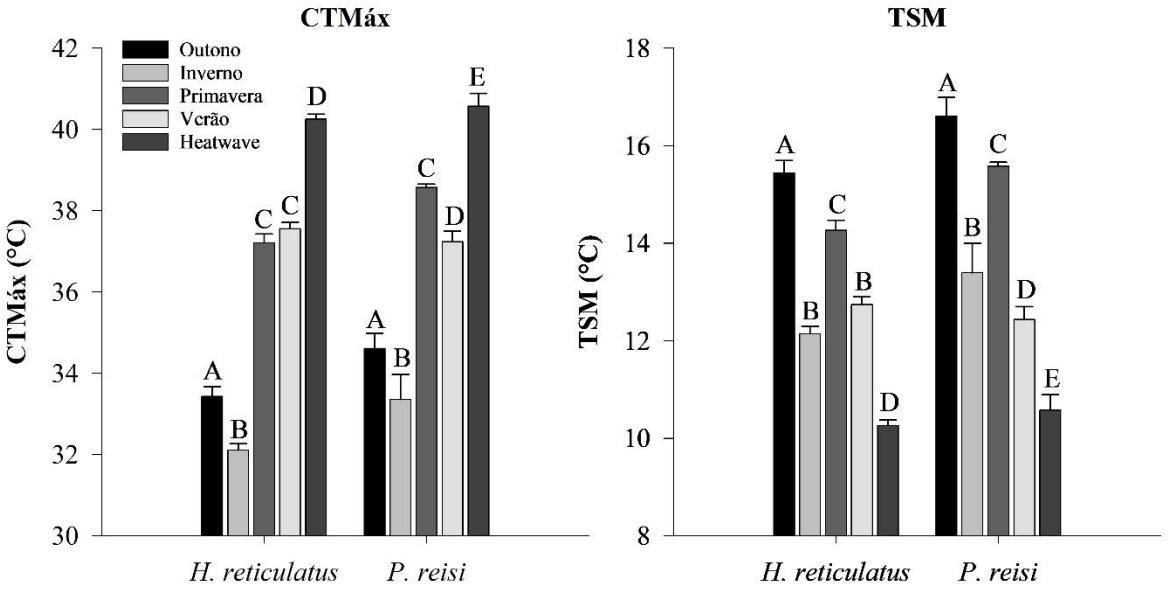


Fig. 18: Comparação entre valores de CTMáx de *H. reticulatus* no Verão, nas quatro estações, com os valores de CTMáx obtidos pela HW em laboratório. O asterisco demonstra diferença significativa entre os resultados de laboratório e em campo.

5 – DISCUSSÃO

Foi investigado *in situ* a influência da variação da temperatura da água entre as estações do ano, em diferentes pontos de coleta, sobre a tolerância térmica das espécies analisadas, principalmente em relação aos seus CTMáx e TSM, e também se estes valores foram alterados quando os peixes foram aclimatados a um regime térmico elevado (*heatwave*) em laboratório.

Após as análises, foram identificados alguns achados principais: 1- como esperado, o CTMáx das espécies aumentou entre as estações mais frias (outono e inverno) e quentes (primavera e verão). Isso demonstra uma plasticidade térmica das espécies conforme a Ta se alterou durante o ano; 2 – a TSM dos períodos mais quentes foi menor que dos períodos mais frios, o que aumenta os riscos para as espécies caso haja aumentos nos regimes térmicos nas estações mais quentes; 3 – Ocorreram diferenças nas plasticidades térmicas das três espécies entre os diferentes pontos dentro de uma mesma estação, mesmo estando da mesma sub-bacia e pouco distantes entre si4 – os valores de ARR chegaram a variar cerca de 100% entre alguns pontos, para todas as espécies, demonstrando que a relação entre Ta e capacidade de alteração do CTMáx pode ser influenciada pelo habitat onde os organismos se encontram, sendo que P1 e P2 tiveram os menores valores de ARR, enquanto em P3 e P4 ocorreram os maiores valores; 5 – o coeficiente de variação da CTMáx também foi marcadamente diferente entre os diferentes pontos, chegando a variar cerca de 6x entre dois pontos em uma mesma estação. Isso reflete elevada plasticidade fenotípica dentro da espécie/população, o que tende a ser favorável para adaptações a alterações no regime térmico ambiental; 6 – as duas espécies que passaram pela aclimatação HW foram capazes de elevar seus CTMáx tendo, portanto, capacidade de se aclimataram a regimes térmicos aumentados. Contudo, ambas apresentaram valores de TSM reduzidos quando expostos a este regime, o que reforça o observado *in situ* de que o organismo não é capaz de continuar elevando sua tolerância térmica na mesma magnitude que a Ta aumenta.

Nem sempre aclimatar-se significa manter ou aumentar a performance, mas sim conseguir responder de forma eficiente ao que está ocorrendo no ambiente, ativando processos de dormência ou reprodução, por exemplo (Pörtner, 2010). No caso de temperaturas extremas, aclimatar pode significar reduzir ao máximo seu metabolismo e atividade geral, para conseguir manter as atividade mais básicas do organismo; essa mudança de metabolismo ocorre quando o organismo ultrapassa o limite térmico conhecido como T_{crit} (Ern et al., 2016).

Para os valores de CTMáx, P2 e P3 foram os que apresentaram maiores diferenças significativas entre as estações, enquanto para a TSM isso ocorreu em P1 e P2. Os menores valores de CTMáx durante o Outono (menores Ta), sendo que na mesma estação ocorreram as maiores TSM, e o inverso ocorrendo no Verão (maiores Ta), reforça o efeito *trade-off* entre menores limites térmicos e maiores margens de segurança térmica. Durante o Inverno, as três espécies tiveram os maiores valores de CTMáx em P1, e os menores em P2, o que talvez seja

explicado pelo volume e cobertura vegetal dos mesmos, sendo o primeiro mais volumoso e menos sombreado (média de 20,83°C e amplitude de 19,90 a 23,21°C), e o segundo mais raso e com mata fechada (média de 19,97°C e amplitude de 17,97 a 21,53°C). Esta diferença de cerca de 1°C na média e nas variações de temperatura provavelmente explica a diferença dos CTMáx entre os dois pontos.

Considerando o ano todo, a maior parte das menores médias de CTMáx ocorreram durante o Outono, exceto em P2, onde os menores valores foram no Inverno. Isso provavelmente ocorreu pois neste ponto, dois dias antes do experimento, ocorreu uma queda de temperatura (fig. 14), sendo que os modelos estatísticos de Leclair e colaboradores (2020) demonstraram que os dois últimos dias são os que mais explicaram as variações no CTMáx. Em P1, a temperatura da água também reduziu, mas não tão acentuadamente, provavelmente pela maior incidência solar no e maior volume.

Para as três espécies deste estudo tanto CTMáx quanto a TSM foram significativamente influenciados pelas estações, pontos, e interação entre pontos e estações. Além disso, como era esperado, o CTMáx teve uma relação positiva com a elevação da Ta, enquanto a TSM apresentou uma relação negativa, sendo reduzida conforme a Ta aumentou. O fato de a TSM não conseguir acompanhar o mesmo ritmo do aumento de Ta indica que provavelmente existe um momento em que os organismos não são mais capazes de aclimatar-se, o que impediria sua sobrevivência (Leclair et al., 2020).

Diversos estudos apontam que diferentes populações de uma mesma espécie podem apresentar respostas térmicas assimétricas, por viverem em regimes de temperatura distintos, como já foi registrado para salmões (Abe et al., 2019) e trutas (Anlauf-Dunn et al., 2022). Como uma mesma espécie pode possuir populações com desempenhos térmicos e plasticidades diferentes, a determinação de um limite térmico, a partir do estudo de apenas uma população, pode não representar o desempenho de sua espécie (Zillig et al., 2021); ao mesmo tempo, o isolamento de populações ou extinções regionais podem trazer grandes riscos, principalmente se as populações restantes tiverem baixa plasticidade térmica. Realizar experimentos "*in situ*", onde as populações de organismos encontram-se aclimatizadas a diferentes condições físicas (habitats) e temperaturas (estações do ano), conforme sua região e períodos/estações do ano, respectivamente, pode trazer informações e comparações importantes sobre o desempenho das diferentes espécies e populações (Anlauf-Dunn, Kraskura, and Eliason 2022; McDonnell and Chapman 2015).

H. reticulatus apresentou um CTMáx de 32,6°C ± 0,2 durante o inverno, com Ta média de 20,91°C ± 0,17, sendo menor do que a de *Astyanax bimaculatus* em outro estudo (Egea-Serrano et al., 2022) realizado no bioma da Caatinga, que desenvolveu uma média de 37,67°C ± 0,58 quando aclimatado em 20°C em laboratório. Mesmo tendo sido aclimatado a 20°C durante 3 dias, o fato de *A. bimaculatus* na região do estudo habitar córregos rasos e temporários, com temperaturas médias variando entre cerca de 22 e 27°C, e máximas absolutas de até 41°C, podem ter sido fatores determinantes para a discrepância no CTMáx quando comparado a *H. reticulatus*. Outro fator é que neste estudo a taxa de aumento da temperatura foi de 1,0°C/min, e não 0,3°C/min, o que também pode ter gerado diferenças no desenvolvimento do CTMáx.

O oposto ocorreu quando a espécie de Mata Atlântica foi comparada a outro caracídeo da Floresta Amazônica, em temperaturas mais elevadas: Campos e colaboradores (2019) descreveram o CTMáx de algumas espécies amazônicas, frente a regimes térmicos naturais (26,5°C) e regimes extremos de temperatura (30,5°C), previstos para alguns cenários climáticos (IPCC 2013). O CTMáx da espécie *Hyphessobrychon melazonatus* (congênero de *H. reticulatus*), não apresentou variação entre os regimes (36°C ± 0,5). Enquanto a espécie de Mata Atlântica, aqui investigada, entrou em LOE a 37,8°C ± 0,1, quando exposto a um regime térmico médio de 24,25°C ± 0,04 (Primavera), valor cerca de 20% mais alto que seu CTMáx quando aclimatizado a 19,96°C ± 0.03 (Inverno), portanto, apresentou valores absolutos e variações maiores que *H. melazonatus*, dentro de um intervalo semelhante de temperatura (cerca de 4°C). Dentro da mesma variação aproximada de 4°C, as três espécies amazônicas variaram seus valores médios de CTMáx de 36 a 41,5°C, enquanto as deste trabalho de 29,6 a 38°C.

Campos e colaboradores (2019) também realizaram experimentos de CTMáx com a espécie amazônica *Pyrrhullina brevis*, pertencente à mesma ordem de *P. reisi* (Cyprinodontiformes). *P. brevis* quando aclimatado a seu regime térmico natural (26°C) obteve um CTMáx de 39°C ± 0,4, cerca de 4% mais alto que de *P. reisi* quando exposto a cerca de 25°C no ambiente (37,5°C ± 0,2). Já quando aclimatados a 30°C os valores das espécies foram bem próximos, sendo 40°C ± 0,2 para a amazônica e 40,6 ± 0,2 para a de Mata Atlântica.

Ainda dentro de Cyprinodontiformes porém a nível de família (Poeciliidae), em uma pesquisa realizada com *Poecilia latipinna* (popularmente conhecida no aquarismo como Molinésia), a espécie teve CTMáx de 33,9 a 37,5°C, quando aclimatada a 20 e 24°C,

respectivamente (Yanar et al., 2019). Enquanto *P. reisi* apresentou valores entre 34,5 a 38,5°C, quando exposto a Ta's de 20,5 a 23,6°C. Dentro destes regimes semelhantes, *P. reisi* obteve um CTMáx por volta de 2% mais elevado que *P. latipinna* em ambas as temperaturas. Yanar e colaboradores (2019) também obtiveram valores de CTMáx da espécie *Corydoras paleatus* (conhecida como Coridora pimenta no aquarismo), da mesma família de *S. barbatus*. Porém diferente dos valores próximos ocorridos entre os poecilídeos, *S. paleatus* desempenhou um CTMáx (38,7°C) cerca de 8°C mais elevado que *S. barbatus* quando aclimatados a ~20°C, e por volta de 5°C mais alto (40,21°C) que quando aclimatados a ~24°C.

Outro trabalho, realizado com espécies indianas da ordem Siluriformes (Debnath, 2024) (mesma de *S. barbatus*), obteve valores de 39,9 ± 0,4 para *Heteropneustes fossilis* e 39,9 ± 0,5 para *Mystus cavasius* quando aclimatados a 20°C, sendo que *S. barbatus* desempenhou uma média de 31,0 ± 0,1 quando em regime térmico de 20,9°C, resultando em uma diferença de ~9°C entre as espécies indianas e a da Mata Atlântica. Já quando aclimatados a 25°C, *H. fossilis* obteve valores por volta de 41°C, e *M. cavasius* 39,9°C, enquanto *S. barbatus* teve uma média de 35,8°C, cerca de 5°C mais baixa; apesar disso, as TSM das espécies indianas variaram menos de 2°C dentro de uma variação de 5°C de aclimatação, enquanto a espécie de Mata Atlântica conseguiu em quase 5°C em um intervalo semelhantes de temperatura.

Em uma pesquisa realizada com espécies de riachos de água preta da Mata Atlântica (Panizza, 2021), foi analisada a tolerância térmica para o congênere de *S. barbatus*¸ o *Scleromystax macropterus*; esta espécie apresentou os menores valores médios de CTMáx, sendo 32,9°C, 34,9°C e 35,3°C, quando aclimatado a 22, 26 e 30°C, respectivamente. A espécie foi capaz de aclimatar-se de 22 para 26°C, mas não de 26 para 30°C, demonstrando plasticidade térmica limitada no regime mais elevado, assim como ocorreu para *P. reisi*. Enquanto isso, para este trabalho realizado em campo, as três espécies conseguiram se aclimatar durante as quatro estações, sendo que *H. reticulatus* e *P. reisi* ainda foram capazes de aumentar seus limites térmicos quando expostos a 30°C, cerca de 12°C mais quente que o regime térmico do Outono.

Um trabalho similar ao realizado nesta pesquisa (beira-rio/*streamside*) foi realizado em Ontário, no Canadá (Leclair et al. 2020), onde foi investigado o efeito das mudanças de temperatura durante os meses no CTMáx e a TSM do peixe *Clinostomus elongatus*, uma espécie de truta. A temperatura ambiental deste rio de região atingiu valores médios de 5,79 a 21,85°C, variando cerca de 3,77 vezes, enquanto a performance de CTMáx da espécie foi 27,59 a 33,64°C (diferença de aproximadamente 21%).

Enquanto isso, a área deste estudo teve temperaturas registradas entre 17,26 e 25,39°C (1,47 vezes) e a espécie que apresentou a maior amplitude de CTMáx, com valores de 31,8°C (P4 – Outono) a 38,8°C (P4 – Primavera), o que representa uma diferença de cerca de 22%. Isso demonstra um padrão diferente entre a espécie temperada investigada por Leclair e colaboradores, e as deste estudo, uma vez que as primeiras não diminuíram expressivamente seu CTMáx, mesmo quando as temperaturas estavam muito reduzidas. De modo geral, no Canadá a Ta apresentou uma variação três vezes maior que a variação de CTMáx, enquanto na Mata Atlântica, a variação da Ta foi de apenas 1,14 vezes. Isso pode indicar que a plasticidade térmica das espécies tropicais, ou pelo menos das de Mata Atlântica, seja maior, o que pode ser vantajoso, dependendo da compensação entre manter as vias fisiológicas térmicas "estáveis", mesmo quando a espécie não enfrenta temperaturas altas, como ocorre no Inverno do hemisfério norte. A relação Ta-CTMáx parece ser mais evidente/linear para espécies tropicais do que temperadas.

Os diferentes CTMáx das espécies entre locais distintos dentro de uma mesma estação, também corrobora alguns preceitos da influência do habitat no desempenho fisiológico dos organismos (Vinagre et al., 2016; Zillig et al., 2023), como citado anteriormente. Tais diferenças provavelmente se devem ao fato de que existem diferenças entre os pontos, como a cobertura vegetal/área de sombra, e volume d'água, por exemplo.

Outros fatores como tamanho e peso podem ser definitivos quanto ao grau de sensibilidade térmica das espécies, sendo que as de tamanho reduzido costumam ser mais sensíveis (Barbarossa et al., 2021) (menor volume: Tc mais dependente de Ta (Bícego & Gargaglioni, 2020), como é o caso das espécies de riachos (C. da S. Gonçalves et al., 2016). O fato de algumas espécies de peixes de riacho, serem encontradas somente em água preta (Ferreira et al., 2014; C. da S. Gonçalves et al., 2016), ressalta ainda mais sua susceptibilidade e a importância de preservar estes ecossistemas.

Do ponto de vista fisiológico, como já citado, a temperatura é extremamente influente, e muitas vezes é ecologicamente inviável para a espécie realizar uma migração, seja por fatores bióticos, como habitats ocupados por outras espécies e populações, ou abióticos, como parâmetros ambientais diferentes ou limites físicos intransponíveis (Turko et al., 2020), o que pode trazer grandes riscos à conservação das espécies e populações, principalmente as com menor abundância e/ou menores valores de tolerância e plasticidade térmica (Bícego & Gargaglioni, 2020; Morgan et al., 2020).

Porém, é sabido que outros fatores como o oxigênio podem interferir fortemente no desempenho das espécies em seu ambiente. A teoria da OCLTT (*oxygen and capacity-limited thermal tolerance*) tem sido extremamente relevante nos estudos de tolerância térmica (Campos et al., 2017; Pörtner, 2010). Em termos simples, esta teoria discorre sobre como a tolerância térmica ser influenciada pela temperatura, principalmente pela segunda ter intima relação com o metabolismo, ou seja, temperaturas nos extremos do nicho térmico das espécies alteram drasticamente o metabolismo (McDonnell & Chapman, 2016), levando a uma insuficiência metabólica em ambos os extremos do escopo aeróbico de uma espécie (Portner & Farrel, 2008). Ambientes ou eventos com pouco oxigênio e altas temperaturas podem ser ainda mais letais para as espécies (Pörtner & Peck, 2010), principalmente as com metabolismo elevado, baixa resistência à hipóxia e/ou baixa metabolismo anaeróbico (Altieri & Gedan, 2015). Isso pode ser observado no peixe Oscar (*Astronotus ocellatus*), que quando exposto a uma condição de hipóxia crescente, incialmente aumenta sua ventilação, porém conforme o oxigênio continua caindo e chega a um nível crítico (P_{crit}) reduz os movimentos operculares para níveis menores que em normoxia, numa tentativa de reduzir ao máximo seu metabolismo, e ativa vias anaeróbicas (Scott et al., 2008).

Este efeito do oxigênio sobre a tolerância térmica (OCLTT), como já conhecido para algumas espécies (Ern et al., 2017) pode ter ocorrido para *P. reisi* em P4 no Outono, onde apresentou valores mais baixos de CTMáx, mesmo os quatro pontos tendo médias de temperatura semelhantes nesta estação. Para as demais espécies, e mesmo *P. reisi* em outros pontos e estações, talvez a OCLTT não tenha sido tão evidente porque as mesmas já habitam ambientes com baixa pressão de oxigênio.

Os coeficientes de variação também não apresentaram uma relação com os pontos e estações, sendo que os valores variaram também entre as espécies, variando de 0,6 (Outono P1) a 6,2 (Primavera P3) para *H. reticulatus*, com uma média de 2,4; 0,7 (Primavera P2) a 7,2 (Verão P4) para *P. reisi*, com uma média de 3,5; e 1,1 (Outono P2) a 3,2 (Outono P3) para *S. barbatus*, com uma média de 2,1.

Já para a ARR, os menores valores ocorreram em P1 para as três espécies: 0,46 para *H. reticulatus*; 0,29 para *P. reisi*; e 0,39 *S. barbatus* 1,1. Ao excluir-se P4, para permitir uma comparação entre as três espécies (*S. barbatus* não foi capturado em P4), todos os maiores valores ocorreram em P3, sendo praticamente o dobro dos valores em P1. Já os valores de ARR entre P1 e P2 variaram cerca de 30%, sendo que distam menos de 1 quilômetro um do outro, o

que é algo interessante, já que mesmo dentro de uma mesma sub-bacia pequena, as espécies desenvolveram capacidades de aclimatação diferentes, o que pode demonstrar o efeito das especificidades do habitat na tolerância térmica das espécies. Isso reforça a ideia de que as características ambientais específicas de cada ponto podem favorecer ou reduzir a capacidade de aclimatação dos organismos.

P. reisi apesar de não ter o maior valor geral de %CV, obteve os maiores valores do Verão, o que evidência elevada plasticidade térmica, e maiores chances de aclimatação a temperaturas elevadas. *P. reisi* pode ser uma exceção à regra, uma vez que para muitas espécies ocorre um efeito trade-off, onde os organismos que apresentam baixos valores de CTMáx desenvolveu maiores plasticidades térmicas (Comte and Olden 2017), como ocorreu em alguns pontos e estações para *S. barbatus*, apresentando valores de ARR maiores que *P. reisi*, apesar de sempre atingir os menores valores de CTMáx entre as espécies. Levando em consideração todos os quatro pontos, a média da ARR entre o Outono (menores temperaturas) e Verão (maiores temperaturas), das espécies foi de 0,68 para *H. reticulatus*; 0,57 para *P. reisi*; e 0,63 para *S. barbatus*. Apesar das diferenças, os valores de ARR's das três espécies está dentro do esperado para organismos que habitam latitudes tropicais e subtropicais (Campos et al. 2021). Quanto ao %CV, *P. reisi* teve a maior média anual (3,6), demonstrando que entre as três espécies possuí a maior variabilidade entre os espécimes.

As *heatwaves* podem ser extremamente danosas para populações de organismos ectotérmicos, devido a rápida elevação da temperatura, como ocorre em poças de maré (Vinagre et al., 2018). Apesar disso, o fato de *H. reticulatus* e *P. reisi* terem conseguido elevar seus CTMáx de 37,6°C ± 0,2 para 40,3°C ± 0,1 e de 37,2°C ± para 40,6°C ± 0,3, respectivamente, demonstrou que as espécies foram capazes de se aclimatar ao regime elevado de 30°C. Em outro estudo com espécies de riachos da Mata Atlântica, ainda dentro da sub-bacia do Rio Preto, porém compreendendo os corpos d'água do Rio Castro, *P. reisi* apresentou um CTMáx de 36,6°C, quando aclimatado a 30°C (Panizza, 2021), 11% menor que a média obtida quando aclimatada a HW neste trabalho, reforçando a ideia de que populações ou grupos distintos possuem plasticidades térmicas diferentes.

Apesar de todos estes dados de limites térmicos, não é possível saber se a longo prazo tal exposição acarretaria danos, como menor performance no ambiente, reprodução e forrageamento. Como não foi possível realizar o experimento de *heatwave* com *S. barbatus*, não há como saber se a espécie se aclimataria ao regime mais extremo na natureza. Apesar

disso, como já citado, em outro trabalho *ex-situ* seu congênere *S. macropterus* não aclimatou ao regime de 30°C (Panizza, 2021).

H. reticulatus teve uma TSM de 10,3°C no regime mais extremo, 2,4°C menor que quando exposto ao regime natural do Verão; enquanto isso, a TSM de *P. reisi* reduziu de 12,4°C no Verão para 10,6°C durante a *heatwave*, cerca de 1,8°C de diferença. Ambas as espécies apresentaram uma alta plasticidade térmica e elevados limites térmicos, a diferença é que *P. reisi* obteve os maiores valores de CTMáx e TSM, enquanto *H. reticulatus* desempenhou os maiores valores de ARR, cerca de 20% mais elevada que para *P. reisi*, quando levamos em conta a média do ano todo. Embora *P. reisi* tenha desenvolvido uma maior ARR no regime de HW, os maiores valos de *H. reticulatus* quando em regimes naturais favorecem a espécie em termos de adaptação frente as possíveis variações naturais e aumentos na temperatura. Esse fato pode dever-se a ampla distribuição da ordem Characiformes, que ocorre desde a América do Sul a América do Norte (Dagosta et al., 2016), e da espécie dentro da planície costeira (Ferreira, 2007), o que favorece sua variabilidade genética, favorecendo sua plasticidade (Comte & Olden, 2017). Um fator muito importante a ser levado em consideração, é a soma de fatores estressantes, como uma *heatwave* associada aos baixos níveis de oxigênio no ambiente dos riachos de água preta, pressões ecológicas de predação e poluição, entre muitos outros. Realizar estudos mais realistas, verificando a performance dos organismos nestes regimes mais extremos, e não somente levando em conta a média ambiental, e junto a isso outros fatores, é essencial para ter uma melhor noção dos potenciais riscos as espécies frente a estes cenários que podem ocorrer no ambiente (Pörtner, 2010).

A ARR foi obtida a partir da comparação entre os CTMáx e Ta do Outono e Verão, nos quais ocorreram as menores e maiores temperaturas, respectivamente. Dito isso, os valores de *H. reticulatus* variaram cerca de 1,9 vezes entre os pontos, com a menor ARR ocorrendo em P1 (0,46) e a maior em P4 (0,88). Para *P. reisi*, os resultados ficaram entre 0,29 (P1), a menor ARR de todas, e 0,86 em P4 (assim como ocorreu para *H. reticulatus*), variando 2,9. Por fim *S. barbatus* apresentou uma variação de cerca de 1,3 vezes, com resultados entre 0,39 (P1) e 0,89 em P3, o maior valor de todos, o que pode ser devido a teoria de *trade-off* (neste caso, baixa tolerância térmica, mas elevada plasticidade/variabilidade fenotípica), já que neste ponto as médias dos valores de CTMáx e TSM foram as menores em todas as estações.

Este trabalho é um dos primeiros a realizar este tipo de estudo *in situ*, sendo provavelmente o primeiro da região sudeste do Brasil. A realização dos experimentos nos

quatro pontos revelou que as estações realmente interferem nos limites de tolerância das espécies, mas também que diferentes habitats, mesmo que pouco distantes e aparentemente semelhantes, também moldam as respostas fisiológicas dos organismos. Com TSM's quase sempre maiores que 10°C no verão, as espécies não estão perigosamente próximas de seus limites térmicos nestes locais de coleta.

Porém, é necessário salientar que o LOE é um *end point* extremo, onde o organismo já perdeu completamente suas habilidades locomotoras, e antes do mesmo ocorrer, alguns organismos muitas vezes tem espasmos, natação errante e diversos outras disfunções. Isso algumas vezes pode ocorrer cerca de 3°C antes do LOE, e já representaria um risco à espécie quando em seu ambiente natural, sendo que alguns autores já consideram essas disfunções como um "pré-end point" ou até mesmo um *end point* propriamente dito (Lutterschmidt & Hutchison, 1997; Pörtner et al., 2017).

Quanto à simulação de regime extremo de 30°C em laboratório, tanto *H. reticulatus* quanto *P. reisi* foram capazes de se aclimatar, o que mostra, com CTMáx cerca de 3°C mais elevados que os valores naturais no Verão, e TSM's por volta de 3°C mais baixas, mas que ainda sim foram cerca de 10°C acima da temperatura de aclimatação. Ou seja, ambas apresentaram alta resiliência, porém não quer dizer que a longo prazo sobreviveriam e seriam capazes de perpetuar a espécie nesse regime, para analisar isso seriam necessários outros estudos. Um outro fato que reforça a sensibilidade térmica de *S. barbatus* é que seus valores de TSM naturais, em mais de um ponto e mais de uma estação, foram próximos das outras duas espécies durante a simulação de regime extremo, sendo que a primeira estava em uma Ta pelo menos 5°C menor.

6. CONCLUSÕES

A partir dos resultados deste estudo e dos valores de CTMáx, observou-se que a tolerância térmica foi significativamente influenciada tanto pelas estações (P = <0.001) quanto o ponto/habitat (P = <0.001) e a interação entre ambos (P = <0.001), para ambos CTMáx e TSM das três espécies estudadas. Outro padrão observado foi que os maiores valores de CTMáx ocorreram durante o Verão (exceto para *P. reisi*), estação mais quente. *P. reisi* teve os maiores valores médios anuais de CTMáx (35,9°C), TSM (14,2°C) e %CV (3,6), o que demonstrou um maior desempenho térmico frente os regimes naturais, e variação entre os indivíduos que tende a favorecer adaptações a novos regimes. Entretanto, os maiores valores de ARR para *H. reticulatus* indicam que a espécie apresenta uma resposta mais positiva e acentuada de aumento de seus limites térmicos conforme o aumento da temperatura, o que por fim lhe fornece a maior plasticidade térmica, principalmente dentro dos regimes naturais de temperatura. Em contrapartida, *S. barbatus* desempenhou as menores médias de CTMáx (33,2°C), TSM (11,7°C) e %CV (2,1) durante o ano, o que a torna a espécie mais sensível termicamente, e com menores chances de conseguir se adaptar em casos de Verões muito quentes, principalmente caso ocorram ondas de calor durante essa estação.

De forma geral, para as três espécies, estação com os menores valores de CTMáx foi o outono, e a com os maiores foi o verão; e os menores e maiores valores ocorreram em P3 e P1, respectivamente. Quanto a TSM, os maiores valores foram o outono, e os menores o verão, ou seja, um padrão invertido do CTMáx; quanto aos pontos, os menores valores foram em P3 e os maiores em P1. As menores ARR's ocorreram em P1, e as maiores em P3, e os menores %CV P2 e os maiores em P3.

Com tais considerações, este trabalho ressalta a importância de estudar e determinar a plasticidade e sensibilidade térmica das espécies, e de uma caracterização ambiental eficiente, uma vez que é o conjunto desses fatores que tende a ditar a performance destes organismos. Com isso é possível saber em qual estado se encontram, e a partir daí ter uma melhor noção se já estão em risco, e quão isso pode se agravar em casos de alterações ambientais e climáticas.

7. REFERÊNCIAS

Abe TK, Kitagawa T, Makiguchi Y, Sato K (2019) Chum salmon migrating upriver adjust to environmental temperatures through metabolic compensation. J Exp Biol 222. https://doi.org/10.1242/jeb.186189

Almeida R da S, Valente R de O, Cetra M (2022) The effect of hierarchical environmental structure and catchment-scale land cover on fish assemblage composition in streams from the Brazilian south-eastern rain forest. Hydrobiologia 849:4485–4497. https://doi.org/10.1007/s10750-021-04725-4

Al-Reasi HA, Smith DS, Wood CM (2012) Evaluating the ameliorative effect of natural dissolved organic matter (DOM) quality on copper toxicity to *Daphnia magna*: Improving the BLM. Ecotoxicology 21:524–537. https://doi.org/10.1007/s10646-011-0813-z

Al-Reasi HA, Wood CM, Smith DS (2011) Physicochemical and spectroscopic properties of natural organic matter (NOM) from various sources and implications for ameliorative effects on metal toxicity to aquatic biota. Aquat Toxicol 103:179–190. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.02.015

Angilleta Jr. M j. (2009) Thermal Adaptation, A Theorical and Empirical Synthesis. Oxford University, New York

Anlauf-Dunn K, Kraskura K, Eliason EJ (2022) Intraspecific variability in thermal tolerance: a case study with coastal cutthroat trout. Conserv Physiol 10:1–18. https://doi.org/10.1093/conphys/coac029

Baer CF, Travis J (2000) Direct and correlated responses to artificial selection on acute thermal stress tolerance in a live bearing fish. Evolution (N Y) 54:238–244. https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2000.tb00024.x

Barbarossa V, Bosmans J, Wanders N, et al (2021) Threats of global warming to the world's freshwater fishes. Nat Commun 12:1–10. https://doi.org/10.1038/s41467-021-21655-w

Barrett RDH, Paccard A, Healy TM, et al (2011) Rapid evolution of cold tolerance in stickleback. Proc R Soc B Biol Sci 278:233–238. https://doi.org/10.1098/rspb.2010.0923

Becker CD, Genoway RG (1979) Evaluation of the critical thermal maximum for determining thermal tolerance of freshwater fish. Environ Biol Fishes 4:245–256. https://doi.org/10.1007/BF00005481

Bícego KC, Gargaglioni LH (2020) Fisiologia Térmica de Vertebrados. Cultura Acadêmica, São Paulo, SP

Bojsen BH, Barriga R (2002) Effects of deforestation on fish community structure. Freshw Biol 47:2246–2260

Brahmane MP, Pawar SS, Bhendarkar MP, et al (2020) Effect of temperature on body weight, metabolism and thermoregulation of air breathing catfish *Heteropneustes fossilis*. J Agrometeorol 22:541–544

Britto MR, Reis RE (2005) A new Scleromystax species (Siluriformes: Callichthyidae) from coastal rivers of southern Brazil. Neotrop Ichthyol 3:481–488. https://doi.org/10.1590/s1679-62252005000400005

Buffenstein R, Amoroso V, Andziak B, et al (2022) The naked truth: a comprehensive clarification and classification of current 'myths' in naked mole-rat biology. Biol Rev 97:115–140. https://doi.org/10.1111/brv.12791

Camargo AFM, Ferreira RAR, Schiavetti A, Bini LM (1996) Influence of physiography and human activity on limnological characteristics of lotic ecosystems of south coast of Sao Paulo, Brazi. Acta Limnol. Bras. 8:231–243

Campos DF, Braz-Mota S, Val AL, Almeida-Val VMF (2019) Predicting thermal sensitivity of three Amazon fishes exposed to climate change scenarios. Ecol Indic 101:533–540. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.01.051

Campos DF, Val AL, Almeida-Val VMF (2018) The influence of lifestyle and swimming behavior on metabolic rate and thermal tolerance of twelve Amazon forest stream fish species. J Therm Biol 72:148–154. https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2018.02.002

Cereja R (2020) Critical thermal maxima in aquatic ectotherms. Ecol Indic 119. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106856

Cetra M, Barrella W, Neto FL, et al (2012) List Fish fauna of headwater streams that cross the Atlantic Forest of south São Paulo state. J species List Distrib 8:421–425

Cetra M, Petrere Júnior M, Barrella W (2017) Relative influences of environmental and spatial factors on stream fish assemblages in Brazilian Atlantic rainforest. Fish Manag Ecol 24:139–145. https://doi.org/10.1111/fme.12207

Comte L, Olden JD (2017) Evolutionary and environmental determinants of freshwater fish thermal tolerance and plasticity. Glob Chang Biol 23:728–736. https://doi.org/10.1111/gcb.13427

Curtis PJ, Schindler DW (1997) Hydrologic control of dissolved organic matter in low-order Precambrian Shield lakes. Biogeochemistry 36:125–138. https://doi.org/10.1023/A:1005787913638

Dagosta FCP, Marinho MMF, Camelier P, Lima FCT (2016) A New Species of Hyphessobrycon (Characiformes: Characidae) from the Upper Rio Juruena Basin, Central Brazil, with a Redescription of H. cyanotaenia. Copeia 104:250–259. https://doi.org/10.1643/CI-15-243

de Souza LFB (2022) Limites de tolerancia termica e respostas fisiologicas de *Phalloceros caudimaculatus* (Hensel, 1868) aclimatados a diferentes temperaturas. Unesp - Instituto de Biociências do Câmpus do Litoral Paulista

dos Santos LD, Schlindwein SL, Fantini AC, et al (2020) Dinâmica do desmatamento da mata atlântica: causas e consequências. Rev Gestão Sustentabilidade 9:378–402. https://doi.org/10.19177/rgsa.v9e32020378-402

Doyle CM, Leberg PL, Klerks PL (2011) Heritability of heat tolerance in a small livebearing fish, Heterandria formosa. Ecotoxicology 20:535–542. https://doi.org/10.1007/s10646-011-0624-2

Duarte RM, Smith DS, Val AL, Wood CM (2016) Dissolved organic carbon from the upper Rio Negro protects zebrafish (*Danio rerio*) against ionoregulatory disturbances caused by low pH exposure. Sci Rep 6: https://doi.org/10.1038/srep20377

Duarte RM, Wood CM, Val AL, Smith DS (2018) Physiological protective action of dissolved organic carbon on ion regulation and nitrogenous waste excretion of zebrafish (*Danio rerio*) exposed to low pH in ion-poor water. J Comp Physiol B Biochem Syst Environ Physiol 188:793–807. https://doi.org/10.1007/s00360-018-1169-y

Ern R, Chung D, Frieder CA, et al (2020) Oxygen-dependence of upper thermal limits

in crustaceans from different thermal habitats. J Therm Biol

Esteves KE, Silva MHC, Nanini-Costa MH, Petesse ML (2019) Organization of fish assemblages in blackwater Atlantic Forest streams. Neotrop Ichthyol 17:1–12. https://doi.org/10.1590/1982-0224-20180120

Ferreira FC (2007) Ictiofauna de Riachos na Planíce Costeira da Bacia do Rio Itanhaém, Litoral Sul de São Paulo

Ferreira FC, da Silva AT, Gonçalves C da S, Petrere M (2014) Disentangling the influences of habitat structure and limnological predictors on stream fish communities of a coastal basin, southeastern Brazil. Neotrop Ichthyol 12:177–186. https://doi.org/10.1590/S1679-62252014000100019

Ferreira FC, Petrere M (2009) The fish zonation of the Itanhaém river basin in the atlantic forest of southeast brazil. Hydrobiologia 636:11–34. https://doi.org/10.1007/s10750-009-9932-4

Freitas SR, Hawbaker TJ, Metzger JP (2010) Effects of roads, topography, and land use on forest cover dynamics in the Brazilian Atlantic Forest. For Ecol Manage 259:410–417. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.10.036

Gaffney JS, Marley NA, Clark SB (1996) Humic and Fulvic Acids and Organic Colloidal Materials in the Environment. ACS Symp Ser 651:1–15. https://doi.org/10.1021/bk-1996-0651.ch001

Gale MK, Hinch SG, Eliason EJ, et al (2011) Physiological impairment of adult sockeye salmon in fresh water after simulated capture-and-release across a range of temperatures. Fish Res 112:85–95. https://doi.org/10.1016/j.fishres.2011.08.014

Gonçalves C da S, Braga FM de S (2013) Checklist of freshwater ichthyofauna from coastal streams of Juréia-Itatins Reserve, Southeastern Brazil. Check List 9:175–185. https://doi.org/10.15560/9.2.175

Gonçalves C da S, Braga FM de S, Casatti L (2018) Trophic structure of coastal freshwater stream fishes from an Atlantic rainforest: evidence of the importance of protected and forest-covered areas to fish diet. Environ Biol Fishes 101:933–948. https://doi.org/10.1007/s10641-018-0749-8

Gonçalves C da S, Cestari C (2013) Uso de riacho costeiro da Mata Atlântica pelo limpa-fundo *Scleromystax barbatus* (Quoy & Gaimard, 1824). Neotrop Biol Conserv 8:115–120. https://doi.org/10.4013/nbc.2013.83.01

Gonçalves C da S, Ferreira FC, Silva AT (2016) *Scleromystax macropterus* (Regan, 1913) e *Mimagoniates lateralis* (Nichols, 1913): dois peixes de riachos de Restinga ameaçados de extinção devido à perda de hábitat. Bol Soc Bras Ictiol 116:12–15

Gonçalves S, Manoel F, Braga DS (2013) Checklist of freshwater ichthyofauna from coastal streams of Juréia-Itatins reserve, southeastern Brazil. J species List Distrib 9:175–185

Hernández-sandoval P, Díaz F, Re-araujo AD, et al (2018) Thermal preference, critical thermal limits, oxygen routine consumption and active metabolic scope of *Macrobrachium tenellum* (Smith , 1871) maintained at different acclimation temperatures. Lat Am J Aquat Res 46:558–569. https://doi.org/10.3856/vol46-issue3-fulltext-9

Hernández-Sandoval P, Díaz-Herrera F, Díaz-Gaxiola JM, et al (2018) Effect of temperature on growth, survival, thermal behavior, and critical thermal maximum in the juveniles of *Macrobrachium occidentale* (Holthuis, 1950) (Decapoda: Caridea: Palaemonidae) from Mexico. J Crustac Biol 38:483–488. https://doi.org/10.1093/jcbiol/ruy024

Hochachka PW, Somero GN (2002) Biochemical Adaptation: Mechanism and Process in Physiological Evolution. Oxford University Press

Holland A, Wood CM, Smith DS, et al (2017) Nickel toxicity to cardinal tetra (*Paracheirodon axelrodi*) differs seasonally and among the black, white and clear river waters of the Amazon basin. Water Res 123:21–29. https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.06.044

IPCC (2013) CLIMATE CHANGE 2013 The physical science basis. Intergovernmental Panel on Climate Change

IPCC (2014) Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Intergovernmental Panel on Climate Change

IPCC (2018) Global Warming of 1.5°C. An IPCC Special Report on the impacts of global warming of 1.5°C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways, in the context of strengthening the global response to the threat of climate change. Intergovernmental Panel on Climate Change

Islam SMM, Zahangir MM, Ashaf-Ud-Doulah M, et al (2020) Extreme warm acclimation temperature alters oxygen consumption, micronucleus formation in erythrocytes, and gill morphology of rohu (*Labeo rohita*) fingerlings. Fish Physiol Biochem 46:2323–2330. https://doi.org/10.1007/s10695-020-00886-6

Jackson DA, Mandrak NE (2002) Changing fish biodiversity: Predicting the loss of

cyprinid biodiversity due to global climate change. Am Fish Soc Symp 2002:89–98

Kikuchi E, De Grande FR, Duarte RM, Vaske-Júnior T (2019b) Thermal response of demersal and pelagic juvenile fishes from the surf zone during a heatwave simulation. J Appl Ichthyol 35:1209–1217. https://doi.org/10.1111/jai.13970

Lapointe D, Cooperman MS, Chapman LJ, et al (2018) Predicted impacts of climate warming on aerobic performance and upper thermal tolerance of six tropical freshwater fishes spanning three continents. Conserv Physiol 6:1–19. https://doi.org/10.1093/conphys/coy056

Le MH, Dinh K V., Nguyen M V., Rønnestad I (2020) Combined effects of a simulated marine heatwave and an algal toxin on a tropical marine aquaculture fish cobia (*Rachycentron canadum*). Aquac Res 51:2535–2544. https://doi.org/10.1111/are.14596

Leclair ATA, Drake DAR, Pratt TC, Mandrak NE (2020) Seasonal variation in thermal tolerance of redside dace *Clinostomus elongatus*. Conserv Physiol 8:1–11. https://doi.org/10.1093/conphys/coaa081

Lefevre S, Wang T, McKenzie DJ (2021) The role of mechanistic physiology in investigating impacts of global warming on fishes. J Exp Biol 224:. https://doi.org/10.1242/jeb.238840

Lo YTE, Mitchell DM, Thompson R, et al (2022) Estimating heat-related mortality in near real time for national heatwave plans. Environ Res Lett 17:12. https://doi.org/10.1088/1748-9326/ac4cf4

Loeb M V., Fichberg I, Mattox GMT (2014) Ichthyofauna of the Ribeirão Taboão, Paraíba do Sul river basin, Mogi das Cruzes, SP. Check List 10:556–561. https://doi.org/10.15560/10.3.556

Loeschcke V, Hoffmann AA (2007) Consequences of Heat Hardening on a Field Fitness Component in Drosophila Depend on. Am Soc Nat 169:175–183

Lucinda PHF (2008) Systematics and biogeography of the genus Phalloceros Eigenmann , 1907 (Cyprinodontiformes : Poeciliidae : Poeciliinae), with the description of twenty-one new species. Neotrop Ichthyol 6:113–158

Luider, C.D., Crusius, J., Playle, R.C., Curtis, P.J., 2004. Influence of natural organic matter source on copper speciation as demonstrated by Cu binding to fish gills, by ion selective electrode, and by DGT gel sampler. Environ. Sci. Technol. 28, 2865–2872.

Lynch AJ, Myers BJE, Chu C, et al (2016) Climate Change Effects on North American Inland Fish Populations and Assemblages. Fisheries 41:346–361.

https://doi.org/10.1080/03632415.2016.1186016

Madeira C, Mendonça V, Leal MC, et al (2017) Thermal stress, thermal safety margins and acclimation capacity in tropical shallow waters—An experimental approach testing multiple end-points in two common fish. Ecol Indic 81:146–158. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.05.050

Madeira D, Andrade J, Leal MC, et al (2020) Synergistic Effects of Ocean Warming and Cyanide Poisoning in an Ornamental Tropical Reef Fish. Front Mar Sci 7:1–11. https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00246

Madeira D, Narciso L, Cabral HN, et al (2012a) HSP70 production patterns in coastal and estuarine organisms facing increasing temperatures. J Sea Res 73:137–147. https://doi.org/10.1016/j.seares.2012.07.003

Madeira D, Narciso L, Cabral HN, Vinagre C (2012b) Thermal tolerance and potential impacts of climate change on coastal and estuarine organisms. J Sea Res 70:32–41. https://doi.org/10.1016/j.seares.2012.03.002

Mameri D, Branco P, Ferreira MT, Santos JM (2020) Heatwave effects on the swimming behaviour of a Mediterranean freshwater fish, the Iberian barbel *Luciobarbus bocagei*. Sci Total Environ 730:. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139152

Martins Santos RC (2010) Mata Atlântica: Características, Biodiversidade e a História de Um Dos Biomas de Maior Prioridade para Conservação e Preservação de Seus Ecossistemas

McDonnell LH, Chapman LJ (2015) At the edge of the thermal window: Effects of elevated temperature on the resting metabolism, hypoxia tolerance and upper critical thermal limit of a widespread African cichlid. Conserv Physiol 3:1–13. https://doi.org/10.1093/conphys/cov050

McKnight DM, Boyer EW, Westerhoff PK, et al (2001) Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. Limnol Oceanogr 46:38–48. https://doi.org/10.4319/lo.2001.46.1.0038

Mendonça FP, Magnusson WE, Zuanon J (2005) Relationships between Habitat Characteristics and Fish Assemblages in Small Streams of Central Amazonia. BioOne Complet 2005:751–764. https://doi.org/10.1643/0045-8511(2005)005[0751:rbhcaf]2.0.co;2

Morgan R, Finnøen MH, Jensen H, et al (2020a) Low potential for evolutionary rescue from climate change in a tropical fish. Proc Natl Acad Sci U S A 117:33365–33372.

https://doi.org/10.1073/PNAS.2011419117

Morgan R, Finnøen MH, Jensen H, et al (2020b) Low potential for evolutionary rescue from climate change in a tropical fish. Proc Natl Acad Sci 117:33365–33372. https://doi.org/10.1073/pnas.2011419117/-/DCSupplemental

Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, et al (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature 403:853–858

Nati JJH, Svendsen MBS, Marras S, et al (2021) Intraspecific variation in thermal tolerance differs between tropical and temperate fishes. Sci Rep 11:1–9. https://doi.org/10.1038/s41598-021-00695-8

Peressin A, da Silva Gonçalves C, Cetra M (2018) Ichthyofauna diet changes in response to urbanization: the case of upper Paranapanema River basin (Brazil). Urban Ecosyst 21:795–803. https://doi.org/10.1007/s11252-018-0755-9

Pinto L, Bede L, Paese A, et al (2006) Mata Atlântica brasileira: Os desafios para a conservação da biodiversidade de um *hotspot* mundial. Essências em Biol e Conserv January:1–24

Pollux BJA, Pires MN, Banet AI, Reznick DN (2009) Evolution of placentas in the fish family Poeciliidae: An empirical study of macroevolution. Annu Rev Ecol Evol Syst 40:271–289. https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.110308.120209

Reis R (2003) Family Callichthyidae (armored catfishes). Check List Freshw Fishes South Cent Am 291–309

Richards, J.F., Curtis, P.J., Burnison, B.K., Playle, R.C., 2001. Effects of natural organic matter source on reducing metal toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and on metal binding to their gills. Environ. Toxicol. Chem. 20, 1159–1166.

Roni N, Kadir NN, Werorilangi S, Bennett WA (2019) Impact of changing temperature on critical thermal maximum and metabolic rate of *Uca perplexa* and *Uca crassipes*. Ecol Quest 30:17–24. https://doi.org/10.12775/EQ.2019.015

Santana CA, Tondato KK, Súarez YR (2019) Reproductive biology of *Hyphessobrycon eques* (Characiformes: Characidae) in southern Pantanal, Brazil. Brazilian J Biol 79:70–79. https://doi.org/10.1590/1519-6984.176273

Sarma K, Pal AK, Ayyappan S, et al (2010) Acclimation of *Anabas testudineus* (Bloch) to three test temperatures influences thermal tolerance and oxygen consumption. Fish Physiol Biochem 36:85–90. https://doi.org/10.1007/s10695-008-9293-3

Satora L, Mytych J, Bilska-Kos A (2018) The presence and expression of the HIF-1α in the respiratory intestine of the bronze Corydoras *Corydoras aeneus* (Callichthyidae Teleostei). Fish Physiol Biochem 44:1291–1297. https://doi.org/10.1007/s10695-018-0520-2

Schulte PM, Healy TM, Fangue NA (2011) Thermal performance curves, phenotypic plasticity, and the time scales of temperature exposure. Integr Comp Biol 51:691–702. https://doi.org/10.1093/icb/icr097

Schwartz, M.L., Curtis, P.J., Playle, R.C., 2004. Influence of natural organic matter on acute copper, lead, and cadmium toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Environ. Toxicol. Chem. 23, 2889–2899.

Stillman J. (2003) Acclimation Capacity Underlies Susceptibility to Climate Change. Science (80-) 301:64–65

Sunday JM, Bates AE, Dulvy NK (2012) Thermal tolerance and the global redistribution of animals. Nat Clim Chang 2:686–690. https://doi.org/10.1038/nclimate1539

Thomaz AT, Carvalho TP, Malabarba LR, Knowles LL (2019) Geographic distributions, phenotypes, and phylogenetic relationships of Phalloceros (Cyprinodontiformes: Poeciliidae): Insights about diversification among sympatric species pools. Mol Phylogenet Evol 132:265–274. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.12.008

Turko AJ, Nolan CB, Balshine S, et al (2020) Thermal tolerance depends on season, age and body condition in imperilled redside dace *Clinostomus elongatus*. Conserv Physiol 8:1–15. https://doi.org/10.1093/conphys/coaa062

Vinagre C, Dias M, Cereja R, et al (2019) Upper thermal limits and warming safety margins of coastal marine species – Indicator baseline for future reference. Ecol Indic 102:644–649. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.03.030

Vinagre C, Leal I, Mendonça V, et al (2016) Vulnerability to climate warming and acclimation capacity of tropical and temperate coastal organisms. Ecol Indic 62:317–327. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.11.010

Vinagre C, Leal I, Mendonça V, Flores AA V (2015) Effect of warming rate on the critical thermal maxima of crabs, shrimp and fish. J Therm Biol 47:19–25. https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2014.10.012

Vinagre C, Mendonc V, Cereja R, et al (2018) Ecological traps in shallow coastal waters — Potential effect of heatwaves in tropical and temperate organisms. PLoS One 13:1–17

Wegner, N. C., Snodgrass, O. E., Dewar, H., & Hyde, J. R. (2015a). Whole-body endothermy in a mesopelagic fish, the opah, Lampris guttatus. Science, 348(6236), 786–789.

Westley PAH (2020) Documentation of en route mortality of summer chum salmon in the Koyukuk River, Alaska and its potential linkage to the heatwave of 2019. Ecol Evol 10:10296–10304. https://doi.org/10.1002/ece3.6751

Zhou LY, Fu SJ, Fu C, et al (2019) Effects of acclimation temperature on the thermal tolerance, hypoxia tolerance and swimming performance of two endangered fish species in China. J Comp Physiol B Biochem Syst Environ Physiol 189:237–247. https://doi.org/10.1007/s00360-018-01201-9

Zillig KW, Lusardi RA, Moyle PB, Fangue NA (2021) One size does not fit all: variation in thermal eco-physiology among Pacific salmonids. Rev Fish Biol Fish 31:95–114. https://doi.org/10.1007/s11160-020-09632-w