Ivan Gonçalves de Castro Ferreira

Caracterização da microbiota marinha sob influência do degelo glacial na Baía
do Almirantado, Antártica

Dissertação apresentada ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências, Programa de Oceanografia, área de Oceanografia Biológica.

Orientação: Profa. Dra. Vivian Helena Pellizari

São Paulo

2019

Universidade de São Paulo

Instituto Oceanográfico

Caracterização da microbiota marinha sob influência do degelo glacial na Baía do
Almirantado, Antártica

Ivan Gonçalves de Castro Ferreira

Dissertação apresentada ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, como parte
dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências, área de Oceanografia Biológica.

Julgada em _____

_____	_____
Prof(a). Dr(a).	Conceito
_____	_____
Prof(a). Dr(a).	Conceito
_____	_____
Prof(a). Dr(a).	Conceito
_____	_____

São Paulo

2019

Agradecimentos

Ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, seus professores e seus funcionários técnico-administrativo por oferecerem excelência em pesquisa e formação, e por todo o suporte científico, técnico e administrativo.

Agradeço à CAPES e ao CNPq pela concessão de bolsa de estudos e apoio aos projetos “Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia da Criosfera (INTC – Criosfera)” e “A Vida Microbiana na Criosfera Antártica: Mudanças Climáticas e Bioprospecção (MICROSFERA)”.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Agradeço à Profa. Dra. Vivian Helena Pellizari, pelas maravilhosas oportunidades oferecidas e por manter a pesquisa em microbiologia marinha sempre tão viva e intrigante.

Agradeço aos meus colegas do LECOM pelo apoio e amizade. Especialmente para Diego Franco, Natascha Bergo, Renato Gamba, Amanda Bendia e Francielle Peres pelos ensinamentos técnicos e científicos, e à Rosa Gamba pelo bom-humor diário e pelo seu cuidado com os alunos e colegas.

Agradeço à Profa. Dra. Camila Negrão Signori, por ter cedido uma de suas amostras para o meu trabalho, e, principalmente, por ter me recebido e acolhido no início da minha jornada no LECOM.

Agradeço à Profa. Dra. Elisabete de Santis Braga da Graça Saraiva, pela disponibilização de seu laboratório para as análises de nutrientes, e à equipe do LabNut, especialmente Vitor Gonzalez Chiozzini, que me ajudaram e realizaram partes cruciais destas análises.

Agradeço à Marina, minha melhor amiga e companheira, pelo carinho, cuidado e ajuda neste caminho percorrido, sempre me motivando a ir além.

Agradeço aos meus pais pelo amor e por sempre me apoiarem e me encorajarem frente aos desafios. Especialmente ao meu pai, por ter me presenteado com seu interesse pela natureza. Especialmente à minha mãe, pela sua companhia e dedicação infindáveis.

E a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste projeto e para o meu aprendizado. Muito Obrigado.

“. . . Perhaps decomposition is where my hope for the world lies.”

– Jenifer Wightman

RESUMO

O degelo glacial pode afetar a microbiota costeira pela introdução de sedimentos, nutrientes, matéria orgânica e diversidade alóctone, além de modificações na estrutura da coluna d'água e aumento de turbidez. Devido ao aumento de temperatura nas últimas décadas na região da Península Antártica, a Baía do Almirantado tem apresentado um rápido recuo de suas geleiras, que resultam na introdução de água de degelo em suas águas costeiras. Frente ao cenário futuro das mudanças climáticas e de seus efeitos na região da Península Antártica, este estudo buscou caracterizar a microbiota e avaliar os possíveis efeitos do degelo em águas pelágicas adjacentes à geleiras na Baía do Almirantado. Para isso, a concentração de micro-organismos fotoautotróficos e bactérias heterotróficas, assim como a diversidade taxonômica da comunidade procariótica, foram correlacionados com dados físicos e de elementos nutrientes da coluna d'água ao longo de dois verões antárticos. O degelo resultou em uma fina camada superficial modificada, de maior temperatura e menor salinidade, mas que não teve efeito sobre a microbiota. No início do verão, um aumento de temperatura e diminuição da salinidade tiveram um efeito positivo na abundância de células bacterianas e do fitoplâncton. As bactérias heterotróficas aumentaram ao longo do verão, representadas principalmente por grupos associados ao fitoplâncton e à degradação de matéria orgânica (Bacteroidete/Flavobacteriales, Alphaproteobacteria /Rhodobacterales, SAR11 e Gammaproteobacteria/Nitrospiraceae). O fitoplâncton teve um pico em Janeiro, e foi dominado pela diatomácea *Thalassiosira gravida*. Diferenças entre a microbiota do Estreito de Bransfield e da Baía do Almirantado podem ter sido resultado da introdução de diversidade alóctone nas águas da baía, que foi caracterizada pela maior abundância de Betaproteobacteria, Alphaproteobacteria, Actinobacteria e Firmicutes.

PALAVRAS-CHAVE: Península Antártica, comunidade microbiana, RNAr 16S, degelo.

ABSTRACT

Glacial melting can affect the coastal microbiota through the introduction of sediments, nutrients, organic matter and allochthonous diversity, as well as changes in the structure of the water column and increased turbidity. Due to the temperature increase in the last decades in Antarctic Peninsula, Admiralty Bay's glaciers have gone through a rapid retreat, resulting in the introduction of meltwater in coastal waters. Facing the future scenario of climate change and its effects in the Antarctic Peninsula, this study aims to characterize the microbiota in Admiralty Bay and to evaluate the possible effects of meltwater introduction in pelagic waters in the vicinity of the glaciers. For this, the concentration of photoautotrophic microorganisms and heterotrophic bacteria, as well as the taxonomic diversity of the prokaryotic community, were correlated with physical and nutrient data from the water column during two Antarctic summers. The melting resulted in a thin modified surface layer, of higher temperature and lower salinity, but this had no effect on the microbiota. Higher temperature and lower salinity had a positive effect on the abundance of bacterial cells and phytoplankton through the early summer. The heterotrophic bacteria increased during the summer, represented mainly by groups associated with phytoplankton and organic matter degradation (Bacteroidete / Flavobacteriales, Alphaproteobacteria / Rhodobacterales, SAR11 and Gammaproteobacteria / Nitrospiraceae). The phytoplankton peaked in January and was dominated by the diatom *Thalassiosira gravida*. Differences between the Bransfield Strait and Admiralty Bay microbiota may have resulted from the introduction of allochthonous diversity in bay waters, which was characterized by the greater abundance of Betaproteobacteria, Alphaproteobacteria, Actinobacteria and Firmicutes.

KEYWORDS: Antarctic Peninsula, microbial community, rRNA 16S, meltwater.

LISTA DE ABREVIACÕES

DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i> (Ácido Desoxirribonucleico)
ENSO	El Niño <i>Southern Oscillation</i> (Oscilação Sul EL Niño)
HNLC	<i>High Nutrients Low Chlorophyll</i> (Altos Nutrientes Baixa Clorofila)
MC	Mudanças Climáticas
MOD	Matéria Orgânica Dissolvida
nMDS	<i>non-metric Multidimensional Scalling</i> (Escalonamento Multidimensional não-métrico)
OUT	<i>Operational Taxonomic Units</i> (Unidades Operacionais Taxonômicas)
PP	Produção Primária
PB	Produção Bacteriana
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i> (Ácido Ribonucleico)
SAM	<i>Southern Annular Mode</i> (Modo Anular do Hemisfério Sul)
UPGMA	<i>Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Mean</i> (Método de Associação Média)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Microbiota do Oceano Austral	2
1.1.1. <i>Dinâmica Sazonal</i>	4
1.1.2. <i>Microbiota costeira da Ilha Rei George</i>	5
1.2. Mudanças Climáticas na Península Antártica	6
1.3. Efeitos do Degelo na Microbiota	8
2. OBJETIVOS	11
2.1. Objetivos Específicos	11
3. MATERIAIS E MÉTODOS	13
3.1. Área de Estudo	13
3.1.1. <i>Localização e Características Ambientais</i>	13
3.1.2. <i>Circulação e Correntes</i>	16
3.2. Amostragem	17
3.3. Caracterização Física da Coluna d'água	19
3.4. Quantificação de Elementos Nutrientes	19
3.5. Citometria de Fluxo	20
3.6. Comparação dos Dados de Nutrientes e Citometria de Fluxo	20
3.7. Análise de Diversidade Taxonômica pelo Gene do RNAr 16S	21
3.7.1. <i>Extração do DNA Total das Amostras de Água Filtradas</i>	21
3.7.2. <i>Sequenciamento do gene RNAr 16S</i>	21
3.7.3. <i>Análise dos Dados de Sequenciamento</i>	22
4. RESULTADOS e DISCUSSÃO	23
4.1. Variáveis Físico-Químicas	23
4.1.1. <i>Temperatura e Salinidade</i>	23
4.1.2. <i>Elementos Nutrientes</i>	27
4.2. Citometria de Fluxo	31
4.2.1. <i>Fitoplâncton Eucarioto</i>	31
4.2.2. <i>Bactérias Heterotróficas</i>	33
4.3. Correlação entre Dados da Citometria de Fluxo e Variáveis Ambientais	35
4.4. Estrutura das Comunidades Microbianas	37
4.4.1. <i>Resultados do Sequenciamento</i>	37
4.4.2. <i>Alfa-diversidade</i>	38
4.4.3. <i>Beta-diversidade</i>	40
4.4.4. <i>Perfil das Comunidades Microbianas</i>	45
4.4.5. <i>Distribuição Espacial dos Grupos Taxonômicos</i>	50

4.4.6. <i>Distribuição Temporal dos Grupos Taxonômicos</i>	51
4.4.7. <i>Autocorrelação das OTUs</i>	55
4.4.8. <i>Correlação com Variáveis Físico-Químicas</i>	57
5. CONCLUSÕES	61
5.1. Recomendações	62
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
7. APÊNDICE	73

1. INTRODUÇÃO

O clima global passa atualmente por um processo de mudanças inevitáveis que já afetam e continuarão afetando os ecossistemas marinhos em longo prazo (IPCC, 2014). Nesse contexto, para garantir que os oceanos continuem provendo bem-estar humano, se faz necessário monitorar e entender os impactos das Mudanças Climáticas (MC) nos ecossistemas marinhos e costeiros (RUCKELSHAUS et al, 2013). A Península Antártica é uma região muito vulnerável às MC, sendo uma das regiões do globo com maiores aumentos de temperatura nas últimas décadas (ANISIMOV et al., 2007). Estas alterações climáticas geram desequilíbrios na dinâmica nos ecossistemas Antárticos, e, conseqüentemente, na composição do microbioma e no balanço biogeoquímico do Oceano Austral (CAVICCHIOLI, 2015; DEPPLER e DAVIDSON, 2017).

Os microrganismos são o principal componente biótico dos oceanos e os principais atuantes no fluxo biológico dos elementos essenciais à vida (e.g. H, C, N, O, S), exercendo papel fundamental nos ciclos biogeoquímicos do planeta (FALKOWSKI et al., 1998; 2008). A fixação de carbono, nitrogênio e fósforo por microrganismos e sua conversão em material particulado formam a base da cadeia alimentar nos oceanos (WILKINS et al., 2013a). Assim, a comunidade microbiana é parte fundamental do funcionamento dos ecossistemas marinhos, sendo responsável por cerca de metade da produção primária (PP) do planeta e por quase toda a respiração nos oceanos (AZAM e MALFATTI, 2007; MORAN, 2015). Ademais, os processos microbianos estão intimamente envolvidos com a regulação dos gases de efeito estufa e são fundamentais à regulação do clima global, ajudando a mitigar as MC (SINGH et al., 2010).

Esses processos e funções exercidas pelos organismos dependem da composição da comunidade microbiana, (WILKINS et al., 2013a; CAVICCHIOLI, 2015), a qual é regulada pela combinação de diversos fatores físicos (e.g. luminosidade, temperatura, correntes e estratificação da coluna d'água) e químicos (e.g. presença e biodisponibilidade de nutrientes e minerais como o ferro, nitrogênio, silicato e fósforo) (CAVICCHIOLI, 2015). Da mesma forma, a composição do microbiota também é influenciada por interações bióticas, como a PP do fitoplanctônica, a lise viral e o *grazing* (AZAM e MALFATTI, 2007; WILKINS et al., 2013a; CAVICCHIOLI, 2015).

Sendo assim, no Oceano Austral, a composição da comunidade microbiana da zona fótica está intimamente associada aos ciclos sazonais climáticos, pois estes influenciam a disponibilidade de luz, assim como o balanço de formação e derretimento de gelo (WILKINS

et al., 2013a; SABA et al., 2014). Nos períodos de primavera e verão, a introdução de água de degelo e a diminuição dos ventos permitem a estratificação da coluna d'água, a diminuição da camada de mistura e a maior disponibilidade de nutrientes, o que favorece a ocorrência de *blooms* de fitoplâncton (CONSTABLE, 2014). Sendo um dos principais responsáveis pela estruturação da comunidade microbiana antártica, estes *blooms* de fitoplâncton favorecem uma comunidade microbiana menos diversa (sem a presença significativa de metabolismos alternativos) e predominantemente heterotrófica, em contraste aos meses de inverno (GHIGLIONE e MURRAY, 2012; WILLIAMS et al., 2012).

Portanto, se torna de grande importância aumentar o conhecimento acerca da dinâmica das comunidades microbianas da região e auxiliar nas respostas da humanidade às mudanças futuras (AZAM e MALFATTI, 2007; BOWLER et al., 2009; SINGH et al., 2010; VICHI et al., 2011). Isso porque, no cenário atual de sensibilidade do sistema Antártico às MC, os ciclos e dinâmicas sazonais do ecossistema desta região estão sendo alterados (MAYEWSKI et al., 2013; DEPPELER e DAVIDSON, 2017). Nesse contexto, a amostragem sazonal e ao longo de vários anos tem o potencial de revelar as condições ambientais que regulam a distribuição taxonômica e de evidenciar como as interações e metabolismos microbianos ajudam os microrganismos a prosperar em regiões polares e a responder às MC (BUNSE e PINHASSI, 2017).

1.1. Microbiota do Oceano Austral

O Oceano Austral é formado por diferentes zonas oceânicas ao redor do continente antártico, as quais são caracterizadas pelas suas assinaturas físicas, químicas e biológicas. Essas zonas são demarcadas pelas frentes circumpolares, sendo a Frente Sub-Tropical o limite norte do Oceano Austral (BOYD, 2002; DEPPLER e DAVIDSON, 2017). Grande parte das áreas oceânicas do Oceano Austral são consideradas áreas de HNLC (*High Nutrients Low Chlorophyll*), nas quais a produção primária (PP) é limitada devido à escassez de ferro, sílica e ao regime de irradiância, mesmo em abundância de macronutrientes como nitrogênio e fosfato que são trazidos de águas profundas pelo afloramento da Corrente Circumpolar (HART, 1934 apud BRANDINI e REBELLO, 1994; BOYD, 2002; CONSTABLE et al., 2014; DEPPLER e DAVIDSON, 2017). Entretanto, estes fatores limitantes possuem variações sazonais e regionais, e condições físicas e químicas ideais à PP, como estabilidade da coluna d'água e enriquecimento de ferro, podem resultar em *blooms* de fitoplâncton (GARIBOTTI et al, 2003;

PETROU et al., 2016).

Com isso, O Oceano Austral é responsável por cerca de 40% do sequestro de carbono atmosférico e possui uma desproporcional influência no clima global devido a sua capacidade de regular CO₂ atmosférico em escala geológica, processo intimamente associado à atividade microbiana de PP, e à exportação do carbono fixado para o fundo do oceano pela bomba biológica (FALKOWSKI et al., 1998; RAVEN e FALKOWSKI, 1999; FRÖLICHER et al., 2015; GOTTSACHLK et al., 2016). A parte da PP que não é exportada é remineralizada na coluna d'água pela Alça Microbiana, processo no qual o bacterioplâncton desempenha papel fundamental através da decomposição e consumo de matéria orgânica (WILLIAMS et al., 2012; WILKINS et al., 2013a). Há grande variância regional do processo de remineralização devido aos diferentes níveis de acoplamento entre a fitoplâncton, os *grazers* eucariotos e as bactérias heterotróficas, mas em algumas regiões do Oceano Austral a produção bacteriana (PB) pode chegar à mais da metade da PP local (LOCHTE et al., 1997; CHRISTAKI et al., 2014).

Devido às limitações metabólicas impostas pela temperatura, há décadas ocorre um debate sobre o papel da temperatura como limitante da PB nos pólos (KIRCHMAN et al., 2009; WILKINS et al., 2013a), mas mais recentemente, a matéria orgânica dissolvida e a clorofila vêm sendo colocadas como as principais reguladoras do crescimento bacteriano nestas regiões (KIRCHMAN et al., 2009; KIM e DUCKLOW, 2016; LURIA et al., 2016). Entretanto, a temperatura, juntamente com a salinidade e o oxigênio, são fatores que vêm sendo associados à regulação de metabolismos e da diversidade das comunidades bacterianas no Oceano Austral. Estes fatores físicos exibem sua influência através de diferentes gradientes, como a profundidade, sazonalidade, diferentes massas de água e diferentes zonas ecológicas da coluna d'água (SOHM et al., 2011; SIGNORI et al., 2014; ZHENG et al., 2015; GUTIÉRREZ et al., 2018). As comunidades de águas mais profundas, parecem ser mais estáveis, variando de acordo com a circulação de massas de água e seu tempo de residência (GHIGLIONE et al., 2012; WILKINS et al., 2013b; ZHENG et al., 2015), enquanto as comunidades de superfície se moldam principalmente pelas variáveis físico-químicas, como as já citadas acima, quanto às variáveis biológicas como PP, *grazing* e a composição do fitoplâncton, fatores que têm grande variabilidade entre localidades e estações do ano no Oceano Austral, (SIGNORI et al., 2014; ZHENG et al., 2015; MORENO-PINO et al., 2016; (SIGNORI et al., 2017; LURIA et al., 2016; GUTIÉRREZ et al., 2018).

Como revisado por WILKINS et al., 2013a, os principais grupos microbianos

encontrados na superfície do Oceano Austral são principalmente grupos relacionados à degradação de compostos orgânicos como os grupos de Alphaproteobacteria – SAR11 e Roseobacter – envolvidos na degradação do fitoplâncton, e o grupo Flavobacteria, envolvido na degradação de compostos orgânicos complexos. Também se destacam as Gammaproteobacteria, que além de ter representantes heterotróficos, também apresentam metabolismos variados como a oxidação de enxofre e fixação de carbono por quimiolitotrofia. Dentre as Arquéias, o Marine Group I (Thaumarchaeota), também envolvido na quimiolitotrofia, é o mais abundante em águas superficiais, seguido pelo Marine Group II (Euryarchaeota), grupo que contém organismos fotoheterotróficos que apresentam o pigmento proteorodopsina.

As cianobactérias, comumente encontradas em águas superficiais oceânicas, ocorrem em baixa abundância, ou total ausência no Oceano Austral (WILKINS et al., 2013a), e a comunidade fitoplanctônica é composta principalmente por organismos eucarióticos formadores de *blooms*. Nesses eventos, uma comunidade basal de nano- e pico-fitoplâncton é sobreposta pelo aumento da população de diatomáceas, haptófitas e dinoflagelados, que têm suas presenças e abundâncias dependentes de uma coluna d'água estável, disponibilidade de nutrientes e à sucessão natural dos *blooms* (GARIBOTTI et al., 2003; PETROU et al., 2016).

1.1.1. Dinâmica Sazonal

No Oceano Austral, a composição da comunidade microbiana da zona fótica, é intimamente associada aos ciclos sazonais e climáticos pois estes influenciam as propriedades físico-químicas da coluna d'água. Com o aumento da incidência solar e o derretimento da plataforma de gelo na primavera, há a introdução de água com baixa salinidade e rica em ferro, além do semente de fitoplâncton, que ficam retidos no gelo durante o inverno (MANGONI et al., 2009; BOYD et al., 2012). Isso resulta na formação de uma camada superficial estratificada, mais rasa e estável, que somada à disponibilidade de macronutrientes das águas profundas cria condições ideais para o afloramento do fitoplâncton (CONSTABLE et al., 2014; PETROU et al., 2016; DEPPELER e DAVIDSON, 2017).

Com a alta produção primária (PP), há um aumento na abundância de bactérias relacionadas à degradação da biomassa de fitoplâncton, que é formada e acumulada na coluna d'água (KIM e DUCKLOW, 2012). A degradação da matéria orgânica dissolvida (MOD) derivada dessa biomassa de fitoplâncton, ocorre gradualmente, com uma sucessão de grupos especializados em consumo de matéria orgânica de diferentes complexidades (KIM e DUCKLOW, 2012; WILKINS et al., 2013a). No início do *bloom*, é característica uma maior

abundância de Flavobacteria, especialmente o grupo Polaribacter, que está associado à colonização de partículas e degradação de matéria orgânica complexa (FERNÁNDEZ-GOMEZ et al., 2013; LURIA et al., 2016). A quebra da matéria orgânica em moléculas mais simples resulta em uma maior abundância dos grupos Alphaproteobacteria (Rhodobacteraceae) e Gammaproteobacteria (Cellvibrionales, Colwelliaceae), adaptados ao consumo de substratos de menor peso molecular (WILKINS et al., 2013a; LURIA et al., 2016; SIGNORI et al., 2017). Bactérias heterotróficas adaptadas à ambientes oligotróficos também podem ser abundantes no início da temporada produtiva na primavera, mas são desfavorecidas pela abundância de MOD durante os *blooms*, como é o caso de SAR11 e Oceanospiralles (SIGNORI et al., 2017).

A fixação de carbono também ocorre no inverno, mas através do metabolismo de bactérias e arqueias quimiossintetizantes, como as Gammaproteobacteria e o Marine Group I (MGI – Thaumarchaeota) (GRZYMSKI et al., 2012, LURIA et al., 2016; SIGNORI et al., 2017). Esses grupos são favorecidos em escassez de carbono orgânico, e tem suas abundâncias relativas diminuídas em águas superficiais no verão (SOHM et al., 2011; SIGNORI et al., 2014; ZHENG et al., 2015; GUTIÉRREZ et al., 2018). De fato, este padrão sazonal da comunidade é correspondente ao padrão de profundidade no verão, com a comunidade de inverno sendo substituída pela comunidade de verão em águas superficiais (MURRAY et al., 1998; LURIA et al., 2014; SIGNORI et al., 2014). No inverno, as arqueias (MURRAY et al., 1998; SIGNORI et al., 2017) e outros microorganismos envolvidos em metabolismos energéticos alternativos como oxidação de enxofre e nitrito (LURIA et al., 2016; SIGNORI et al., 2014), são parte significativa da comunidade microbiana. Já no verão, apesar destes grupos também serem encontrados, há dominância de alguns poucos grupos especializados, o que resulta em menor diversidade em águas superficiais (SIGNORI et al., 2017).

1.1.2. Microbiota costeira da Ilha Rei George

A zona da plataforma continental, mesmo abrangendo uma área pequena do Oceano Austral, é responsável por uma parte significativa da produtividade primária e possui grande importância para a diversidade e funcionamento de todos os níveis tróficos do ecossistema Antártico (AZAM e MALFATTI, 2007; DEPPLER e DAVIDSON, 2017). O enriquecimento por ferro resultante do transporte de sedimentos terrestres pelo degelo, e o afloramento da Água Profunda Circumpolar Superior, resultam em alta disponibilidade de nutrientes em águas superficiais, o que promove a produção primária (ver revisão de DEPPLER e DAVIDSON, 2017). Sendo uma região onde há a formação da água Profunda Antártica, o carbono fixado na superfície é

transportado para o fundo oceânico, o que torna as águas costeiras muito importantes no processo de sequestro de carbono atmosférico e no papel de regulação climática do Oceano Austral (ARRIGO et al., 2008).

Alguns trabalhos na Ilha Rei George já acessaram a diversidade da comunidade microbiana costeira da região, entretanto, ainda não são claras a dinâmica sazonal e a influência do degelo sobre a estrutura da comunidade microbiana na região. Na Península Fildes, Ilha Rei George, estudos sobre a diversidade microbiana na coluna d'água conduzidos por ZENG et al. (2014) encontraram dominância dos filos Bacteroidetes e Proteobacteria, tendo resultados semelhantes aos de outros estudos de águas costeiras antárticas (GIGHLIONE et al., 2012). Trabalho posterior na Baía Fildes obteve resultados similares com dominância de Gamma e Alphaproteobacteria, porém com menor presença de Bacteroidetes (MORENO-PINO et al., 2016).

Na Baía do Almirantado, PESSI et al. (2015) caracterizou o microbioma do terreno adjacente à geleira Wanda, encontrando uma comunidade funcionalmente diversa e que apresenta diferentes estratégias metabólicas, em contraste à comunidade com alta abundância relativa de Gammaproteobacterias, grupo que abrange representantes relacionados ao *turnover* de matéria orgânica dissolvida, encontrada no sedimento da baía por FRANCO et al. (2017).

1.2. Mudanças Climáticas na Península Antártica

Devido à sua localização, a Península Antártica possui condições climáticas muito diferentes do resto do Continente Antártico. Ela adentra o Oceano Austral e atua como um obstáculo à Deriva do Vento Oeste, o que resulta em pronunciados gradientes ambientais latitudinais e longitudinais (BRAUN e SCHNEIDER, 2000). Com um aumento de cerca de 3°C entre 1950 e 2004 (MEREDITH e KING, 2005), a Península Antártica tem sido uma das três regiões do mundo com maior aumento de temperatura atmosférica nas últimas décadas, sendo a única destas regiões no Hemisfério Sul (VAUGHAN et al., 2003; ANISIMOV et al., 2007).

Alguns dos mecanismos propostos para este aquecimento envolvem mudanças climáticas e na circulação de massas de água. O modo positivo do Modo Anular / *Southern Annular Mode* (+SAM) traz massas de ar mais quentes sobre a Península Antártica, efeito que é realçado pela variação El Niño do ENSO (CONSTABLE, 2014; DEPPLER e DAVIDSON, 2017). Esse fenômeno é caracterizado pelos ventos de Norte soprando sobre a península, que

também acaba favorecendo o aumento da intrusão de águas mais quentes da Corrente Circumpolar Antártica na região costeira da Península Antártica Ocidental – mais especificamente da Água Profunda Circumpolar Superior (*Upper Circumpolar Deep Waters* - UCDW) – e um decorrente aumento de temperatura nas águas superficiais da região (VAUGHAN et al., 2003; MEREDITH e HOGG, 2006). Essas mudanças recentes resultaram em condições mais favoráveis ao degelo, como um aumento de dias com temperatura positiva (Positive Degree Days – PDD) (HOCK, 1999; VAUGHAN, 2010) e o aumento da temperatura de águas superficiais a oeste da Península Antártica (MEREDITH e KING, 2005). O decorrente derretimento de geleiras das últimas décadas tem sido de fato pronunciado, com 87% da geleiras da Península Antártica mostrando sinais de retração entre 1940 e 2004 (COOK et al., 2005), processo que vêm aumentando ao longo desse período, especialmente na Península Antártica (RIGNOT et al., 2008), e tem gerado significativa introdução de água de degelo nas regiões costeiras (VAUGHAN, 2010).

Assim como em outras áreas da Península Antártica, a retração de geleiras tem sido observada na Ilha Rei George (BRAUN e HOCK, 2004). Nesta região, a retração das geleiras tem sido associada à perda recente ou ausência de ancoragem, à precipitação e ao balanço energético com a atmosfera (BRAUN e SCHNEIDER, 2000; BRAUN e HOCK, 2004; ROSA et al., 2014). Devido ao regime térmico das geleiras, que estão próximas ao ponto de fusão (ROSA et al., 2014), e às suas dimensões pequenas, elas estão susceptíveis à pequenas mudanças na radiação e no aumento de temperatura atmosférico - uma mudança de 1°C resultando em um aumento de 27% e 2°C em 62% na retração da geleira (BRAUN e HOCK, 2004). A alta sensibilidade das geleiras desta região às mudanças climáticas tem sido evidenciada, e períodos de maior derretimento têm sido relacionados com a incidência de massas de ar mais quentes trazidos pelos ventos de norte, que têm aumentado nas últimas décadas (BITANJA 1995; BRAUN et al., 2001; BRAUN e HOCK, 2004).

Na Baía do Almirantado, baía central da Ilha Rei George, o recuo das geleiras ao longo dos últimos anos é evidente: no período de 1979 a 2011 houve uma perda de 13,21% da área total das geleiras que fluem para a enseada de Martel, tendo destaque para a geleira Wanda, uma das áreas a serem observadas no presente estudo, que perdeu cerca de 31% de sua área inicial (ROSA et al., 2014); na geleira Ecology, também parte deste estudo, registrou-se uma retração de 1,35 km² no período de 1956 a 2005 (ROSA et al., 2009). Um efeito importante da introdução de água de degelo observado na baía é o transporte de sedimentos que ficam em suspensão na superfície da coluna d'água, principalmente nas proximidades dos pontos de

introdução de água de degelo (DOMACK e ISHMAN, 1993; PICHLMAIER et al., 2004; ROSA et al., 2014). A deglaciação da geleira Wanda, por exemplo, contribui com $19,49 \text{ kg s}^{-3}$ de sedimentos para as águas costeiras da Baía do Almirantado em Janeiro de 2011 (ROSA et al., 2015), que segundo PEÇHERZEWSKI (1980) pode chegar a receber ao total de 2000 ton de sedimentos diários no verão.

1.3. Efeitos do Degelo na Microbiota

Os efeitos da introdução da água de degelo são diversos e compreendem modificações físicas, químicas, e biológicas nos corpos de água adjacentes, atuando com maior ou menor intensidade dependendo da circulação local e proximidade com a fonte do degelo (DIERSEN et al., 2002; SLEMMONS et al., 2013; SOMMARUGA, 2015).

Devido à interação da água de degelo com o solo e com os terrenos proglaciais, ela possui o potencial de transportar nutrientes como nitrogênio (HOOD e SCOTT, 2008; SAROS et al., 2010), fósforo (HODSON, 2004; HODSON, 2007), carbono orgânico (HOOD e SCOTT, 2008; FELLMAN et al., 2010) e ferro (HODSON et al., 2017). Apesar da água de degelo ter menor concentração de solutos que outras descargas de águas terrestres, como os rios, os picos sazonais de degelo podem ter importante influência na disponibilidade de nutrientes dos corpos de água adjacentes, tanto pela introdução de nutrientes dissolvidos, quanto pela introdução de material particulado, que também pode servir como fonte de nutrientes (TRANTER, 2006).

Além disso, a água do degelo glacial também pode alterar a microbiota de fiordes e águas costeiras pela estratificação da coluna d'água. Apesar de ter sua influência sobre a hidrografia destas áreas subestimada, o degelo é um dos principais responsáveis pela formação de uma camada superficial estável (DIERSEN et al., 2002), a qual pode favorecer a formação de *blooms* de produção primária e acúmulo de biomassa de fitoplâncton devido à menor variabilidade de irradiância (VENABLES et al., 2013; SABA et al., 2014; KIM e DUCKLOW, 2016). Por outro lado, a introdução de sedimentos e conteúdo particulado promove maior turbidez dos corpos d'água adjacentes. Segundo HYLANDER et al. (2011), em áreas próximas à introdução da água de degelo este efeito pode atenuar em 20-25% a radiação fotossinteticamente ativa (PAR), fenômeno que pode ser o principal limitante da produtividade primária em ambientes lacustres, mesmo quando há alta disponibilidade de nutrientes (SLEMMONS et al., 2013).

Sendo assim, os efeitos do degelo sobre o fitoplâncton e a produção primária podem ser complexos e dependentes dos processos específicos de cada ambiente/Portanto, as respostas do

fitoplâncton à estes efeitos é complexa e apresenta grande variabilidade. Com águas menos salinas e mais quentes, a formação de uma camada superficial estável favorece a dominância de células menores no fitoplâncton (MOLINE et al., 2004; LI et al., 2009; PIQUET et al., 2014) e consequentes alterações em outros níveis tróficos que são de grande importância para toda a cadeia alimentar Antártica (ver revisão de DEPPLER e DAVIDSON, 2017). Porém, os efeitos sobre a biomassa de fitoplâncton tem maior variabilidade, respondendo em curto prazo às mudanças ambientais (MOLINE, 1996). Na costa da Península Antártica, DIERSSSEN (2002) observou uma correlação positiva de clorofila *a* com a formação de uma camada superficial estável, entretanto, nas proximidades de geleiras no Ártico, a produção primária foi limitada pela falta de nutrientes resultante da forte estratificação criada pela de água de degelo (PIQUET, 2014).

As mudanças físicas na coluna d'água também tem importante efeito sobre a comunidade de bactérias heterotróficas. A introdução de material particulado, além de diminuir a zona eufótica pelo aumento de turbidez, também reduz a eficiência da alimentação dos *grazers*, e possivelmente a eficiência de infecção dos vírus, resultando em um ambiente dominado bactérias heterotróficas (SOMMARUGA, 2015; DREW et al., 2016). Além disso, a água de degelo e o material particulado podem ser fonte de diversidade alóctone, que é carregada dos ambientes glaciais para a costa, e a estrutura da comunidade bacteriana em águas sob influência do degelo difere das típicas comunidades oceânicas, apresentando representantes de bactérias adaptadas à ambientes lacustres (PIQUET, 2011; GUTIÉRREZ et al., 2015; PETER e SOMMARUGA, 2016).

Por outro lado, muitas mudanças na comunidade de bactérias heterotróficas ocorrem indiretamente, pois estão relacionadas às interações ecológicas. O aumento da produção primária influencia a produção bacteriana pela disponibilização de matéria orgânica dissolvida (MOD), mas com variáveis níveis de acoplamento (AZAM e MALFATI, 2007; MONTERO, 2011). Mesmo estando constantemente sob alguma limitação de carbono orgânica dissolvido, KIM e DUCKLOW (2016) observaram que as bactérias heterotróficas da costa da Península Antártica Ocidental apresentam pouco acoplamento com a produção primária devido ao controle *top-down* da população de bactérias, resultante do *grazing* e da lise viral, e também à capacidade de utilização gradual de carbono orgânico lábil e semi-lábil, que é possível com a especialização de grupos bacterianos na assimilação de diferentes formas de matéria orgânica dissolvida (MOD). Em contraste, LURIA et al. (2016) observou forte correlação da produção primária com a produção e a composição da comunidade bacteriana. Mudanças na composição

e diversidade da comunidade bacteriana da costa da Península Antártica também tem sido relacionadas à composição da microbiota eucariótica (PIQUET, 2011), composição do fitoplâncton (GUTIÉRREZ, 2018), e à sazonalidade (GUTIÉRREZ et al., 2015), onde períodos ou condições de maior produção primária resultam em dominância de grupos específicos e menor diversidade da comunidade microbiana.

2. OBJETIVOS

Neste cenário, este trabalho se propôs a entender como a microbiota marinha costeira pode ser afetada pelo degelo em na Baía do Almirantado, Península Antártica.

2.1. Objetivos Específicos

- I. Identificar as mudanças físico-químicas no sistema pelágico adjacente às geleiras ao longo do verão;
- II. Quantificar as populações de fotoautotróficos e de bactérias heterotróficas no sistema pelágico adjacente às geleiras ao longo do verão;
- III. Caracterizar a diversidade e a estrutura da comunidade procariótica no sistema pelágico adjacente às geleiras ao longo do verão e em um ponto fora da baía;
- IV. Correlacionar a comunidade procariótica com fatores físico-químicos relacionados ao degelo de Wanda e Ecology.

Este estudo ocorreu no escopo dos projetos de pesquisa CNPq “Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia da Criosfera (INTC – Criosfera)”, vinculado ao Instituto de Goeciências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, e “A Vida Microbiana na Criosfera Antártica: Mudanças Climáticas e Bioprospecção (MICROSFERA)”, vinculado ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, pelo qual as coletas já foram realizadas. Ambos os projetos estão no âmbito do Programa Antártico Brasileiro (PROANTAR). Cabe lembrar que as coletas dentro da Baía do Almirantado foram descontinuadas devido ao início das obras de reconstrução da Estação Antártica Comandante Ferraz. Desta forma, os resultados obtidos nessa dissertação são fundamentais para orientar a frequência e localização das futuras coletas.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Área de Estudo

3.1.1. Localização e Características Ambientais

O estudo se concentra em duas localidades adjacentes às geleiras Wanda e Ecology, na Baía do Almirantado, Ilha Rei George (62°S, 58°N) (Figura 1). A ilha é integrante do Arquipélago das Ilhas Shetland do Sul, que estão a cerca de 125 Km de distância do ponto mais ao norte da Península Antártica. Ao norte da ilha, se encontra a Passagem de Drake e ao sul, o estreito de Bransfield, que separa a Ilha do continente Antártico.

Figura 1. À esquerda: localização da Ilha Rei George, em vermelho, nas Ilhas Shetland do Sul; À direita: localização da Baía do Almirantado na Ilha Rei George. Mapa modificado do “Management Plan for Antarctic Specially Managed Area No.1 ADMIRALTY” (Secretariat for Antarctic Treaty).

Com 83,4 km de linha de costa e uma área de 122,08 km², a Baía do Almirantado é a maior baía do Arquipélago das Ilhas Shetland do Sul. Ela é formada pela bacia central e três enseadas: Eczurra à oeste, Mackellar ao norte e Martel ao noroeste (Figura 2). As três enseadas da baía, sendo formações de vales glaciais elevados, são consideravelmente mais rasas que a depressão central da baía de 535 m (RAKUSA-SUSZCZEWSKI, 1995).

A Baía do Almirantado recebe crescentes atividades humanas como o turismo, atividades pesqueiras e, principalmente, atividades científicas, sendo sede da “Estação Antártica Comandante Ferraz”, do Brasil e da “Henryk Arctowski Polish Antarctic Station”, da Polônia. Para proteger os valores ambientais, históricos, científicos e estéticos da Baía, ela foi designada uma “Antarctic Specially Managed Area” (ASMA-1).

Figura 2. Baía do Almirantado e suas enseadas; Áreas aproximadas das geleiras Wanda e Ecology em destaque. Mapa modificado do “Management Plan for Antarctic Specially Managed Area No.1 ADMIRALTY” (Secretariat for Antarctic Treaty).

A geleira Ecology se encontra na costa oeste da bacia central da baía, ao sul da estação antártica polonesa “Arctowski”. Ela é alimentada pelo campo de gelo Warsawa (BITANJA, 1992 apud VIEIRA et al., 2005), possuindo uma área de 5,55 Km² (ARIGONY-NETO, 2001) e uma extensão frontal de 700 metros. A geleira Wanda se localiza na enseada de Martel, faz parte de campo de gelo Kraków, e tem 1,63 km² (ROSA et al., 2010). No período das coletas deste estudo, ambas as geleiras apresentavam base terrestre e lagunas proglaciais, recebendo influência direta do mar nas marés altas (Figura 3).

Figura 3. Região terminal das geleiras Ecology (a) e Wanda (b) no verão de 2014. Fotos cedidas pela Prof^a. Dr^a. Rosemary Vieira.

A ocupação e as atividades humanas têm gerado impacto localizado nas águas da baía: contaminação de compostos alifáticos são encontrados em maior concentração perto da estação brasileira, porém, os níveis médios na baía são similares aos outros ambientes da região (MARTINS et al., 2004); contaminação por metais pesados no sedimento próximo à estação brasileira, porém de baixo risco ambiental (SANTOS et al., 2005).

A região da Baía do Almirantado também é local de colônias de pinguins que se reproduzem durante o verão. A grande quantidade de indivíduos na temporada de reprodução pode enriquecer o solo da região costeira/praias com material orgânico pela deposição de guano (excretas), que pode chegar a 10 kg m^{-2} (TATUR e MYRCHA, 1984 apud ZDANOWSKI et al., 2005).

Algas bentônicas cobrem cerca de 30% do fundo da Baía do Almirantado, e devido a sua alta densidade, a biomassa estimada de 73.800 toneladas se compara à biomassa estimada de fauna bentônica. A região central da baía, tanto do lado leste como oeste, apresenta os agregados de algas de maior densidade, biomassa e riqueza de espécies. Adjacente à geleira Ecology são encontradas algas bentônicas desde as áreas mais rasas do sublitoral até cerca de 90 metros de profundidade, em uma faixa de cerca de 1200 metros de largura em relação à costa. Já no litoral da geleira Wanda as algas bentônicas são encontradas em uma faixa mais estreita do sublitoral, com cerca de 100 metros, e em profundidades máximas de 60 metros (ZIELINSKY, 1990).

A ilha Rei George se localiza na zona de ventos oeste antárticos, e por estar bem ao norte da Península Antártica, apresenta um clima marítimo, caracterizado por uma rápida

sucessão de sistemas de baixa pressão relativamente quentes e úmidos (BITANJA, 1995; BRAUN e SCHNEIDER, 2000). A temperatura média anual é de $1,8^{\circ}\text{C}$ ($-2.1 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$), a velocidade média dos ventos é de 6.5 m s^{-1} ($6.0 \pm 1.2 \text{ ms}^{-1}$), a precipitação média anual é 508.5 mm e a umidade média é 82%. A temperatura média das águas na Baía do Almirantado varia anualmente de -1.8°C a 4°C (Plano de Manejo para Área Especialmente Gerenciada No.1).

3.1.2. *Circulação e Correntes*

A bacia central do Estreito de Bransfield, onde se localiza a abertura da Baía do Almirantado, é caracterizada como um local de transição entre massas de água. Ao longo da costa das Ilhas Shetland do Sul, as águas mais quentes e menos salinas do mar de Bellingshausen, se deslocam para nordeste sobre as águas mais frias e de maior salinidade do mar de Weddel, formando a Corrente de Bransfield (TOKARCZYK, 1987; SANGRÀ et al., 2011). Na Baía do Almirantado, as águas superficiais têm maior influência das massas de água do Mar de Bellingshausen, enquanto a influência das massas de água do Mar de Weddel é maior com o aumento da profundidade. Este efeito parece ter uma dinâmica sazonal, onde no inverno prevalecem às massas de água do mar de Weddel, e no verão, as massas de água de Bellingshausen (TOKARCZYK, 1987).

A troca de águas com o Estreito de Bransfield, principal responsável pelas condições hidrológicas na Baía do Almirantado (RAKUSA-SUSZCZEWSKI, 1980), ocorre pela circulação proporcionada por marés irregulares, em intervalos de 5 a 14 horas, onde as águas do estreito adentram a baía pelas camadas mais profundas em direção à enseada de Eczurra, ao oeste, e saem principalmente pela superfície, ao longo da costa leste da baía (PRUSZACK, 1980). Segundo PRUSZACK (1980), a troca da água presente nos 100 metros superficiais da baía ocorre em um intervalo de 7 a 14 dias, e as correntes superficiais são determinadas tanto pela circulação derivada das marés, em condições de ventos fracos, abaixo de 3 m/s, quanto pelos ventos, em condições de ventos mais intensos, acima de 4 m/s.

Os ventos mais frequentes na Baía do Almirantado são os ventos de SW, W e NW, e o padrão prevalecente das correntes superficiais é de fluxo das águas para o Estreito de Bransfield, porém mudanças nas correntes internas da Baía podem ser observadas em diferentes regimes de ventos. Nas águas adjacentes à geleira Ecology, o fluxo de correntes se dá na direção NW-SE em todas as situações apresentadas; já na enseada de Martel, onde se encontra a geleira Wanda, a variação de correntes superficiais é dependente dos ventos, apresentando a mesma direção destes, e, em condições de ventos fracos, a Geleira Wanda fica na linha do limiar de

velocidade zero de corrente (PRUSZACK, 1980).

A troca relativamente rápida de água, somada à alta frequência e intensidade dos ventos na baía, resultam em forte mistura da coluna d'água e frequente ausência de estratificação (RAKUSA-SUSZCZEWSKI, 1980; ZIELIŃSKI, 1990). Entretanto, SZAFRAŃSKI e LIPSKI (1982) observaram que em áreas adjacentes aos “runoffs” das geleiras há formação de uma camada superficial fina, não excedendo um metro de profundidade, com salinidade e densidade significativamente mais baixas. Nestas áreas, o gradiente de salinidade é bem abrupto, e as águas encontradas mais abaixo não se diferenciam muito das águas do resto da baía.

3.2. Amostragem

As coletas foram feitas durante as Operações Antárticas (OPERANTAR) XXXIII e XXXIV nos verões de 2014-2015 e 2015-2016, por meio do projeto “A Vida Microbiana na Criosfera Antártica: Mudanças Climáticas e Bioprospecção (MICROSFERA)”. As amostras foram realizadas em cinco pontos temporais, correspondentes aos meses de Dezembro de 2014, Janeiro, Fevereiro e Dezembro de 2015, e Janeiro de 2016. Para comparação, também foi analisada uma amostra de superfície (25 m) do Estreito de Bransfield, fora da Baía do Almirantado. Esta amostra foi coletada pelo navio polar Almirante Maximiano, no PROANTAR XXXIV, e cedida pela Prof.^a Camila Signori (Instituto Oceanográfico – Universidade de São Paulo).

A coluna d'água em frente a cada geleira, Wanda e Ecology, foi amostrada em quatro estações definidas dentro de um transecto perpendicular à costa (Figura 4). As estações do transecto foram definidas pelas profundidades do fundo (aprox. 5 m, 15 m, 25 m e 35 m), com o limite de 35 m próximo ao limite da camada de mistura e da zona eufótica em condições brandas (BRANDINI, 1993). A Tabela 2 (Apêndice) contém a lista dos pontos amostrados, com sua descrição e informações da coleta.

Figura 4. Esquema amostral. Pontos vermelhos indicam as coletas de água para análise de elementos químicos e variáveis biológicas.

A amostragem foi realizada utilizando uma garrafa de *Van Dorn*. Para a análise de nutrientes foram armazenados 300 mL de água; para o cálculo de abundância celular através da citometria de fluxo foram fixados 1,5 mL de água em gluteraldaído (0,2%) em duplicatas; e para análises moleculares, 1,5 L de água foi filtrada em filtros estéreis Sartorius de 0,22 μm de porosidade, o qual foi armazenado em criotubos com solução RNA Holder. Todas as amostras foram armazenadas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Além disso, em cada estação das coletas de Dezembro de 2014 e Janeiro de 2015, foi feito um perfil superfície-fundo com o auxílio do sensor Micro CTD (*conductivity, temperature, and depth sensors*) portátil Falmoutht®. Ao fim das análises, os dados que foram obtidos com sucesso estão mostrados no Quadro 1.

Quadro 1. Dados obtidos após análises: símbolo verde indica dados adquiridos; “X” vermelho indica amostra não coletada ou problemas na recuperação dos dados; triângulo amarelo indica dados parciais, com amostras faltantes no ponto temporal.

	Wanda					Ecology				
	2014-15			2015-16		2014-15			2015-16	
	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Dezembro	Janeiro	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Dezembro	Janeiro
CTD	✓	✓	✗	✗	✗	✓	✓	✗	✗	✗
<i>Secchi</i>	⚠	⚠	✗	✗	✗	⚠	⚠	✗	✗	✗
Elementos Nutrientes										
Silicato	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Fosfato	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Nitrito	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Nitrato	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Concentração Celular										
Autotróficos Eucariotos	✓	✓	✓	✓	✓	⚠	✓	✓	✓	⚠
Bactérias Heterotróficas	✓	✓	✓	✓	⚠	⚠	✓	✓	✓	✓
Sequenciamento rRNA 16s	✓	✓	✓	✓	✓	✓	⚠	✓	✓	✓

3.3. Caracterização Física da Coluna d'água

A caracterização física foi feita por um sensor Micro CTD, como já mencionado acima, o qual obteve dados de temperatura e salinidade através do perfil da coluna d'água. Para análise foram usados apenas os dados de descida, além de um alisamento por janela móvel. A turbidez foi medida com um disco de *secchi*, e as medidas das estações mais próximas às geleiras foi desconsiderada pois havia visibilidade do fundo (~5 m).

3.4. Quantificação de Elementos Nutrientes

O fosfato e o silicato foram determinados por métodos colorimétricos de modo manual, utilizando a metodologia descrita em GRASSHOFF et al. (1999). As leituras das absorbâncias foram realizadas em espectrofotômetro da marca Thermo Evolution 200, sendo os comprimentos ópticos de 880 nm para o fosfato e de 810 nm para o silicato, com precisões de $\pm 0,01 \mu\text{M}$ e $\pm 0,05 \mu\text{M}$, respectivamente.

A determinação do nitrito e do nitrato seguiu o método colorimétrico. Primeiro foi feita a quantificação de nitrito, e então houve a redução do nitrato para nitrito, com o uso de coluna de cádmio cuperizado, conforme descrito em WOOD et al. (1967). Após segunda quantificação de nitrito, o valor de nitrito total (nitrito + nitrato reduzido) menos o valor do nitrito inicial fornece o valor de nitrato. As análises foram realizadas por procedimento automático utilizando o AutoAnalyzer II (Bran- Luebbe ®), em fluxo contínuo com arraste por bolhas, seguindo as recomendações de GRASSHOFF et al. (1999), TRÉGUER e LE CORRE (1975) e BRAGA (1997a, 1997b). A precisão do método para nitrito é de $\pm 0,01 \mu\text{M}$ e para nitrato é de $\pm 0,02 \mu\text{M}$.

3.5. Citometria de Fluxo

As populações microbianas foram quantificadas por citometria de fluxo. As amostras de água fixadas foram analisadas através do citômetro de fluxo Attune™, se baseando no protocolo de MARIE et al. (1999, 2014) para a identificação de cada população de células. Para as contagens de cada amostra, foram feitas réplicas de aquisições de 180 μl , totalizando 540 μl analisados por amostra, que foram excitadas por laser azul (488 nm). Picoeucariotos e Nanoeucariotos autotróficos foram identificados pela auto-fluorescência da clorofila-a (filtro FL3, 4650 nm - vermelho), e da ficoeritrina (filtro FL2, 580 $\pm$ 30 nm - laranja), simultaneamente. Após a análise dos fotoautotróficos foi adicionado “SYBR Green I” (Invitrogen Life Technologies, USA) para a quantificação das bactérias heterotróficas através da fluorescência em 530 $\pm$ 30 nm (filtro FL3 - vermelho). O *gating* e a contagem de células foram feitos pelo *software* FlowJo™ (FLOWJO, LCC, USA). Um exemplo da visualização e do *gating* da leitura de uma amostra de citometria é apresentado na Figura 27 (Apêndice).

3.6. Comparação dos Dados de Nutrientes e Citometria de Fluxo

As observações mensais de elementos nutrientes e das abundâncias populacionais obtidas pela técnica de citometria de fluxo, tiveram suas diferenças intra-anuais testadas por modelo linear generalizado no programa R (R CORE TEAM, 2017). Foram consideradas significativamente diferentes as observações que obtiveram um valor *p* de significância $\leq 0,05$.

Para averiguar correlação entre as variáveis, foi utilizado o método de correlação de Spearman através da função *rcorr* no programa R (R CORE TEAM, 2017). Foram consideradas

apenas as correlações com valores de $p \leq 0,05$. Dados ausentes não foram considerados para as correlações, sendo excluídos os pares com valores faltantes em cada pareamento de variáveis.

3.7. Análise de Diversidade Taxonômica pelo Gene do RNAr 16S

3.7.1. Extração do DNA Total das Amostras de Água Filtradas

A extração de DNA dos filtros foi feita por dois métodos diferentes, apresentados a seguir, pois no processo de extração, houve dificuldade na aquisição da quantidade necessária de DNA para o sequenciamento (mínimo de 1ng/μl). A quantificação do DNA foi feita pelo “Qubit 1.0 ds DNA HS Assay kit” (Life Technologies, USA).

O primeiro método de extração (BOSTRÖM et al., 2004 e MANGANELLI et al., 2009 modificado) foi utilizado nas amostras 1 a 8 e resultou em extrações com quantidades de DNA de 0,07 a 1,4 ng/μl, sendo esta última, a única amostra com quantidade suficiente. Além disso, as extrações apresentaram excesso de sais, que ficaram aparentes após congelamento a -20°C.

As extrações seguintes foram realizadas com o kit “DNeasy Blood and Tissue” (QIAGEN, USA). Devido à especificidade deste kit à material de tecido ou sangue, o protocolo de extração foi utilizado com as seguintes modificações: 1. Os filtros e solução “DNA Ladder” foram macerados juntos, com a utilização de nitrogênio líquido (foram utilizados tubos de 5ml para comportar todo material macerado de uma amostra sem a necessidade de dividi-la); 2. Foi adicionada uma etapa inicial com a adição de 500 μl de lisozima e banho a 37°C (1h com vortex a cada 15 min.); 3. Etapa 1 apenas com adição de 70 μl de proteinase K; 4. Aumento de volume dos reagentes nas etapas 2 e 3 do protocolo (de 200 μl para 556 μl de ‘Buffer AL’ e de etanol).

Apesar de nem todas estas amostras terem atingido concentração de DNA acima de 1ng/μl, todas as amostras foram sequenciadas com sucesso. A quantificação de DNA obtida para cada amostra está apresentada na Tabela 3 (Apêndice).

3.7.2. Sequenciamento do gene RNAr 16S

Para a classificação taxonômica foram utilizadas as regiões hipervariáveis V4 e V5 do gene do RNA ribossomal 16S. O DNA da região correspondente foi amplificado através dos iniciadores universais (que pareiam com sequências de bactérias e arqueias) 515F e 926R (WALTERS et al., 2015). Em seguida, o amplicon foi sequenciado com a tecnologia de alta performance HiSeq 2500 (Illumina, USA). As bibliotecas e o sequenciamento foram realizados

por meio de terceirização de serviços na empresa *Mr. DNA* (EUA) através da plataforma Illumina Miseq (Illumina, USA).

3.7.3. *Análise dos Dados de Sequenciamento*

A partir dos dados de sequenciamento do gene rRNA 16S foi feita a análise taxonômica de cada ponto amostrado. A filtragem de sequências de baixa qualidade foi realizada pelo *software* USEARCH (EDGAR R. C., 2010), sendo selecionadas apenas as sequências com tamanhos no intervalo de 350 a 450 pares de base (pb), que não fossem sequências únicas, e que não fossem quimeras. A montagem da tabela de unidades taxonômicas operacionais (OTU), o alinhamento das sequências e a classificação taxonômica foram feitas pelos softwares USEARCH (EDGAR R. C., 2010) e QIIME1 (CAPORASO J. et al., 2010). Para isso as sequências foram agrupadas por similaridade e as OTUs foram definidas por 97% de similaridade. As OTUs foram classificadas taxonomicamente pela sua similaridade com as sequências depositadas no banco de dados SILVA 132 (QUAST C. et al., 2013).

A riqueza das amostras foi estimada pelo índice Chao1 e a alfa-diversidade foi calculada pelo índice de Shannon (Schloss et al., 2009). Para estimar as dissimilaridades entre cada amostra, foram calculados os índices de beta-diversidade Bray-Curtis e UniFrac, os quais foram usados para obter: (1) agrupamentos hierárquicos (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic mean – UPGMA); (2) distanciamento entre as amostras pelo escalonamento multidimensional não-métrico (nMDS); (3) confirmação par-a-par da diferença entre agrupamentos, feita pela análise de variância multivariada por permutações Adonis, conforme LEGENDRE e ANDERSON (1999). As amostras utilizadas no nMDS foram apenas as amostras que continham os respectivos dados ambientais que foram utilizados na função “envfit”. A correlação da distribuição de amostras do nMDS com as variáveis ambientais (nutrientes, disco de secchi e concentrações celulares) foi calculada pela função “envfit” do programa R (The R Core Team, 2017), pacote “vegan” (OKSANEN et al., 2019). Os índices de diversidade e as análises multivariadas foram calculadas através do *software* QIIME1 (CAPORASO J. et al., 2010). A análise de Adonis foi feita conforme LEGENDRE e ANDERSON (1999), pelo pacote “vegan” do programa R. As OTUs mais abundantes, responsáveis por 80% das sequências, foram correlacionadas com as variáveis físico-químicas e com elas mesmas (autocorrelação) pelo método de Spearman, sendo consideradas apenas as correlações com valores $p \leq 0,05$, também calculadas pelo *software* R.

4. RESULTADOS e DISCUSSÃO

4.1. Variáveis Físico-Químicas

4.1.1. Temperatura e Salinidade

Em algumas estações, a coluna d'água apresentou uma camada superficial fina altamente estratificada (Figuras 5 e 6). Nas medidas de Dezembro na geleira Ecology, por exemplo, a salinidade chegou abaixo de 24‰ e a temperatura acima de 6 °C (dados não mostrados). Esta camada superficial é limitada a uma camada rasa (~0,5 m), e apresentou profundidade máxima nas estações mais próximas às geleiras, onde chega a cerca de 2 metros. O gradiente de salinidade foi encontrado em quase todas as medições, ficando ausente apenas em uma estação de Dezembro, na geleira Wanda (Figura 5f). A estratificação superficial da temperatura, entretanto, foi encontrada apenas na primeira estação dos perfis da coluna d'água, sendo ausente nas estações mais distantes das geleiras. Abaixo desta camada superficial, a coluna d'água se apresentou homogênea.

Uma fina camada estratificada já foi descrita na Baía do Almirantado por SZAFRAŃSKI e LIPSKI (1982) em regiões adjacentes ao *runoff* das geleiras, onde foi encontrado um gradiente intenso de salinidade, chegando a 13‰ de variação no primeiro metro de coluna d'água. A existência de lagunas proglaciais em ambas as geleiras Ecology e Wanda, pode ter papel fundamental na formação desta camada superficial, pois o represamento da água de degelo nas lagunas pode permitir a formação e acúmulo de água salobra e de temperatura mais alta (acima de 12 °C), que eventualmente é misturada com as águas costeiras (RAKUSA-SUSZCZEWSKI, 1995).

A coluna d'água adjacente à geleira Wanda apresentou aumento de temperatura de Dezembro (2014), com aproximadamente -0,5°C, para Janeiro, quando teve um mínimo de 0,2°C e apresentou maior alteração na camada superficial (Figura 5 a-d). A salinidade se manteve em torno de 34,25‰ na camada homogênea inferior em ambas as coletas (Figura 5 e-h). O gradiente superficial, entretanto, parece ter tido uma variação na geleira Wanda, atingindo maior profundidade no mês de Janeiro (2015), na estação mais próxima à geleira (Figura 5d).

Adjacente à geleira Ecology, a coluna d'água também apresentou aumento de temperatura do mês de Dezembro (2014), com cerca de 0,5°C nos cinco primeiros metros e 0°C nas partes mais profundas, para o mês de Janeiro (2015), com uma variação de 0,75 a 1,0°C (Figura 6b e 6d). O perfil de salinidade se manteve similar entre os meses de Dezembro (2014)

e Janeiro (2015) (Figura 6 e-h), apresentando apenas uma pequena diferença na profundidade do gradiente superficial, que ao contrário da coluna d'água adjacente à geleira Wanda, apresentou uma modificação mais profunda em Dezembro (2014) (Figura 6f).

As características físicas apresentadas neste trabalho estão dentro das variações descritas para a Baía do Almirantado, que incluem temperaturas de $-1,8^{\circ}\text{C}$ a mais de 4°C e salinidade de 16,40‰ a 34,57‰ (Plano de Manejo para Área Especialmente Gerenciada No.1; SZAFRAŃSKI e LIPSKI, 1982). Entretanto, as águas superficiais da baía não costumam apresentar temperatura negativa, nem chegar a salinidade superior a 34‰ nos meses de verão (SZAFRAŃSKI e LIPSKI, 1982; BRANDINI e REBELLO, 1994; SCHLOSS et al., 2014; MORENO-PINO et al., 2016), como foi observado neste estudo. Nos verões de 2006-07 e 2009-10, salinidade acima de 34‰ foi observada com maior consistência, porém as temperaturas estavam positivas (WASILOWSKA et al., 2015).

Na Baía do Almirantado, há uma mistura de massas de água do Mar de Weddel e do Mar de Ballinghausen. As águas do Mar de Weddel tem maior influência no inverno, e no verão ficam retidas nas regiões mais profundas devido à intrusão das massas de água do mar de Bellinghausen pela superfície (TOKARCZYK, 1987; SANGRÀ et al., 2011). Segundo SARUKHANYAN e TOKARCZYK (1988), a estrutura da coluna d'água na baía também sofre uma influência do gelo das geleiras e do gelo flutuante. Com observações no início de Fevereiro, os autores encontraram uma divisão de massas de água na baía, onde uma massa superficial (15-35m) com temperaturas mais altas ($+1,25^{\circ}\text{C}$) e salinidade mais baixa (34‰) é formada na interação das águas com o gelo.

Portanto, as baixas temperaturas e alta salinidade encontradas neste estudo podem resultar de uma maior influência das massas de água mais profundas da região. As medidas de Dezembro/Wanda, apresentando menores modificações superficiais, menores temperaturas e maiores salinidades, indicam uma camada superficial menos estratificada e com influência de águas mais profundas da Baía. Neste caso, maior circulação de águas na superfície pode ter sido responsável pela menor modificação superficial do degelo encontrada nesta amostra de Wanda/Dezembro.

O fluxo de águas superficiais ocorre principalmente de Nordeste para o Sudoeste, pois as águas do Estreito de Bransfield adentram a baía em grande parte pelas camadas mais profundas, e ressurgem na parte Nordeste da Baía, na região da geleira Wanda (PRUSZACK, 1980). Assim, as águas nesta região podem ter características das águas mais profundas, com

menor temperatura e maior salinidade, e irem se modificando conforme percorrem a superfície da baía. Ao chegarem na geleira Ecology, no Sudoeste da baía, a influência do degelo e da irradiância podem ter modificado estas águas. Portanto, as diferenças físicas entre as colunas d'água adjacente a cada geleira, podem ser resultado da circulação na baía.

Figura 5. Perfis de temperatura (a-d) e salinidade (e-h) da coluna d'água adjacente à geleira Wanda. Profundidade (*depth*) da coluna d'água em metros. Dados plotados por interpolação com média ponderada. a) Temperatura da coluna d'água total em Dezembro de 2014; b) Temperatura dos primeiros 5 metros de coluna d'água em Dezembro de 2014; c) Temperatura da coluna d'água total em Janeiro de 2015; d) Temperatura dos primeiros 5 metros de coluna d'água em Janeiro de 2015; e) Salinidade da coluna d'água total em Dezembro de 2014; f) Salinidade dos primeiros 5 metros de coluna d'água em Dezembro de 2014; g) Salinidade da coluna d'água total em Janeiro de 2015; h) Salinidade dos primeiros 5 metros de coluna d'água em Janeiro de 2015.

Figura 6. Perfis de temperatura (a-d) e salinidade (e-h) da coluna d'água adjacente à geleira Ecology. Profundidade (*depth*) da coluna d'água em metros. Dados plotados por interpolação com média ponderada. a) Temperatura da coluna d'água total em Dezembro de 2014; b) Temperatura dos primeiros 5 metros de coluna d'água em Dezembro de 2014; c) Temperatura da coluna d'água total em Janeiro de 2015; d) Temperatura dos primeiros 5 metros de coluna d'água em Janeiro de 2015; e) Salinidade da coluna d'água total em Dezembro de 2014; f) Salinidade dos primeiros 5 metros de coluna d'água em Dezembro de 2014; g) Salinidade da coluna d'água total em Janeiro de 2015; h) Salinidade dos primeiros 5 metros de coluna d'água em Janeiro de 2015.

4.1.2. Elementos Nutrientes

As concentrações de silicato e nitrato foram similares dentre os meses amostrados (Figuras 7 e 8) e estão de acordo com o descrito anteriormente para as águas superficiais da Baía do Almirantado (BRANDINI, 1993; BRANDINI e REBELLO, 2004; SCHLOSS et al., 2014) e de regiões costeiras próximas, como a Península de Fildes (LUO et al., 2016).

No primeiro verão (2014-15), as concentrações de silicato (Figura 7) foram mais próximas nos meses de Dezembro e Janeiro, e maiores em Fevereiro. No segundo verão (2015-16), as concentrações de Dezembro e Janeiro também foram similares entre si. Na coluna d'água próxima à geleira Ecology, as concentrações de 2015-16 foram maiores que do ano anterior, e próximas das medidas de Fevereiro 2015.

Figura 7. Concentração de silicato na coluna d'água adjacente às geleiras Wanda e Ecology. Diferenças significativas entre os meses de cada ano e entre os anos, estão indicadas com um asterisco.

No verão de 2014-15, o nitrato apresentou aumento no mês de Fevereiro na coluna d'água próxima à geleira Ecology (Figura 8b). Adjacente à geleira Wanda, a coluna d'água teve uma menor concentração de nitrato no verão de 2015-16, se comparado à coleta do ano anterior.

Figura 8. Concentração de nitrato na coluna d'água adjacente às geleiras Wanda e Ecology. Diferenças significativas entre os meses de cada ano e entre os anos, estão indicadas com um asterisco.

O nitrito teve concentrações maiores no segundo verão (2015-16), com uma mediana de 0,2 $\mu\text{mol/L}$, mas chegando a concentrações acima de 0,5 $\mu\text{mol/L}$ (Figura 9). Estas concentrações são mais altas do que os máximos previamente reportados para a região de 0,19 $\mu\text{mol/L}$ (BRANDINI e REBELLO, 2004) e 0,22 $\mu\text{mol/L}$ (LUO et al., 2016). No verão de 2014-15, a concentração de nitrito na coluna d'água foi menor em Fevereiro nas medidas da geleira Ecology (Figura 9b).

Figura 9. Concentração de nitrito na coluna d'água adjacente às geleiras Wanda e Ecology. Diferenças significativas entre os meses de cada ano e entre os anos, estão indicadas com um asterisco.

A concentração de fosfato (Figura 10) foi relativamente constante em todos os meses, apresentando um aumento significativo apenas na coleta de Fevereiro na coluna d'água adjacente à Ecology (Figura 8b). As concentrações encontradas neste trabalho de aproximam das concentrações de Dezembro e início de Janeiro do verão de 1988-89 (BRANDINI e REBELLO, 2004), quando um pequeno aumento de fosfato em Fevereiro também foi encontrado. Concentrações mais altas de fosfato já foram encontradas na Baía do Almirantado em 2010, com uma média de 4,4 $\mu\text{mol/L}$ e mínima de 2,9 $\mu\text{mol/L}$ (SCHLOSS et al., 2014).

Figura 10. Concentração de fosfato inorgânico na coluna d'água adjacente às geleiras Wanda e Ecology. Diferenças significativas entre os meses de cada ano e entre os anos, estão indicadas com um asterisco.

As concentrações de nutrientes encontradas neste trabalho são próximas das concentrações previamente descritas na Baía do Almirantado, não sendo limitantes para a

produção primária na região (SCHLOSS et al., 2014). Em trabalhos prévios, as águas próximas à costa da baía apresentaram maior concentração total de fósforo e nitrogênio que as águas centrais da baía ou águas do Estreito de Bransfield, fenômeno atribuído à presença de substâncias biogênicas em solo praial (principalmente guano depositado por pinguins e restos de algas), que são lavadas pelo escoamento de água do degelo (NEDZAREK, 2008). Entretanto, nem todas as concentrações de nutrientes inorgânicos seguem este padrão, pois as concentrações de nitrato são maiores nas águas do Estreito de Bransfield (NEDZAREK, 2008).

Menores concentrações de nutrientes inorgânicos encontradas no início do verão são consequência de uma maior diluição dos nutrientes pela água de degelo (BRANDINI e REBELLO, 2004). As concentrações de silicato e fosfato têm sido descritas como indicadoras do afloramento de águas profundas nas enseadas da Baía do Almirantado (BRANDINI e REBELLO, 2004), onde o afloramento aumenta a concentração destes nutrientes.

4.2. Citometria de Fluxo

4.2.1. *Fitoplâncton Eucarioto*

A concentração de células de fitoplâncton eucarioto foi da ordem de 10^3 células por mililitro (Figuras 11 e 12), cerca de dez vezes menos que a abundância característica de águas superficiais marinhas (AZAM e MALFATI, 2007; KIRCHMAN, 2012). Entretanto, a abundância de fitoplâncton é muito variável e águas antárticas podem apresentar abundâncias similares às encontradas neste trabalho, como já descritas previamente no outono no Mar de Weddel (KANG e FRYXELL, 2003) e na própria Baía do Almirantado (KOPCZYŃSKA, 2008). Segundo RAKUSA-SUSZCZEWSKI (1995), medidas de clorofila da Baía do Almirantado são dez vezes menores que medidas em outras baías da região durante os *blooms* de verão.

As medianas mensais, que estão acima de 2000 células por mL (exceto em uma amostra: Dezembro de 2015 em Ecology), foram maiores do que as contagens feitas por microscopia em águas costeiras também da Baía do Almirantado, que estavam abaixo de 1000 células por mL (KOPCZYŃSKA, 2008).

Tanto para a geleira Wanda (Figura 11), quanto para a Ecology (Figura 12), no verão de 2014-15, o número de células de fitoplâncton eucarioto teve um pico em Janeiro (2015). Dezembro (2014) e Fevereiro (2015) apresentaram valores similares. A concentração de fitoplâncton em Dezembro de 2015 diferiu bastante entre as amostras, onde Wanda teve maiores

concentrações que Ecology. Janeiro de 2016, entretanto, apresentou concentrações similares em ambas as geleiras.

Figura 11. Concentração de células do fitoplâncton eucarioto na coluna d'água adjacente à geleira Wanda. Diferenças significativas ($p \leq 0,5$) entre os meses de cada ano, estão indicadas com um asterisco.

Figura 12. Concentração de células do fitoplâncton eucarioto na coluna d'água adjacente à geleira Ecology. Diferenças significativas ($p \leq 0,5$) entre os meses de cada ano, estão indicadas com um asterisco.

Um pico de produção primária em Janeiro é um padrão característico da zona sazonal de gelo antártico (PETROU et al., 2016). Em águas costeiras próximas à Palmer Station, na Península Antártica, o pico de clorofila da temporada produtiva tem sido observado no início (LURIA et al., 2016) e no final (DIERSEN et al., 2002) de Janeiro, mas também em Dezembro ou Março, apresentando alta variabilidade interanual (KIM e DUCKLOW, 2016).

Não é certo que o padrão observado neste trabalho represente um padrão temporal da área da Baía do Almirantado, pois a baía apresenta uma produção primária é muito variável com uma sucessão de *blooms* de fitoplâncton ocorrendo ao longo da temporada produtiva e de forma espacialmente recortada, com diferenças entre localidades dentro da baía (KOPCZYŃSKA, 2008; WASILOWSKA et al., 2015). Essa variabilidade é possivelmente a responsável pela inconsistência interanual nas abundâncias do fitoplâncton.

Nesta área, o regime de ventos é muito influente sobre a produtividade primária devido à turbulência gerada na coluna d'água. Constantes períodos de ventos fortes, derivados dos ventos de Sul, são responsáveis pela ressuspensão de diatomáceas bentônicas, mas também impedem a formação de uma camada superficial estável duradoura em que o fitoplâncton possa se desenvolver (BRANDINI, 1993; BRANDINI e REBELLO, 2004).

4.2.2. Bactérias Heterotróficas

A concentração de células bacterianas foi da ordem de 10^5 células por mililitro (Figuras 13 e 14). Esta abundância é característica de águas oceânicas, mas em uma ordem de grandeza menor que a abundância encontrada em águas costeiras (AZAM et al., 1983; WILKINS et al., 2013a). No verão de 2014-15, o número de células bacterianas na coluna d'água apresentou um aumento ao longo do período amostrado, tanto na coluna d'água adjacente à Wanda (Figura 13), quanto à Ecology (Figura 14). Já o verão de 2015-16 apresentou um padrão diferente, com queda na concentração de células bacterianas entre os meses de Dezembro de 2015 e Janeiro de 2016.

Apesar das bactérias heterotróficas não responderem diretamente à produção primária (PP), a disponibilização de carbono orgânico dissolvido (COD) ao longo da temporada, possibilitada pela decomposição e *grazing* sobre o fitoplâncton, têm uma resposta positiva na produção bacteriana (PB) (KIM e DUCKLOW, 2016; LURIA et al., 2016). Com isso, picos de fitoplâncton são seguidos de picos de abundância e produção bacteriana, mas com um intervalo variável: Em um estudo decadal, KIM e DUCKLOW (2016) observaram um padrão de aumento

de PB e acúmulo de biomassa entre os meses de Dezembro, Janeiro e Fevereiro que variou de poucos dias à cerca de um mês; LURIA et al. (2016) observou um atraso de 20 dias entre o pico de PP, no início de Janeiro, e o de PB. Assim, o aumento de abundância ao longo da temporada pode estar relacionado à influência do COD proveniente do fitoplâncton na PB. Apesar da divergência de padrões temporais, com picos em diferentes meses, é possível que a abundância de bactérias heterotróficas esteja respondendo à abundância de fitoplâncton, mas com certo atraso.

Figura 13. Concentração de células bacterianas heterotróficas na coluna d'água adjacente à geleira Wanda. Diferenças significativas ($p \leq 0,5$) entre os meses de cada ano, estão indicadas com um asterisco.

Figura 14. Concentração de células bacterianas heterotróficas na coluna d'água adjacente à geleira Ecology. Diferenças significativas entre os meses de cada ano, estão indicadas com um asterisco.

4.3. Correlação entre Dados da Citometria de Fluxo e Variáveis Ambientais

As variáveis físicas salinidade e temperatura apresentaram uma correlação negativa entre elas ($\rho = 0,63$), resultado da fina camada estratificada formada pela introdução da água de degelo. A turbidez não apresentou correlação com a salinidade e temperatura. O transporte de sedimentos pela água de degelo ocorre na Baía do Almirantado (ROSA et al., 2014), porém, a turbidez é muito variável na baía (PICHLMAIER et al., 2004), podendo ser resultado do aporte de material terrígeno ou da ressuspensão de sedimentos costeiros (BRANDINI e REBELLO, 2004; PICHLMAIER et al., 2004).

Dentre os elementos nutrientes, foram encontradas correlações positivas entre fosfato e silicato ($\rho = 0,50$), fosfato e nitrato ($\rho = 0,78$), e entre nitrato e silicato ($\rho = 0,48$). Como apresentado anteriormente, nitrato, silicato e fosfato apresentaram aumento em Fevereiro (2015) nas águas adjacentes à geleira Ecology e nitrato também apresentou esse padrão nas águas adjacentes à Wanda. Portanto, essas correlações entre os elementos nutrientes podem estar relacionadas aos padrões temporais semelhantes que eles apresentaram neste trabalho.

Os elementos nutrientes não apresentaram correlação com a profundidade, temperatura ou salinidade, o que indica que não há diferenciação de nutrientes na fina camada superficial estratificada. Correlações com a profundidade e salinidade foram reportadas anteriormente na Baía do Almirantado, onde uma redução na concentração de nutrientes foi associada à diluição pela água de degelo, mas em condições de uma camada estratificada mais profunda de 10m (BRANDINI e REBELLO, 2004). A turbidez teve uma fraca correlação com o nitrito ($\rho = -0,34$).

Os nutrientes não são limitantes na Baía do Almirantado nem em outras áreas da região da Península Antártica (DEPPELER e DAVIDSON, 2017). A redução na concentração de nutrientes pode ocorrer como resultado dos *blooms* de fitoplâncton, mas mesmo nestas condições os nutrientes raramente chegam a concentrações limitantes na região da Península Antártica (DIERSSSEN et al., 2002). Este efeito também parece ser diminuto na Baía do Almirantado pois não há acúmulo suficiente de biomassa de fitoplâncton (BRANDINI e REBELLO, 2004). Neste estudo, o nitrito foi o único nutriente que apresentou correlação com alguma das concentrações de células microbianas (correlação negativa com as bactérias heterotróficas).

Ambas as concentrações de autotróficos eucariotos e de bactérias heterotróficas

apresentaram o mesmo padrão de correlação com a temperatura e salinidade (Figura 15), tendo correlação positiva com a temperatura ($\rho = 0,52$ e $0,62$, respectivamente) e negativa com a salinidade ($\rho = -0,36$ e $-0,42$, respectivamente). Apesar da temperatura e salinidade estarem correlacionadas com a profundidade (Figura 15), o que é claramente observado nos perfis da coluna d'água (Figuras 5 e 6), as concentrações celulares não apresentaram correlação com a profundidade. Isto indica que a correlação entre estas variáveis físicas da coluna d'água e as concentrações celulares ocorreu devido à suas variações temporais entre os meses de Dezembro (2014) e Janeiro (2015).

A fixação de carbono pelo fitoplâncton tem papel fundamental na dinâmica das bactérias heterotróficas, que utilizam a matéria orgânica como substrato para seu crescimento. Entretanto, há evidências crescentes que a correlação entre a produção primária e a produção bacteriana é muito variável pois a disponibilização de carbono orgânico lábil para as bactérias não é imediata (AMERYK et al., 2017). Alguns grupos bacterianos estão adaptados à rápida colonização de partículas e consumo de carbono orgânico complexo, mas grande parte do consumo de matéria orgânica ocorre com a degradação gradual de substratos mais complexos em substratos mais simples, o que gera um atraso na resposta das bactérias heterotróficas ao fitoplâncton (KIM e DUCKLOW, 2016; LURIA et al., 2016). Portanto, a ausência de correlação entre bactérias heterotróficas e autotróficos eucariotos encontrada neste trabalho, pode ser resultado do atraso na resposta das bactérias ao crescimento do fitoplâncton.

Também é possível que as bactérias heterotróficas estejam respondendo à matéria orgânica importada de águas abertas para a baía ou ainda à matéria orgânica de outras fontes de dentro da baía, como da decomposição das algas bentônicas (ZIELINSKY, 1990) e material biogênico lavado das praias (TATUR e MYRCHA, 1984 apud ZDANOWSKI et al., 2005).

A turbidez apresentou uma correlação positiva com a concentração de bactérias heterotróficas (Figura 15). Esta correlação pode ser resultado do efeito da turbidez gerada pela introdução de sedimento e partículas na coluna d'água, a qual inibe o crescimento de fitoplâncton e a atividade viral, proporcionando um ambiente dominado pelas bactérias (SOMMARUGA, 2015; DREW et al., 2016). Em fiordes, também já foi sugerido a água de degelo introduza células bacterianas afixadas às partículas do sedimento carregado (GUTIÉRREZ et al., 2014).

Figura 15. Correlação de Spearman entre as concentrações celulares (fitoplâncton eucarioto – Auto.Euk e bactérias heterotróficas – Bac.Het), elementos nutrientes (Fosfato, Silicato, Nitrito e Nitrato), variáveis físicas da coluna d'água (temperatura, salinidade e turbidez) e a profundidade. Foram consideradas apenas as correlações com valor de $p \leq 0,5$.

4.4. Estrutura das Comunidades Microbianas

4.4.1. Resultados do Sequenciamento

A análise do sequenciamento do gene ribossomal 16S, sequenciado no sistema Miseq-Illumina, gerou um total de 8.165.871 sequências em 114 amostras, com um mínimo de 20.815 e um máximo de 122.057 sequências por amostra. Utilizando a similaridade de 97%, as sequências foram classificadas em 2.074 OTUs. Além da identificação de bactérias e arqueias, a amplificação do gene bacteriano RNAr 16S que também está presente em cloroplastos, permitiu a identificação, ainda que limitada, de organismos eucarióticos fotossintetizantes. A identificação taxonômica das cinquenta OTUs mais abundantes esta apresentada na Tabela 4 (Apêndice).

4.4.2. Alfa-diversidade

Ambos os índices de alpha-diversidade Chao1 (Figura 16), que indica a riqueza de OTUS, e Shannon (Figura 17), que indica a diversidade de OTUS, apresentaram o mesmo padrão temporal em cada geleira. Nas amostras relativas à Wanda, a riqueza e a diversidade aumentaram ao longo do verão, em ambos os anos. Já nas amostras da água adjacente à geleira Ecology, a riqueza e a diversidade mostraram mudança apenas no mês de Fevereiro. Com a ausência de coletas em Fevereiro de 2016, não podemos dizer se esse padrão das amostras de Ecology se manteve no verão de 2015-16. Este segundo ano de coleta na geleira Ecology, entretanto, teve valores mais altos de riqueza e diversidade quando comparado ao primeiro ano, tendo a média e os valores sempre mais altos que a maior mediana do verão anterior (2015-14).

A amostra do Estreito de Bransfield apresentou um índice Chao1 de 365, e índice Shannon de 8.25, valores próximos às medianas mais baixas dos conjuntos de amostra de cada mês (Figuras 16 e 17).

Ao contrário do que foi encontrado neste estudo, a diversidade procariótica costuma decair ao longo do verão em águas superficiais da Península Antártica (GRZYMSKI et al., 2012; SIGNORI et al. 2017). Com alta produtividade primária e disponibilização de matéria orgânica dissolvida (MOD) na coluna d'água, alguns táxons copiotróficos demonstraram ter sua abundância relativa aumentada na temporada produtiva do Oceano Austral, o que não necessariamente diminui a riqueza de espécies, mas diminui a diversidade da comunidade microbiana (SIGNORI et al. 2017). Também em fiordes patagônicos, a diversidade de OTUs foi menor no verão do que no inverno, estando correlacionada negativamente com a temperatura (GUTIÉRREZ et al., 2018).

Por estas amostras estarem tão próximas da costa, a introdução de espécies alóctonas pode surtir efeito na diversidade. GUTIÉRREZ et al. (2015) argumenta que a comunidade bacteriana de um fiorde patagônico é influenciada pela introdução de espécies dos ambientes proglaciais lacustres. Sendo assim, é coerente que diversidade no Estreito de Bransfield, estando mais longe da influência da costa, tenha uma menor diversidade, especialmente em águas superficiais no verão.

Figura 16. Valores do índice de Chao1, das amostras da coluna d'água adjacente às geleiras Wanda e Ecology. Diferenças significativas entre os meses de cada ano e entre os anos, estão indicadas com um asterisco.

Figura 17. Valores do índice de α -diversidade Shannon, das amostras da coluna d'água adjacente às geleiras Wanda e Ecology. Diferenças significativas entre os meses de cada ano e entre os anos, estão indicadas com um asterisco.

4.4.3. Beta-diversidade

Para acessar possíveis agrupamentos das amostras pela diversidade taxonômica das amostras, foram realizadas a análise de agrupamento hierárquico UPGMA, o escalonamento multidimensional não-métrico (nMDS), e a análise par-a-par de variância multivariada por permutações Adonis. Nas análises de UPGMA todas as amostras sequenciadas foram utilizadas. Na análise nMDS foram utilizadas apenas as amostras que tivessem os respectivos dados de nutrientes, disco de *secchi* e concentrações celulares, que foram utilizados para a análise de correlação das variáveis com os agrupamentos. Isso excluiu da análise de nMDS, dentre outras, a amostra do Estreito de Bransfield.

Segundo a análise UPGMA (Figuras 18 e 19), em ambas as geleiras, as amostras foram primeiramente agrupadas pelas temporadas de coleta. Internamente à cada temporada, os

agrupamentos se formaram pelo mês de coleta. Na geleira Wanda (Figura 18), apenas quatro amostras foram discordantes com o agrupamento mensal, como ramos externos. Na geleira Ecology (Figura 19), também quatro amostras foram discordantes com um agrupamento mensal, sendo todas elas de Janeiro.

Na geleira Wanda (Figura 18), as amostras de Dezembro de 2014, não ficaram agrupadas com as outras amostras do mesmo verão (2014-15), como ocorreu na geleira Ecology. Isso indica que as amostras de Janeiro e Fevereiro em Wanda foram mais similares às amostras do verão seguinte (2015-16) do que com as amostras de Dezembro (2014).

Figura 18. Agrupamento UPGMA das amostras de Wanda e da amostra do Estreito de Bransfield pela distância de Bray-Curtis. Barras coloridas indicam o ponto temporal em que a amostra foi realizada: verão de 2014-15 (azul escuro) e verão de 2015-16 (vermelho); Dezembro (azul claro), Janeiro (lilás) e Fevereiro (laranja).

Figura 19. Agrupamento UPGMA das amostras de Ecology e da amostra do Estreito de Bransfield pela distância Bray-Curtis. Barras coloridas indicam o ponto temporal em que a amostra foi realizada: verão de 2014-15 (azul escuro) e verão de 2015-16 (vermelho); Dezembro (azul claro), Janeiro (lilás) e Fevereiro (laranja).

Semelhantemente ao agrupamento hierárquico, o nMDS indicou uma separação clara entre as amostras de cada verão, além da separação um pouco menos consistente, entre cada mês de coleta (Figuras 20 e 21). Segundo o resultado do “envfit”, as amostras do segundo verão (2015-16) estão correlacionadas com maiores concentrações de nitrito e silicato (Figura 24). A separação entre os meses está correlacionada com as medidas de turbidez do disco de *secchi* e com maiores concentrações de bactérias heterotróficas. De fato, há um evidente aumento de bactérias heterotróficas ao longo do primeiro verão (2014-15) (Figuras 13 e 14).

A análise de Adonis (Tabela 1) confirmou a diferença entre o agrupamento de cada

verão, com um valor de r^2 de 0,1725. Também se confirmou por Adonis a separação das amostras de cada mês, sendo ela aninhada em cada geleira ou não (Tabela 1).

Apesar dos resultados de Adonis terem confirmada a diferença entre as geleiras Wanda e Ecology (Tabela 2), o agrupamento destas amostras no nMDS não foi claro (Figura 21). Já as comparações entre os perfis de coleta (superfície, meio e fundo), não mostraram diferenças estatísticas, apesar do valor de p das permutações estarem próximos de 0,05 (valor usado neste trabalho para o a hipótese nula ser descartada) na comparação entre as amostras de superfície e fundo, em ambas as geleiras (Tabela 1).

Figura 20. Escalonamento multidimensional não-métrico da beta-diversidade das amostras, calculada pela distância de Bray-Curtis. Direção dos vetores indicam o gradiente das variáveis ambientais, e seu comprimento indica a força da correlação com a ordenação. Cores indicam o mês de coleta (Dezembro, Janeiro e Fevereiro) e as formas indicam os verões (2014-15 e 2015-16)

Figura 21. Escalonamento multidimensional não-métrico da beta-diversidade das amostras, calculada pela distância de Bray-Curtis. Direção dos vetores indicam o gradiente das variáveis ambientais, e seu comprimento indica a força da correlação com a ordenação. Cores indicam o mês de coleta (Dezembro, Janeiro e Fevereiro) e as formas indicam as geleiras (Wanda e Ecology)

Tabela 1. Adonis por pareamento de grupos de amostras.

Adonis			r ²	F	p
Operantar 33	X	Operantar 34	0.1725	22.931	0.0001
Wanda	X	Ecology	0.05291	6.1455	0.0001
Dez.33.Wanda	X	Jan.33.Wanda	0.1792	4.803	0.0001
Jan.33.Wanda	X	Fev.33.Wanda	0.22085	6.2361	0.0001
Jan.33.Wanda	X	Fev.33.Wanda	0.26056	7.7524	0.0001
Dez.34.Wanda	X	Jan.34.Wanda	0.18124	4.8698	0.0001
Dez.33.Eco	X	Jan.33.Eco	0.12168	1.9396	0.0001
Jan.33.Eco	X	Fev.33.Eco	0.23174	4.2231	0.0008
Jan.33.Eco	X	Fev.33.Eco	0.266	7.9726	0.0001
Dez.34.Eco	X	Jan.34.Eco	0.15437	4.016	0.0001
Dez.33	X	Jan.33	0.09293	3.893	0.0001
Jan.33	X	Fev.33	0.18367	10.35	0.0001
Jan.33	X	Fev.33	0.13264	5.8112	0.0001
Dez.34	X	Jan.34	0.08656	4.3592	0.0001
Sup.Wanda	X	Meio.Wanda	0.03808	1.5044	0.0858
Sup.Wanda	X	Fundo.Wanda	0.03789	1.4965	0.0843
Meio.Wanda	X	Fundo.Wanda	0.01744	0.6746	0.8583
Sup.Eco	X	Meio.Eco	0.04023	1.3832	0.1316
Sup.Eco	X	Fundo.Eco	0.04466	1.5427	0.0809
Meio.Eco	X	Fundo.Eco	0.02061	0.6734	0.8857

O método estatístico Adonis também apontou diferenças entre as amostras das águas adjacentes às geleiras Wanda e Ecology. Portanto, nestes eixos apresentados do nMDS (Figura 21), a diferença entre as geleiras parece estar interna aos outros agrupamentos já citados, pois as amostras de cada geleira apresentam os mesmos padrões de separação anual e mensal, exceto pelas amostras de Janeiro da geleira Ecology, que se agruparam próximas às amostras de Dezembro da geleira Wanda (Figura 21).

4.4.4. Perfil das Comunidades Microbianas

Considerando os agrupamentos de amostras encontrados pela análise de beta-diversidade, a identificação das comunidades foi analisada pela distribuição espacial (entre geleiras) e temporal (Figuras 22, 23 e 24).

Apesar dos 42 filos encontrados, o perfil da comunidade procariótica é dominado por poucos filos de grande abundância relativa (Figura 22). As sequências com maior abundância relativa são pertencentes ao domínio Bacteria, das quais os filos mais abundantes foram: Cyanobacteria, 39%; Proteobacteria, 37,6% (Alphaproteobacteria 15,8% e Gammaproteobacteria 20,4%); e Bacteroidetes, representando 20,7% do total das sequências. Quase todas as sequências classificadas no filo Cyanobacteria, entretanto, são sequências de cloroplastos (Figuras 22 e 23). Outros filos que apresentaram abundância superior a 0,5% em alguns dos pontos temporais apresentados na Figura 22, são Firmicutes (com 2,85% nas amostras da geleira Wanda, em Dezembro de 2014), Actinobacteria (com 1,31% nas amostras da geleira Wanda, em Dezembro de 2015), Verrucomicrobia (com 0,72% nas amostras de Fevereiro de 2015 da geleira Wanda), e Epsilonbacteraeota (com 0,5% nas amostras de Wanda em Fevereiro de 2015). As arqueias constituem pequena parte das sequências, tendo como filos mais abundantes, Euryarchaeota e Thaumarchaeota, com 0,1% de representação cada.

Figura 22. Abundâncias relativa dos filos encontrados pela análise do sequenciamento do gene RNAr 16S; amostras agrupadas por mês de coleta (Dezembro, Janeiro e Fevereiro do verão de 2014-15, e Dezembro e Janeiro do verão de 2015-16) e por região de influência de cada geleira (Wanda e Ecology), além da amostra do Estreito de Bransfield (BS).

Dentre as OTUs abundantes (Figuras 23 e 24), com representação mínima de 0,1%, as famílias mais abundantes do filo Proteobacteria foram a Nitrospiraceae (11,5%), da ordem Nitrospirales; o Clado I (7,6%) da ordem SAR11; Rhodobacteraceae (6,8%); Thioglobaceae (2,2%); Porticoccaceae (1,7%), da ordem Cellvibrionales; e a família Burkholderiaceae (1,4%) da ordem Betaproteobacteriales, que teve grande variação dentre as amostras, indo de 0% em certos grupos de amostras, até 12,9% de representatividade em Dezembro de 2014 nas águas adjacentes à geleira Wanda. As outras famílias apresentadas na Figura 24 têm sua representação abaixo de 1%.

Dentro do filo Bacteroidetes, a maior parte das OTUs mais abundantes pertencem à ordem Flavobacteriales. Desta ordem, as famílias com maior representação dentre as sequências, foi Flavobacteriaceae (14,7%), seguida por Cryomorphaceae (3,5%) e Marine Group NS9 (1,4%). As famílias Crocinitomicaceae e Marine Group NS7 tiveram 0,3% de representação dentre as OTUs mais abundantes. A família Cyclobacteriaceae, da ordem Cytophagales, teve uma representação de apenas 0,1% no total das sequências.

Dentre as OTUs abundantes, todas as OTUs do filo Cyanobacteria estão classificadas como cloroplastos (Figura 23). As sequências de cloroplasto com maior abundância foram da diatomácea *Thalassiosira gravida* (com 23,9% de representação) e OTUs não identificadas em níveis taxonômicos mais profundos: “uncultured bacterium” (6,8%) e “uncultured cyanobacterium” (6,3%) (Figura 24). Também se destaca a abundância da diatomácea *Corethron pennatum* na amostra de Wanda em Dezembro (2014) (Figura 24).

A comunidade encontrada é muito semelhante à comunidade descrita nas águas costeiras da Península de Fildes, Ilha Rei George (ZENG et al., 2014), e nas águas de superfície do Estreito de Bransfield, no verão (SIGNORI et al., 2014; 2017), nas quais há dominância de Bacteroidetes (principalmente Flavobacteriales) e Proteobacteria (Gamma- e Alphaproteobacteria). Os filos Firmicutes, Actinobacteria e Epsilonproteobacteria já foram encontrados em baixa abundância em águas do Oceano Austral (ver referências em WILKINS et al., 2013a) e também foram detectados na Península de Fildes (ZENG et al., 2014). Comparado à região de Palmer Station, também na Península Antártica Ocidental, a comunidade deste estudo apresentou menor abundância relativa de Alphaproteobacteria e maior abundância relativa de Gammaproteobacteria e Bacteroidetes (LURIA et al., 2016).

A comunidade da coluna d'água também parece ser distinta da comunidade do sedimento da Baía do Almirantado (em profundidades de 100 m a 502 m), que é caracterizada

por alta abundância relativa de Gammaproteobacteria, representada principalmente pelo gênero *Psychrobacter* (FRANCO et al., 2017). Apesar dos eventos de ressuspensão de sedimentos na coluna d'água resultante dos ventos (BRANDINI e REBELLO, 1994), o gênero *Psychrobacter* apareceu em abundâncias muito baixas (< 0,0%) neste estudo. Isso indica que composição da comunidade bacteriana dos sedimentos próximos à costa é distinta dos sedimentos em áreas mais profundas.

A baixa abundância relativa de arqueias e a dominância dos grupos Marine Group I (Thaumarchaeota) e Marine Group II (Euryarchaeota) (Figura 22), são característica das águas superficiais de verão da região da Península Antártica (MURRAY et al., 1998; WILKINS et al., 2013a; SIGNORI et al., 2017). Muitos ecótipos de Thaumarchaeota estão relacionados à quimiolitotrofia pela oxidação de amônia, metabolismo que é inibido pela luz (MERBT et al., 2012), mas alguns ribotipos de Thaumarchaeota não oxidantes de amônia foram descritos em águas antárticas no verão (KALANETRA et al., 2012), onde estes organismos podem estar se baseando no consumo de matéria orgânica (QIN et al., 2014). As arqueias do grupo Euryarchaeota são descritas como organismos fotoheterotróficos portadores de proteorodopsina, especializados na decomposição de proteínas e lipídios (IVERSON et al., 2012).

Apesar da grande dominância de cloroplastos dentre as OTUs de Cyanobacteria encontradas neste trabalho, linhagens de cianobactérias foram observadas com baixa abundância (<0,0%): como as famílias Phormidesmiaceae, Nostocaceae, Leptolyngbyaceae, e os grupos de cianobactérias não fotossintetizantes Melainabacteria (DI RENZI et al., 2013) e Sericytochromatia (SOO et al., 2014; 2017) (Dados não mostrados). A quase ausência de cianobactérias é característica das águas ao sul da Frente Polar do Oceano Austral (WILKINS et al., 2013c). Apesar de cianobactérias já terem sido encontradas em águas Antárticas, incluindo em lagos residuais com temperaturas abaixo de zero (ver referências em WILKINS et al., 2013a; LURIA et al., 2014), esta região é dominada pelo fitoplâncton eucarioto (WILKINS et al., 2013a; 2013c).

Nas Península Antártica, a comunidade de fitoplâncton eucarioto é bem diversa e de grande variação local e temporal, com representantes de diatomáceas e muitos grupos de fitoflagelados como haptófitas, criptófitas e dinoflagelados (GARIBOTTI et al., 2003; BRANDINI e REBELLO et al., 2004; LURIA et al., 2014). Muitas das OTUs de cloroplastos não foram identificadas pelo sequenciamento (Figura 24), mas alguns gêneros encontrados neste estudo são citados como representantes comuns da Península Antártica Ocidental: como

as diatomáceas *Thalassiosira* (23,9%), *Corethron* (1,7%) e *Chaetoceros* (0,2%) (GARIBOTTI et al., 2003; WASILOWSKA et al., 2015; MORENO-PINO et al., 2016). Também foram identificados os gêneros de diatomácea *Synedra* (0,4%) e *Proboscia* (0,2%), além de *Phalacroma* (Dinophyceae; 0,3%) e *Triparma* (Bolidophyceae; 0,4%).

Figura 23. Abundâncias relativa das ordens encontradas pela análise do sequenciamento do gene RNAr 16S – apenas das OTUs mais abundantes (acima de 0,1%); amostras agrupadas por mês de coleta (Dezembro, Janeiro e Fevereiro do verão de 2014-15, e Dezembro e Janeiro do verão de 2015-16) e por região de influência de cada geleira (Wanda e Ecology) , além da amostra do Estreito de Bransfield.

Figura 24. Abundâncias relativa das famílias encontrados pela análise do sequenciamento do gene RNAr 16S – apenas das OTUs mais abundantes (acima de 0,1%); amostras agrupadas por mês de coleta (Dezembro, Janeiro e Fevereiro do verão de 2014-15, e Dezembro e Janeiro do verão de 2015-16) e por região de influência de cada geleira (Wanda e Ecology) , além da amostra do Estreito de Bransfield.

4.4.5. Distribuição Espacial dos Grupos Taxonômicos

Considerando os filos mais abundantes, os grupos de amostras estudadas parecem ter perfis similares de comunidade (Figura 22). O maior contraste é na amostra empregada como referência proveniente do Estreito de Bransfield (BS) que possui maior abundância relativa de Cyanobacteria (68%) – em sua grande maioria, sequências de cloroplasto.

Na amostra do Estreito de Bransfield (BS), as sequências de cloroplasto de *Thalassiosira gravida* são relativamente mais abundantes, representando 63% das sequências (Figura 24). Outras OTUs classificadas como cloroplasto, mas não identificadas em níveis taxonômicos mais profundos, apresentaram abundâncias relativas muito menores ou estavam ausentes no Estreito de Bransfield.

Na região da Ilha Rei George, a diatomácea *Thalassiosira gravida* apresentou maior

abundância relativa em águas do Estreito de Bransfield do que em águas de Baía do Almirantado (KOPCZYŃSKA, 2008). As águas da Baía do Almirantado apresentam grande variabilidade de organismos do fitoplâncton, tendo a dominância alternada entre grupos de fitoflagelados (Cryptophyceae, Prymnesiophyceae e Prasinophyceae) (KOPCZYŃSKA, 2008) e eventuais *blooms* de diatomáceas (KOPCZYŃSKA, 2008; SCHLOSS et al., 2014; WASILOWSKA et al., 2015).

Também o filo Proteobacteria apresentou sua menor abundância relativa nas amostras do Estreito de Bransfield (Figura 22). As famílias de Alphaproteobacteria com maior abundância relativa no total das amostras, Clade I (SAR11) e Rhodobactereaceae, apresentaram uma grande queda na amostra do Estreito de Bransfield: Clade I (SAR11) – de 7,6% total, para 1%; e Rhodobactereaceae de 6,8% total, para 2,1%. Dentre as Gammaproteobacteria, a família mais abundante Oceanospirillales não teve abundância relativa muito menor no Estreito de Bransfield (11,6% total, para 7,3%) mas outros grupos apresentaram queda significativa: a ordem Thioglobaceae foi de 2,2% total, para 0,2%; Burkholderiaceae de 1,4% total, para <0,0%; Pseudomonadaceae de 0,9% total, para <0,0%; Colwelliaceae de 0,8% total, para <0,0% (Figura 24).

O filo Bacteroidetes teve uma representação de 17,3% no Estreito de Bransfield, próxima à representação média dentre as amostras (20,4%). Porém, algumas famílias deste filo também apresentaram sua menor abundância nesta amostra, como foi o caso da Cryomorphaceae (0,9%), Crocinitomicaceae (<0,0%), e as famílias Cyclobacteriaceae e NS7 Marine Group, ambas com <0,0% tanto na amostra do Estreito de Bransfield assim como em outros grupos de amostras.

As amostras de geleira Wanda e Ecology apresentam comunidades similares ao nível de filo, com os mesmos grupos dominantes. Porém, a abundância dos grupos dominantes tem maior variabilidade na geleira Wanda, que, ao nível taxonômico de ordem (Figura 23), parece apresentar um padrão temporal definido, principalmente ao longo do verão de 2014-15.

4.4.6. Distribuição Temporal dos Grupos Taxonômicos

Padrões temporais foram observados, especialmente no primeiro verão (2014-15) nas águas adjacentes à geleira Wanda, onde as ordens Flavobacteriales (Bacteroidete), Rhodobacterales (Alphaproteobacteria), SAR11 (Alphaproteobacteria) e Oceanospirillales (Gammaproteobacteria) tiveram suas menores abundâncias relativas nos meses de Dezembro

de 2014, com um aumento gradual a cada mês durante a temporada (Figura 23). Na geleira Ecology, porém, este padrão fica claro apenas para a ordem Rhodobacterales. No verão seguinte (2015-16) estes grupos parecem ter ficado com abundância relativa similar entre os meses de Dezembro e Janeiro.

As ordens Flavobacteriales e Rhodobacterales estão relacionadas ao consumo de matéria orgânica e têm sua abundância relativa aumentada nas temporadas produtivas na Península Antártica (WILKINS et al., 2013a; LURIA et al., 2016; SIGNORI et al., 2017). A ordem Flavobacteriales apresenta adaptações à colonização de partículas e degradação de polímeros e matéria orgânica mais complexa (FERNÁNDEZ-GÓMEZ et al., 2013), o que a favorece no início dos *blooms* de fitoplâncton onde a fixação de carbono aumenta a matéria orgânica na coluna d'água (WILKINS et al., 2013a; LURIA et al., 2016). Já Rhodobacterales, associada ao consumo de substratos mais simples e dependente de uma decomposição prévia da matéria orgânica, têm sua abundância aumentada mais tardiamente ao *bloom* de fitoplâncton (WILKINS et al., 2013a; LURIA et al., 2016; SIGNORI et al., 2017).

As ordens SAR11 e Oceanospirillales foram reportadas como mais abundantes nos meses de inverno e primavera, decaindo durante temporada produtiva na Península Antártica (LURIA et al., 2016; SIGNORI et al., 2017). Por ser onipresente em águas superficiais oceânicas, SAR11 já foi extensivamente estudada e é caracterizada com um metabolismo heterotrófico adaptado à oligotrofia, não sendo capaz de se aproveitar de alta disponibilidade de matéria orgânica (ver referências em WILKINS et al., 2013a). Já Oceanospirillales abrange táxons caracteristicamente heterotróficos, mas também metabolismos alternativos como fixação de carbono e oxidação de enxofre (SWAN et al., 2011; WILKINS et al., 2013a). A ordem já foi reportada na região da Península Antártica Ocidental, mas representada pela família Oceanospirillaceae (gênero *Balneatrix*; MORENO-PINO et al., 2016; SIGNORI et al., 2017), enquanto as OTUs encontradas neste estudo são da família Nitrincolaceae, que são caracterizadas como heterotróficas degradadoras de DNA (Não Publicado WASMUND et al., 2019) (Figura 24).

Portanto, o aumento de abundância dos grupos copiotróficos Rhodobacterales Flavobacteriales ao longo do verão está de acordo com o descrito na literatura, e indica um período de maior produção primária ou *input* de matéria orgânica. Apesar da ordem Oceanospirillales ter apresentado um padrão diferente das literatura, ele foi representado por uma família diferente neste estudo (Nitrincolaceae), e seu aumento pode sim estar correlacionada com um período de maior produção. Em contraste, o aumento de abundância de

SAR11 indica que a disponibilização de matéria orgânica dissolvida não foi tão alta, permitindo que ela se mantivesse como grupo abundante mesmo com um metabolismo oligotrófico.

As OTUs de cloroplasto foram mais abundantes no mês de Dezembro de 2014, em ambas as geleiras (Figura 23), o que difere do pico de células fototróficas encontradas neste estudo, que ocorreu em Janeiro de 2015 (Figuras 11 e 12). Nas águas adjacentes à geleira Wanda, há um padrão de diminuição na abundância relativa ao longo do verão. Porém, ao nível de família (Figura 24), as OTUs de cloroplasto apresentam padrões distintos e esta diminuição na abundância de cloroplastos parece derivar da variação pronunciada de apenas uma OTU classificada como “uncultured cyanobacterium”, a qual apresentou abundâncias relativas decaindo pronunciadamente ao longo de ambos os verões. Na geleira Wanda por exemplo, a abundância desta OTU era de 24,08% em Dezembro de 2014, e cai para 12,73% em Janeiro e 0,22% em Fevereiro de 2015.

As OTUs de diatomáceas *Corethron pennatum* e *Thalassiosira gravida* tiveram grandes variações entre os meses amostrados (Figura 24). Na Baía do Almirantado, *blooms* de diatomáceas, principalmente *Thalassiosira spp.*, têm sido relacionados à estratificação da camada superficial na Baía do Almirantado (SCHLOSS et al., 2014; WASILOWSKA et al., 2015; EGAS et al., 2017). As diatomáceas pelágicas cêntricas como *Thalassiosira spp.*, *Corethron spp.* e *Chaetoceros spp.* são características das águas abertas do estreito de Bransfield (KOPCZYŃSKA, 2008), portanto, maior abundância desses grupos no interior da baía pode indicar maior estratificação da coluna d’água e influência das águas do Estreito de Bransfield. Diatomáceas bentônicas também podem ser abundantes próximo à costa da Baía do Almirantado devido à ressuspensão de sedimento, que ocorre em eventos de desestabilização da coluna d’água (BRANDINI e REBELLO, 2004; KOPCZYŃSKA, 2008).

A família Thioglobaceae, especificamente uma OTU classificada como SUP05, teve maior abundância no segundo verão amostrado (2015-16). Este grupo faz parte das Gammaproteobacteria quimiolitotróficas oxidadoras de enxofre e já foram encontrados em águas costeiras da Península Antártica, sendo parte significativa da comunidade de inverno (GRZYMSKI et al., 2012; WILKINS et al., 2013a). SUP05 também já foi encontrado na oxiclina em flores, fazendo papel fundamental no processo de denitrificação sob condições anóxicas (HAWLEY ET AL., 2017).

A amostra de Dezembro, na geleira Wanda, foi distinta das outras amostras pela maior abundância de Firmicutes (2,8%) (Figura 22), Burkholderiaceae (13,0%), Alteromonadaceae (Colwelliaceae; 2,4%) e a diatomácea *Corethron pennatum* (13,1%) (Figura 24).

O gênero *Cowlellia* abrange espécies psicrófilas (METHÉ et al., 2005), comumente encontradas no gelo marinho (ver referências em WILKINS et al., 2013a), sendo produtoras de proteínas ligantes de gelo (RAYMOND et al., 2005).

Já *Burkholderia glumae* (Betaproteobacteria), pertence a um grupo de bactérias muito diverso, típicas de solo (ROESCH et al., 2012; GOORDIAL et al., 2016), em associação à rizosfera, como patógenos de plantas (DOBRITSA et al., 2017). As Betaproteobacteria são comumente encontradas em lagos (ver referências em WILKINS et al., 2013a), e associadas à introdução de água doce em ambientes marinhos.

O grupo Firmicutes é encontrado em diversos habitats, incluindo as águas do Oceano Austral e no gelo marinho (ver referências em WILKINS et al., 2013a), além de ambientes anóxicos como os lagos Antárticos (FRANZMANN et al., 1991; SATTLEY et al., 2007; 2008) criocônitos no gelo, onde estão associados à redução de sulfato (ZDANOWSKI et al., 2017). Firmicutes foi o filo com segunda maior abundância (1,5%) nas amostras de sedimento da Baía do Almirantado e do Estreito de Bransfield (FRANCO et al., 2018). Apesar de todas da maioria das amostras conterem Firmicutes, todas OTUs de Firmicutes apresentaram abundância relativa menor de 0,1%, não estando representadas nos gráficos das OTUs mais abundantes (Figuras 23 e 24). O metabolismo de redução de sulfato foi encontrado em solo adjacente à geleira Ecology (WOLICKA et al., 2014)

No geral, a Baía do Almirantado apresenta uma dinâmica temporal similar à de águas superficiais do verão antártico, com aumento de grupos associados aos *blooms* de fitoplâncton ao longo do verão, os quais que se aproveitam da alta disponibilização de carbono orgânico dissolvido para o seu crescimento (GHIGLIONE et al., 2012; WILLIAMS et al., 2012; LURIA et al., 2016; SIGNORI et al., 2017). Entretanto, a diversidade da comunidade microbiana não decaiu ao longo do verão, como costuma ocorrer em condições copiotróficas e de estabilização da coluna d'água (GHIGLIONE et al., 2012; LURIA et al., 2016; SIGNORI et al., 2017; GUTIÉRREZ et al., 2018).

O aumento de diversidade ao longo do verão encontrado neste estudo, pode ser resultado da circulação de águas na baía, a qual é muito dinâmica e não permite uma camada estratificada persistente no verão (RAKUSA-SUSZCZEWSKI, 1980; ZIELIŃSKI, 1990). O afloramento

de águas profundas nas enseadas baía e a mistura constante da coluna d'água (PRUSZAK, 1980; SARUKHANYAN e TOKARCZYK, 1988; RAKUSA-SUSZCZEWSKI, 1995) podem promover uma microbiota híbrida com organismos característicos dos *blooms* de fitoplâncton, mas também com microorganismos de massas de água profundas (também característicos do inverno e primavera antártico) e organismos dos ambientes glaciais e proglaciais, introduzidos pelo degelo.

Em fiordes, a introdução de organismos alóctones pode influenciar a composição da comunidade costeira (GUTIÉRREZ et al., 2015), portanto, na Baía do Almirantado a lavagem do solo proglacial e a ressuspensão dos sedimentos também podem ter grande influência sobre a comunidade. No solo praial da Baía do Almirantado, já foram encontradas de diversas formas de atividade bacteriana, como a utilização de compostos orgânicos derivados de algas e fungos (PESSI et al., 2012), a decomposição de guano dos pinguins (ZDANOWSKI et al., 2005) e a redução de sulfato (WOLICKA et al., 2014).

ZUMSTEG et al. (2012), encontrou Actinobacteria, Betaproteobacteria e Firmicutes dentre os grupos mais abundantes no solo adjacente à uma geleira alpina. PESSI et al. (2015), também encontrou abundâncias significativas de Betaproteobacteria (11,6%) e Actinobacteria (4,9%) no solo adjacente à geleira Wanda.

Portanto, as coletas de Dezembro na geleira Wanda, apesar de terem apresentado as menores modificação da água de degelo, apresentaram um perfil de comunidade diferente do restante das coletas, e podem ter sofrido maiores influências do degelo. Estas amostras, além de possuírem as menores abundâncias dos grupos Flavobacteriaceae e Oceanospirillales, que se apresentaram característicos das águas do Estreito de Bransfield, ela também teve maiores abundâncias de Actinobacteria, Firmicutes e Betaproteobacteriales, característicos dos solos proglaciais de geleiras (inclusive da geleira Wanda), e Colwelliaceae (Alphaproteobacteria), que é um grupo psicrófilo relacionado ao gelo.

4.4.7. Autocorrelação das OTUs

Dentre as OTUs mais abundantes, destaca-se a correlação positiva dos táxons de Flavobacteriales entre eles mesmos (exceto Cryomorphaceae) e com alguns táxons de Proteobacteria, como as OTUs dos grupos SAR11, SAR 92 e Rhodobacteriaceae (Figura 25). Isto pode ocorrer pois estes grupos estão relacionados com o consumo de matéria orgânica,

ocupando diferentes nichos na degradação da matéria orgânica dissolvida (MOD) (WILKINS et al., 2013a).

O grupo Cryomorphaceae já foi descrito como parte da comunidade bacteriana em águas costeiras da Península Antártica (GHIGLIONE e MURRAY, 2012; ZENG et al., 2014) sendo correlacionado à águas superficiais no Estreito de Bransfield (SIGNORI et al., 2017) à água de degelo em fiordes chilenos (GUTIÉRREZ et al., 2018).

Duas das OTUs de Proteobacteria (OTU 17 - *Cowlellia* e OTU 9 – *Burkholderia glumae*), não foram correlacionadas às Flavobacteriales (Figura 25).

As OTUs de cloroplastos exibiram diferentes padrões de correlação dentre elas e com ou outros grupos, mas de maneira geral, elas tiveram pouca correlação com Bacteroidetes e Proteobacteria (Figura 25). Os dados de citometria de fluxo deste trabalho também apresentaram ausência de correlação entre o fitoplâncton eucarioto e bactérias heterotróficas (Figura 15), o que pode ser explicado pelo atraso na resposta das bactérias ao crescimento do fitoplâncton.

A diatomácea *Thalassiosira gravida* e a OTU 530 (“uncultured marine eukaryote”) apresentaram correlações positivas com muitas das OTUs de Bacteria, como a OTU 15 (*Ulvibacter*) – já encontrada em associação ao *bloom* de fitoplâncton no Oceano Austral em um experimento de enriquecimento com ferro (THIELE et al., 2012) – e a OTU 8 (*Sulfitobacter*) – já descrita em comunidades da superfície de algas marrons (ALBAKOSH et al., 2015; MARTIN et al., 2015). Já a OTU 4 “uncultured cyanobacterium” apresentou correlação negativa com algumas OTUs de Bacteria, como a OTU 23 (*Cowlellia*) gênero psicrófilo ligado ao gelo marinho (METHÉ et al., 2005; RAYMOND et al., 2005) – e OTU 12 (SAR92), relacionado à remineralização do fitoplâncton (ver referências em WILKINS et al., 2013a).

Figura 25. Autocorrelação das 26 OTUs mais abundantes, responsáveis por ~80% das sequências totais; Índice de correlação de Spearman. Foram consideradas apenas as correlações com valor de $p \leq 0,5$.

4.4.8. Correlação com Variáveis Físico-Químicas

Dentre as OTUs com maior representação, nitrito e silicato foram os elementos nutrientes que tiveram correlação com um maior número de OTUs, e fósforo não apresentou correlação com nenhuma das vinte e seis OTUs mais abundantes (Figura 26). A salinidade da água também não apresentou correlação positiva com nenhuma das OTUs analisadas, enquanto a temperatura e a turbidez apresentaram correlação com OTUs tanto de cloroplasto quanto de bactérias.

A temperatura teve forte correlação negativa com três OTUs de cloroplasto, incluindo a diatomácea *Corethron pennatum* (Figura 26). Este grupo teve maior dominância em Dezembro (2014) próximo à geleira Wanda, onde a temperatura da coluna d'água foi mais fria. Uma OTU de *Colwellia* também apresentou correlação negativa com a temperatura. Como já citado anteriormente, as bactérias deste gênero têm metabolismo psicrófilo e são associadas ao gelo marinho (METHÉ et al., 2005; RAYMOND et al., 2005), portanto, um aumento de temperatura pode prejudicar o crescimento deste grupo.

Duas OTUs do grupo *Polaribacter* tiveram forte correlação positiva com a temperatura (Figura 26). Bactérias deste grupo são comumente encontradas no Oceano Austral e estão associadas aos *blooms* de fitoplâncton, tendo aumento de abundância relativa no verão (WILKINS et al., 2013a).

A turbidez apresentou correlação negativa com muitas OTUs de cloroplasto, o que indica que a atenuação da luz gerada pelas partículas em suspensão pode estar prejudicando a fotossíntese mesmo em águas superficiais. Muitas OTUs de bactérias, entretanto, apresentaram correlação positiva com a turbidez (Figura 26). Dentre elas, OTUs de bactérias relacionadas à decomposição e ao turnover de matéria orgânica: Flavobacteriales (NS4, NS5 e NS9); Gammaproteobacteria (*Colwellia*, SAR92 e Oceanospirillales); Alphaproteobacteria (Rhodobactereaceae/ Planktomarina). Cryomorphaceae apresentou forte correlação negativa com a turbidez.

Nitrito foi o elemento nutriente com maior número de correlações com as OTUs mais abundantes (Figura 26). Dentre as bactérias correlacionadas com nitrito, a OTU de Gammaproteobacteria “SUP05 cluster”, teve a mais alta correlação. Tanto a abundância relativa deste grupo, quanto as concentrações de nitrito, foram maiores no segundo verão amostrado neste trabalho (2015-16). O grupo SUP05 possui um metabolismo quimiolitotrófico anaeróbico facultativo, estando associado à zonas de oxigênio mínimo e altas concentrações de nitrito (HAWLEY et al., 2017; ROGGE et al., 2017). Sob condições anóxicas, este grupo utiliza o nitrato como aceptor de elétrons, sendo uma importante fonte de nitrito (SHAH et al., 2017).

Muitas OTUs de cloroplasto também apresentaram correlação positiva com nitrito, incluindo a diatomácea *Thalassiosira gravida* ($\rho = 0,27$), responsável pela maior parte das sequências de cloroplasto. O fitoplâncton eucarioto, incluindo diatomáceas do gênero *Thalassiosira*, podem ser responsáveis pelo acúmulo de nitrito na coluna d’água através da redução incompleta do nitrato (LOMAS e LIPSCHULTZ, 2006).

Nitrato apresentou correlação com cinco das vinte e seis OTUs analisadas, e em nenhuma delas o fator de correlação ρ foi maior que 0,5 (Figura 26). A diatomácea *Corethron pennatum*, assim como a OTU de Bacteroidete NS9 Marine Group, e a Gammaproteobacteria SAR92, apresentaram correlação positiva com nitrato. As OTUs com correlações negativas com nitrato foram duas representantes dos cloroplastos não identificadas especificamente (“uncultured cyanobacterium”).

O silicato foi correlacionado com 14 OTUs, mas as correlações foram relativamente

fracas (Figura 26). Apenas uma OTU de cloroplasto (“uncultured bacterium”) teve correlação negativa com silicato, a qual também teve correlação negativa com nitrito. O silicato também mostrou correlação positiva com a diatomácea *Thalassiosira gravida*, porém com um fator de correlação mais fraco. Também estão correlacionadas com silicato quatro OTUs de Bacteroidetes, sendo três da família Flavobacteriaceae, e cinco OTUs de Proteobacteria, incluindo as OTUs classificadas como Thioglobaceae e SAR11, que tiveram correlação com nitrito.

Figura 26. Correlação das 26 OTUs mais abundantes – responsáveis por ~80% das sequências totais – com as variáveis físico-químicas (fosfato, silicato, nitrito, nitrato, temperatura da água, salinidade da água, turbidez; Índice de correlação de Spearman; Foram consideradas apenas as correlações com valor de $p \leq 0,5$).

5. CONCLUSÕES

A coluna d'água nas áreas adjacentes às geleiras Wanda e Ecology apresentou uma fina camada superficial modificada, derivada da introdução da água do degelo na costa. Uma pluma de menor salinidade se estendeu por toda a cobertura do perfil amostrado, até cerca de 700 metros de distância da costa. A modificação na temperatura da coluna d'água, entretanto, ficou restrita às proximidades da costa, principalmente na primeira estação dos perfis amostrados.

Não ficou claro, entretanto, se esta pluma de degelo tem algum efeito sobre a microbiota. Isso, pois apesar da microbiota ter apresentado correlações com as variáveis físicas da coluna d'água (temperatura, salinidade e turbidez), ela não variou conforme a profundidade.

Na Baía do Almirantado, o fitoplâncton foi composto por diatomáceas e outros dois grupos de fitoplâncton eucarioto não identificados. Já fitoplâncton do Estreito de Bransfield teve uma maior dominância de diatomáceas do gênero *Thalassiosira*, que apareceram em menor abundância das águas da Baía do Almirantado. Estas diferenças podem ser resultado de processos costeiros, como o afloramento de águas profundas e mistura da camada superficial, além da introdução da água de degelo, que pode resultar em uma menor influência das águas do Estreito de Bransfield na Baía do Almirantado.

Os macronutrientes não se mostraram limitantes à produção primária, e o fitoplâncton da Baía do Almirantado foi influenciado principalmente por fatores físicos da coluna d'água. O pico de células foto autotróficas ocorreu em Janeiro.

Ao longo do primeiro verão (2014-15), houve um aumento de bactérias heterotróficas, principalmente de grupos bacterianos relacionados à decomposição de matéria orgânica como Flavobacteriales (Bacteroidete), Rhodobacterales (Alphaproteobacteria), SAR11 (Alphaproteobacteria) e Oceanospirillales/Nitrospiraceae (Gammaproteobacteria). Esta dinâmica temporal pode estar relacionada ao acúmulo de biomassa do fitoplâncton, mas também à outras fontes de matéria orgânica encontradas na Baía do Almirantado, como a o guano de pinguins lavado dos solos proglaciais pelo degelo, ou a ressuspensão de sedimentos próximos à costa rico fitoplâncton e macroalgas.

A maior abundância relativa dos grupos característicos de ambiente proglacial (Betaproteobacteria, Alphaproteobacteria, Actinobacteria e Firmicutes), somada ao aumento de diversidade ao longo do verão, indicam que a principal influência do degelo na baía é a introdução de espécies alóctones, não presentes ou presentes em baixa abundância em águas

abertas da região da península Antártica. Entretanto, a abundância destes grupos possivelmente relacionados ao degelo foi encontrada em condições de mistura da coluna d'água, o que está em desacordo aos efeitos esperados do degelo que intensificam a estratificação da coluna d'água.

5.1. Recomendações

Para uma investigação mais profunda sobre a dinâmica do degelo e sua influência na microbiota na Baía do Almirantado, sugere-se uma coleta pelo transecto ambiental: geleira, solo proglacial, águas próximas à costa e águas centrais da baía. Devido à instabilidade da coluna d'água na Baía do Almirantado, o acesso à dados físicos da coluna d'água em maiores profundidades e o acesso à dados meteorológicos locais, podem acrescentar à caracterização do estado da coluna d'água no momento das coletas, e ajudar no entendimento dos efeitos do degelo na microbiota da Baía do Almirantado.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBAKOSH M. A. et al. Identification of epiphytic bacterial communities associated with the brown alga *Splachnidium rugosum*. *Journal of Applied Phycology*, 2015.
- AMERYKA A. et al. Comparison of bacterial production in the water column between two Arctic fjords, Hornsund and Kongsfjorden (West Spitsbergen). *Oceanologia*, v. 123, 2017.
- ANISIMOV O. A., et al. Polar regions (Arctic and Antarctic). *Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, PARRY M. L., et al., Cambridge, Cambridge University Press, p. 653-685, 2007.
- ARRIGO K. R. et al. Phytoplankton Community Structure and the Drawdown of Nutrients and CO₂ in the Southern Ocean. *Science*, v. 283, p. 365-367, 1999.
- AZAM F., MALFATTI F. Microbial structuring of marine ecosystems. *Nature Reviews Microbiology*, v. 5, n. 10, p. 782-791, 2007.
- BINTANJA R. The local surface energy balance of the Ecology Glacier, King George Island, Antarctica: measurements and modelling. *Antarctic Science*, v. 7, n. 3, p. 315-325, 1995.
- BOSTRÖM et al. Optimization of DNA extraction for quantitative marine bacterioplankton community analysis. *Limnol. Oceanogr. Methods* 2, p. 365–373, 2004.
- BOYD P. W. Environmental Factors Controlling Phytoplankton Processes in the Southern Ocean. *J. Phycol.* V. 38, p. 844–861, 2002.
- BOYD P. W. et al. Mapping phytoplankton iron utilization: Insights into Southern Ocean supply mechanisms. *Journal of Geophysical Research*, v. 117, 2012.
- BOWLER C., KARL D. M., COLWELL R. R. Microbial oceanography in a sea of opportunity. *Nature*, v. 459, p. 180-184, 2009.
- BRAAK, C. J. F. TER; SMILAUER, P. CANOCO reference manual and CanoDraw for Windows user's guide: software for canonical community ordination (version 4.5). [s.l.] www.canoco.com, 2002.
- BRAGA, E.S. Determinação automática de nitrato. Em: WAGENER, A.R.L.; CARREIRA, R. Métodos analíticos de referência em Oceanografia Química. Rio de Janeiro, MMA/SMA. Cap. 6, p. 27- 29, 1997a.
- BRAGA, E.S. Determinação automática de nitrito. Em: WAGENER, A.R.L.; CARREIRA, R. Métodos analíticos de referência em Oceanografia Química. Rio de Janeiro, MMA/SMA. Cap. 7, p. 31- 35, 1997b.
- BRANDINI F. P. Phytoplankton biomass in an Antarctic coastal environment during stable water conditions - implications for the iron limitation theory. *Marine Ecology Progress Series*, v. 93, p. 267-275, 1993.
- BRANDINI F. P., REBELLO J. Wind field effect on hydrography and chlorophyll dynamics in the coastal pelagial of Admiralty Bay, King George Island, Antarctica. *Antarctic Science*, v. 6, n. 4, p. 433-442, 1994.
- BRAUN M., SCHNEIDER C. Characteristics of summer energy balance on the west coast of the Antarctic Peninsula. *Annals of Glaciology*, v. 31, 2000.

- BRAUN M., HOCK R. Spatially distributed surface energy balance and ablation modelling on the ice cap of King George Island (Antarctica). *Global and Planetary Change*, v. 42, p. 45–58, 2004.
- BUNSE C., PINHASSI J. Marine Bacterioplankton Seasonal Succession Dynamics. *Trends in Microbiology*, v. 25, n. 6, p. 494-505, 2017.
- CAPORASO J. G. et al. QIIME allows analysis of high- throughput community sequencing data. *Nature Methods*. v. 7, n. 5, p. 335-336, 2010.
- CAVICCHIOLI R. Microbial ecology of antartic aquatic systems. *Nature Reviews Microbiology*, v. 13, p. 691-706, 2015.
- CHRISTAKI U. et al. Microbial food web dynamics during spring phytoplankton blooms in the naturally iron-fertilized Kerguelen area (Southern Ocean). *Biogeosciences*, v. 11, p. 6739–6753, 2014.
- CONSTABLE et al. Climate change and Southern Ocean ecosystems I: how changes in physical habitats directly affect marine biota. *Global Change Biology*, v. 20, n. 10, p. 3004-3025, 2014.
- COOK A. J. et al. Retreating Glacier Fronts on the Antarctic Peninsula over the Past Half-Century. *Science*, v. 308, 2005.
- DEPPLER S. L., DAVIDSON A. T. Southern Ocean Phytoplankton in a Changing Climate. *Frontiers in Marine Science*, v. 4, n. 40, 2017.
- DIERSEN H.M., SMITH R. C., VERNET M. Glacial meltwater dynamics in coastal waters west of the Antarctic peninsula. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 99, n. 4, p. 1790-1795, 2002.
- DI RIENZI S. C. et al. The human gut and groundwater harbor non-photosynthetic bacteria belonging to a new candidate phylum sibling to Cyanobacteria. *eLife*, 2013.
- DOBRTSA A. P. LINARDOPOULOU E. V., SAMADPOUR M. Transfer of 13 species of the genus *Burkholderia* to the genus *Caballeronia* and reclassification of *Burkholderia jirisanensis* as *Paraburkholderia jirisanensis* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 67, p. 3846–3853, 2017.
- DOMACK E., ISHMAN S. Oceanographic and physiographic controls on modern sedimentation within Antarctic fjords. *Geological Society of America Bulletin*, v. 105, p. 1175-1189, 1993.
- DREWES F., PETER† H., SOMMARUGA R. Are viruses important in the plankton of highly turbid glacier-fed lakes? *Scientific Reports*, 2016.
- EDGAR, R. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, v. 26, p. 2460–2461, 2010.
- FALKOWSKI P. G., BARBER R. T., SMETACEK V. Biogeochemical controls and feedbacks on ocean primary production. *Science*, v. 281, p. 200-206, 1998.
- FALKOWSKI P. G., FENCHEL T., DELONG E. F. The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles. *Science Microbial Ecology*, v. 320, p. 1034-1039, 2008.
- FELLMAN J. B. et al. The impact of glacier runoff on the biodegradability and biochemical composition of terrigenous dissolved organic matter in near-shore marine ecosystems. *Marine Chemistry*, v. 121, p. 112–122, 2010.

- FERNÁNDEZ-GÓMEZ B., et al. Ecology of marine Bacteroidetes: a comparative genomics approach. *The ISME Journal*, v. 7, p. 1026–1037, 2013.
- FRANCO, D. C. et al. High Prevalence of Gammaproteobacteria in the Sediments of Admiralty Bay and North Bransfield Basin, Northwestern Antarctic Peninsula. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, n. 153, 2017.
- FRANZMANN P. D. et al Psychrotrophic, lactic acid-producing bacteria from anoxic waters in Ace Lake, Antarctica; *Carnobacterium funditum* sp. nov. and *Carnobacterium alterfunditum* sp. nov. *Arch Microbiol*, v. 156, p.255-262, 1991.
- FRÖLICHER T. L. et al., Dominance of the Southern Ocean in Anthropogenic Carbon and Heat Uptake in CMIP5 Models. *Journal of Climate*, v. 28, p. 862-886, 2015.
- GAROBITTI I. A. et al. Phytoplankton spatial distribution patterns along the western Antarctic Peninsula (Southern Ocean). *Mar Ecol Prog Ser*, v. 261, p. 21–39, 2003.
- GHIGLIONE J.-F et al. Pole-to-pole biogeography of surface and deep marine bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 109, n. 43, 2012.
- GHIGLIONE J.-F, MURRAY A. E. Pronounced summer to winter differences and higher wintertime richness in coastal Antarctic marine bacterioplankton. *Environmental Microbiology*, v. 14, n. 3, p. 617-629, 2012.
- GLÖCKNER F. O. et al. 25 years of serving the community with ribosomal RNA gene reference databases and tools. *Journal of biotechnology*, v. 261, p. 169-176, 2017.
- GOORDIAL J. et al. Nearing the cold-arid limits of microbial life in permafrost of an upper dry valley, Antarctica. *ISME Journal*, v. 10, p. 1613–1624, 2016.
- GOTTSACHLK et al. Biological and physical controls in the Southern Ocean on past millennial-scale atmospheric CO₂ changes. *Nature Communications*, v.7, 2016
- GRASSHOFF K., KREMLING K., EHRHARDT M. *Methods of Seawater Analysis*. 3rd ed. Florida: Verlag Chemie: p. 417, 1999.
- GRZYMSKI J. J. et al. A metagenomic assessment of winter and summer bacterioplankton from Antarctica Peninsula coastal surface waters. *The ISME Journal* v. 6, p. 1901–1915, 2012.
- GUTIÉRREZ M. H. et al. Melting glacier impacts community structure of Bacteria, Archaea and Fungi in a Chilean Patagonia fjord. *Environmental Microbiology*, v. 17, n. 10, p. 3882-3897, 2015.
- GUTIÉRREZ M. H., et al. Linking Seasonal Reduction of Microbial Diversity to Increase in Winter Temperature of Waters of a Chilean Patagonia Fjord. *Frontiers in Marine Science*, v.5, n. 277, p. 1-20, 2018.
- HARRELL F. E. Jr., with contributions from DUPONT C. and many others. Hmisc: Harrell Miscellaneous. R package version 4.2-0. <https://CRAN.R-project.org/package=Hmisc>, 2019.
- HAWLEY A. K. et al. Diverse Marinimicrobia bacteria may mediate coupled biogeochemical cycles along eco-thermodynamic gradients. *Nature Communications*, 2017.
- HOCK R. A distributed temperature-index ice- and snowmelt model including potential direct solar radiation. *Journal OF Glaciology*, v. 45, n. 149, p. 101-111, 1999.

HODSON A., MUMFORD P., LISTER D. Suspended sediment and phosphorus in proglacial rivers: bioavailability and potential impacts upon the P status of ice-marginal receiving waters. *Hydrol. Process.*, V. 18, P. 2409–2422, 2004.

HODSON A. et al. Climatically sensitive transfer of iron to maritime Antarctic ecosystems by surface runoff. *Nature Communications*, v.8, p. 1-7, 2017.

HOOD E., SCOTT D. Riverine organic matter and nutrients in southeast Alaska affected by glacial coverage. *nature geoscience*, v. 1, 2008.

HYLANDER S. et al. Climate-induced input of turbid glacial meltwater affects vertical distribution and community composition of phyto- and zooplankton. *Journal of Plankton Research*, v. 33, n. 8, p. 1239–1248, 2011.

IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). *Climate Change 2014: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Part B: Regional Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge, UK: Cambridge University Press., p. 688, 2014.

IVERSON V. et al. Untangling Genomes from Metagenomes: Revealing an Uncultured Class of Marine Euryarchaeota. *Science* v. 335, n. 6068, p. 587-590, 2012.

KALANETRA K. M., BANO N., HOLLIBAUGH J. T. Ammonia-oxidizing Archaea in the Arctic Ocean and Antarctic coastal waters. *Environmental Microbiology*, 2009.

KANG S.-H., FRYXELL G. A. Phytoplankton in the Weddell Sea, Antarctica: composition, abundance and distribution in water-column assemblages of the marginal ice-edge zone during austral autumn. *Marine Biology*, v. 116, p. 335-348, 1993.

KIM H., DUCKLOW H. W. A Decadal (2002–2014) Analysis for Dynamics of Heterotrophic Bacteria in an Antarctic Coastal Ecosystem: Variability and Physical and Biogeochemical Forcings. *Frontiers in Marine Science*, v. 3, 2016.

KIRCHMAN D. L., MORÁN X. A. G., DUCKLOW H. Microbial growth in the polar oceans — role of temperature and potential impact of climate change. *Nature Reviews Microbiology*, v. 7, p. 451-459, 2009.

KOPCZYŃSKA E. E. Phytoplankton variability in Admiralty Bay, King George Island, South Shetland Islands: six years of monitoring. *Polish Polar Research*, v. 29, n. 2, p. 117–139, 2008.

LANGE P. K. et al. Shifts in microphytoplankton species and cell size at Admiralty Bay, Antarctica. *Antarctic Science*, 2014.

LEGENDRE P., ANDERSON M. J. Distance-based redundancy analysis: Testing multispecies responses in multifactorial ecological experiments. *Ecological Monographs*, 69:1—24, 1999.

LEPŠ, J.; ŠMILAUER, P. *Multivariate analysis of ecological data using CANOCO*. Cambridge university press, 2003.

LI W. K. W. et al. Smallest Algae Thrive As the Arctic Ocean Freshens. *Science*, v. 326, p. 539, 2009.

LOCHTE K., et al. Bacterial standing stock and production and their relation to phytoplankton in the Southern Ocean. *Deep-Sea Research II*, v. 44, n. 1-2, p. 321-340, 1997.

LOMAS M. W., LIPSCHULTZ F. Forming the primary nitrite maximum: Nitrifiers or phytoplankton? *Limnol. Oceanogr.*, v. 51, p. 2453–2467, 2006.

LURIA C. M., DUCKLOW H. W., AMARAL-ZETTLER L. 2014. Marine bacterial, archaeal and eukaryotic diversity and community structure on the continental shelf of the western Aquatic Microbial Ecology, v. 73, p. 107–121, 2014.

LURIA C. M. et al. Seasonal Succession of Free-Living Bacterial Communities in Coastal Waters of the Western Antarctic Peninsula Catherine. *Frontiers in Microbiology*, v. 7, n. 1731, p. 1-13, 2016.

Management Plan for Antarctic Specially Managed Area No.1, Measure 14, Antarctic Treaty Secretary. [s.l.] http://www.ats.aq/documents/recatt/Att554_e.pdf, 2014.

MARIE, D. et al. Flow cytometric analysis of phytoplankton, bacteria and viruses. *Current protocols in cytometry*, v. 11, p. 1–15, 1999.

MARIE, D.; RIGAUT-JALABERT, F.; VAULOT, D. An improved protocol for flow cytometry analysis of phytoplankton cultures and natural samples. *Cytometry Part A*, v. 85, n. 11, p. 962–968, 2014.

MARTINS C. C. et al. Aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments in Admiralty Bay, King George Island, Antarctica. *Antarctic Science*, v. 16, n. 2, p. 117–122, 2004.

MAYEWSKI P. A. et al. West Antarctica's Sensitivity to Natural and Human-forced Climate Change Over the Holocene. *Journal of Quaternary Science* v. 28, n. 1, 2013.

MERBT S. N. et al. Differential photoinhibition of bacterial and archaeal ammonia oxidation. *FEMS Microbiology Letters*, v. 327, n. 1, p. 41–46, 2012.

MEREDITH M. P., HOGG A. M. Circumpolar response of Southern Ocean eddy activity to a change in the Southern Annular Mode. *Geophysical Research*, v. 33, 2006.

MEREDITH M. P., KING J. C. Rapid climate change in the ocean west of the Antarctic Peninsula during the second half of the 20th century. *Geophysical Research*, v. 32, 2006.

METHÉ et al. The psychrophilic lifestyle as revealed by the genome sequence of *Colwellia psychrerythraea* 34H through genomic and proteomic analyses. *PNAS*, v. 102, n. 31, p. 10913–10918, 2005.

MINDL B. et al. Factors influencing bacterial dynamics along a transect from supraglacial runoff to proglacial lakes of a high Arctic glacier. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 59, p. 307–317, 2007.

MOLINE M. A. PRÉZELIN B. B. Long-term monitoring and analyses of physical factors regulating variability in coastal Antarctic phytoplankton biomass, in situ productivity and taxonomic composition over subseasonal, seasonal and interannual time scales. *Marine Ecology Progress Series*, v. 145, p. 143–160, 1996.

MOLINE M. A. et al. Alteration of the food web along the Antarctic Peninsula in response to a regional warming trend. *Global Change Biology* v. 10, p. 1973–1980, 2004.

MONTERO P. et al. Seasonal variability of primary production in a fjord ecosystem of the Chilean Patagonia: Implications for the transfer of carbon within pelagic food webs. *Continental Shelf Research*, v. 31, p. 202–215, 2011.

MORAN M. A. The global ocean microbiome. *Science*, v. 350, n. 6266, p. 1330, 2015.

MORENO-PINO M., et al. Variation in coastal Antarctic microbial community composition at sub-mesoscale: spatial distance or environmental filtering? *FEMS Microbiology Ecology*, v.

92, n. 7, 2016.

MURRAY A. E. et al. Seasonal and Spatial Variability of Bacterial and Archaeal Assemblages in the Coastal Waters near Anvers Island, Antarctica. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 64, n. 7, p. 2585–2595, 1998.

NEÐZAREK A. Sources, diversity and circulation of biogenic compounds in Admiralty Bay, King George Island, Antarctica. *Antarctic Science*, v. 20, n. 2, p. 135–145, 2008.

NETO J. A. Determinação e interpretação de características glaciológicas e geográficas com sistema de informações geográficas na Área Antártica Especialmente Gerenciada Baía do Almirantado, Ilha Rei George, Antártica. Dissertação (Mestrado em Sensoriamento Remoto) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2001.

OKSANEN J. et al. *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.5-4. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>, 2019.

PEŁCHERZEWSKI K. Distribution and quantity of suspended matter in Admiralty Bay (King George Island, South Shetland Islands*). *Polish Polar Research*, v. 9, p. 85-92, 1980.

PESSI I. S. et al. Functional Diversity of Microbial Communities in Soils in the Vicinity of Wanda Glacier, Antarctic Peninsula. *Microbes Environ.* v. 27, n. 2, p. 200–203, 2012.

PESSI I. S. et al. Distinct composition signatures of archaeal and bacterial phylotypes in the Wanda Glacier forefield, Antarctic Peninsula. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 91, n. 1, 2015.

PETER H., SOMMARUGA R. Shifts in diversity and function of lake bacterial communities upon glacier retreat. *The ISME Journal*, v. 10, p. 1545-1554, 2016.

PETROU K. et al. Southern Ocean phytoplankton physiology in a changing climate. *J Plant Physiol*, 2016.

PICHLMAIER M. et al. Suspended sediments in Admiralty Bay, King George Island (Antarctica). *Pesquisa Antártica Brasileira*. V. 4, p. 77-85, 2004.

PIQUET A. M.-T et al. Shifts in coastal Antarctic marine microbial communities during and after meltwater-related surface stratification. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 76, p. 413-427, 2011.

PIQUET A. M.-T, et al. Springtime phytoplankton dynamics in Arctic Krossfjorden and Kongsfjorden (Spitsbergen) as a function of glacier proximity. *Biogeosciences*, v. 11, p. 2263–2279, 2014.

PRUSZAK Z. Currents circulation in the waters of Admiralty Bay (region of Arctowski Station on King George Island). *Polish Polar Research*, p. 55-74, 1980.

QIN W. et al Marine ammonia-oxidizing archaeal isolates display obligate mixotrophy and wide ecotypic variation. *PNAS*, v. 111, n. 34, p. 12504-12509, 2014.

QUAST C. et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, p. D590-D596, v. 4, 2013.

R CORE TEAM. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>, 2017.

RAKUSA-SUSZCZEWSKI S. Environmental conditions and the functioning of Admiralty Bay (South Shetland Islands) as part of the near shore Antarctic ecosystem. *Polish Polar Research*,

v. 1, p. 11-27, 1980.

RAKUSA-SUSZCZEWSKI S. The hydrography of Admiralty Bay and its inlets, coves and lagoons (King George Island, Antarctica). Polish Polar Research, v. 16, p. 61-70, 1995.

RAVEN J. A., FALKOWSKI P. G., Oceanic sinks for atmospheric CO₂. Plant, Cell and Environment, v. 22, p.741–755, 1999.

RAYMOND J. A., FRITSE C., SHEN K. An ice-binding protein from an Antarctic sea ice bacterium. FEMS Microbiology Ecology, v. 61, n. 2, p. 214–221, 2007.

RIGNOT E. et al. Recent Antarctic ice mass loss from radar interferometry and regional climate modelling. Nature Geoscience, v. 1, 2008.

ROESCH I. F. W. et al. Soil bacterial community abundance and diversity in ice-free areas of Keller Peninsula, Antarctica. Applied Soil Ecology, v. 61, p. 7-15, 2012.

ROGGE A. et al. Success of chemolithoautotrophic SUP05 and Sulfurimonas GD17 cells in pelagic Baltic Sea redox zones is facilitated by their lifestyles as K- and r-strategists. Environmental Microbiology, v. 19, p. 2495-2506, 2017.

ROSA K. K. et al. Feições sedimentológicas e geomorfológicas do ambiente de deglaciação das geleiras Wanda e Ecology, ilha Rei George, Antártica. UFRGS, Pesquisas em Geociências, v. 36, n. 3, p.315-326, 2009.

ROSA K. K. et al. Interpretação geomorfológica e evolução do ambiente de deglaciação da geleira Ecology, ilha Rei George, Antártica. Pesquisa Antártica Brasileira, v. 5, p. 81-93, 2012.

ROSA K. K. et al. Meltwater drainage and sediment transport in a small glacierized basin, Wanda Glacier, King George Island, Antarctica. UNESP, Geociências, v. 33, n. 2, p.181-191, 2014.

ROSA K. K. et al. Recent changes in the Wanda Glacier, King George Island, Antarctica. UFRGS, Pesquisas em Geociências, n. 42, v.2, p. 187-196, 2015.

RUCKELSHAUS M., DONEY S. C., GALINDO H. M., et al., Securing ocean benefits for society in the face of climate change. Mar Policy v. 40, p. 154-159, 2013.

SABA et al., Winter and spring controls on the summer food web of the coastal West Antarctic Peninsula. Nature Communications, v.5, p. 1-8, 2014.

SANGRÀ P. et al. The Bransfield current system. Deep-Sea Research I, 2011.

SANTOS I. R. et al. Heavy metal contamination in coastal sediments and soils near the Brazilian Antarctic Station, King George Island. Marine Pollution Bulletin, v. 50, p. 185–194, 2005.

SARUKHANYAN E. J., TOKARCZYK R. Coarse-scale hydrological conditions in Admiralty Bay, King George Island, West Antarctica, summer 1982. Polish Polar Research, v. 9, p. 121-132, 1988.

SATTLE W. M., MADIGAN M. T. Cold-active acetogenic bacteria from surficial sediments of perennially ice-covered Lake Fryxell, Antarctica. FEMS Microbiol Lett, v. 272, p. 48–54, 2007.

SATTLE W. M., JUNG D. O., MADIGAN M. T. *Psychrosinus fermentans* gen. nov., sp. nov., a lactate-fermenting bacterium from near-freezing oxycline waters of a meromictic Antarctic

lake. *FEMS Microbiol Lett*, V. 287, p. 121-127, 2008.

SCHLOSS, P. D.; HANDELSMAN, J. Introducing TreeClimber, a test to compare microbial community structures. *Applied and environmental microbiology*, v. 72, n. 4, p. 2379-2384, 2006.

SCHLOSS, P. D., WESTCOTT S. L., RYABIN T., et al. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 75, n. 23, p. 7537–7541, 2009.

SCHLOSS I. R. et al. On the phytoplankton bloom in coastal waters of southern King George Island (Antarctica) in January 2010: An exceptional feature? *Limnol. Oceanogr.*, v. 59, n. 1, p. 195–210, 2014.

SHAH V., CHANG B. X., MORRIS R. M. Cultivation of a chemoautotroph from the SUP05 clade of marine bacteria that produces nitrite and consumes ammonium. *The ISME Journal* v. 11, p. 263–271, 2017.

SIGNORI C. N. et al. Microbial diversity and community structure across environmental gradients in Bransfield Strait, Western Antarctic Peninsula. *Frontiers in Microbiology*, v.5, n. 647, p. 1-12, 2014.

SIGNORI C. N. et al. Spatiotemporal dynamics of marine bacterial and archaeal communities in surface waters off the northern Antarctic Peninsula. *Deep-Sea Research Part II*, 2017.

SINGH B. K. et al. Microorganisms and climate change: terrestrial feedbacks and mitigation options. *Nature Reviews Microbiology*, v. 8, p. 779–790, 2010.

SLEMMONS K. E. H., SAROS J. E., SIMON K. The influence of glacial meltwater on alpine aquatic ecosystems: a review. *Environmental Science: Processes and Impacts*, v. 15, p. 1794-1806, 2013.

SOHM J. A., WEBB E. A., CAPONE D. G. Emerging patterns of marine nitrogen fixation. *Nature Reviews Microbiology*, v. 9, p. 499-508, 2011.

SOMMARUGA R. When glaciers and ice sheets melt: consequences for planktonic organisms. *Journal of Plakton Research*, v. 37, n. 3, p. 509-518, 2015.

SOO R. M. et al. An Expanded Genomic Representation of the Phylum Cyanobacteria. *Genome Biol. Evol.* v. 6, n. 5, p. 1031–1045, 2014.

SOO R. M. et al. On the origins of oxygenic photosynthesis and aerobic respiration in Cyanobacteria. *Science* v. 355, p. 1436–1440, 2017.

SZAFRAŃSKI Z., LIPSKI M. Characteristics of water temperature and salinity at Admiralty Bay (King George Island, South Shetland Islands Antarctic) during the austral summer 1978/1979. *Polish Polar Research*, v. 3, p. 7-24, 1987.

THIELE et al. Microbial Community Response during the Iron Fertilization Experiment LOHAFEX. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 78 n. 24, p. 8803– 8812, 2012.

TOKARCZYK R. Classification of water masses in the Bransfield Strait and southern part of the Drake Passage using a method of statistical multidimensional analysis. *Polish Polar Research*, v. 8, n. 4, p. 333-366, 1987.

TRANTER M. Glacial chemical weathering, composition and runoff solute fluxes. Em: KNIGHT P. *Glacier science and environmental change*. Blackwell Science Ltd, 2006.

TRÉGUER P., LE CORRE P., Manuel d'analyse des sels nutritifs dans l'eau de mer. 2ème éd. Brest, Université de Bretagne Occidentale. p. 110, 1975.

VAUGHAN D. G. et al. Recent Rapid Regional Climate Warming on the Antarctic Peninsula. *Climatic Change*, n. 60, p. 243–274, 2003.

VAUGHAN D. G. Recent Trends in Melting Conditions on the Antarctic Peninsula and Their Implications for Ice-sheet Mass Balance and Sea Level. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, v. 38, n. 1, p. 147–152, 2006.

VENABLES H., CLARKE A., MEREDITH M. P. Wintertime controls on summer stratification and productivity at the western Antarctic Peninsula. *Limnol. Oceanogr.*, v. 58, n. 3, p. 1035–1047, 2013.

VICHI M. et al. Global and regional ocean carbon uptake and climate change: sensitivity to a substantial mitigation scenario. *Clim Dyn*, v. 37, p. 1929–1947, 2011.

WASMUND K. et al., DNA-feeding bacteria in the seafloor. Não Publicado: bioRxiv preprint first posted online Jan. 23, 2019.

WALTERS W., HYDE E. R., DONNA B-I., et al. Improved Bacterial 16S rRNA Gene (V4 and V4-5) and Fungal Internal Transcribed Spacer Marker Gene Primers for Microbial Community Surveys. *mSystems*, 2015.

WASIŁOWSKA A., KOPCZYŃSKA E. E., RZEPECKI M. Temporal and spatial variation of phytoplankton in Admiralty Bay, South Shetlands: the dynamics of summer blooms shown by pigment and light microscopy analysis. *Polar Biol.*, v. 38, p. 1249–1265, 2015.

WILKINS D. et al. Key microbial drivers in Antarctic aquatic environments. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 37, p. 303–335, 2013a.

WILKINS D. et al. Advection shapes Southern Ocean microbial assemblages independent of distance and environment effects. *Nature Communications*, v. 4, p. 1–7, 2013b.

WILKINS D. et al. Biogeographic partitioning of Southern Ocean microorganisms revealed by metagenomics. *Environmental Microbiology* v. 15, n. 5, p. 1318–1333, 2013c.

WILLIAMS T. J. et al. A metaproteomic assessment of winter and summer bacterioplankton from Antarctic Peninsula coastal surface Waters. *The ISME Journal*, v. 6, p. 1886–1900, 2012.

WOLICKA D. et al. Sulphate Reducing Activity Detected in Soil Samples from Antarctica, Ecology Glacier Forefield, King George Island. *Polish Journal of Microbiology* v. 63, n. 4, p. 443–450, 2014.

WOOD, E.D.; ARMSTRONG, F.A.; RICHARDS, F.A. Determination of nitrate in seawater by cadmium-copper reduction nitrite. *Jour. Mar. Biol. Ass. U. K.*, v. 47, p. 23–31, 1967.

YILMAZ P et al. The SILVA and "All-species Living Tree Project (LTP)" taxonomic frameworks. *Nucleic Acids Research*, p. D643–D648, v. 42, 2014.

ZDANOWSKI M. K., ZMUDA M. J., ZWOLSKA I. Bacterial role in the decomposition of marine-derived material (penguin guano) in the terrestrial maritime Antarctic. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 37, p. 581–595, 2005.

ZDANOWSKI M. K. et al. Enrichment of Cryoconite Hole Anaerobes: Implications for the Subglacial Microbiome. *Microb Ecol*, v. 73, p. 532–538, 2017.

ZENG Y.-X et al. Diversity of bacterioplankton in coastal seawaters of Fildes Peninsula, King George Island, Antarctica. Archives of Microbiology, v. 196, n. 2, p. 137-147, 2014.

ZHENG Y. et al. Bacterioplankton community shifts associated with epipelagic and mesopelagic waters in the Southern Ocean. Scientific Reports, v. 5, 2015.

ZIELIŃSKI, K. Bottom macroalgae of the Admiralty Bay (King George Island, South Shetlands, Antarctica). Polish Polar Research, v. 11, p. 95-131, 1990.

ZUMSTEG A. et al. Bacterial, Archaeal and Fungal Succession in the Forefield of a Receding Glacier. Microb Ecol v. 63, p. 552-564, 2012.

7. APÊNDICE

Tabela 2. Descrição e informações das amostras de água coletadas. Amostras da coluna d'água adjacente às geleiras Wanda e Ecology (1 a 120) e amostra do Esterito de Bransfield (BS).

Amostra	Operantar	Geleira	Data	Latitude	Longitude	Prof. (m)	Perfil
				Sul	Oeste		
1	XXXIII	Wanda 1	9/12/14	62°06'17.6"	058°21'34.9"	0,1	Superfície
2	XXXIII	Wanda 1	9/12/14	62°06'17.6"	058°21'34.9"	2,55	Meio
3	XXXIII	Wanda 1	9/12/14	62°06'17.6"	058°21'34.9"	5,1	Fundo
4	XXXIII	Wanda 2	9/12/14	62°06'17.6"	058°21'35.7"	0,1	Superfície
5	XXXIII	Wanda 2	9/12/14	62°06'17.6"	058°21'35.7"	7,95	Meio
6	XXXIII	Wanda 2	9/12/14	62°06'17.6"	058°21'35.7"	15,9	Fundo
7	XXXIII	Wanda 3	9/12/14	62°06'17.0"	058°21'36.5"	0,1	Superfície
8	XXXIII	Wanda 3	9/12/14	62°06'17.0"	058°21'36.5"	15,0	Meio
9	XXXIII	Wanda 3	9/12/14	62°06'17.0"	058°21'36.5"	30,0	Fundo
10	XXXIII	Wanda 4	9/12/14	62°06'16.9"	058°21'37.5"	0,1	Superfície
11	XXXIII	Wanda 4	9/12/14	62°06'16.9"	058°21'37.5"	18,1	Meio
12	XXXIII	Wanda 4	9/12/14	62°06'16.9"	058°21'37.5"	36,2	Fundo
13	XXXIII	Ecology 1	17/12/14	62°10'13.8"	058°27'21.2"	0,1	Superfície
14	XXXIII	Ecology 1	17/12/14	62°10'13.8"	058°27'21.2"	5,0	Meio
15	XXXIII	Ecology 1	17/12/14	62°10'13.8"	058°27'21.2"	10,0	Fundo
16	XXXIII	Ecology 2	17/12/14	62°10'06.9"	058°26'55.2"	0,1	Superfície
17	XXXIII	Ecology 2	17/12/14	62°10'06.9"	058°26'55.2"	7,5	Meio
18	XXXIII	Ecology 2	17/12/14	62°10'06.9"	058°26'55.2"	15,0	Fundo
19	XXXIII	Ecology 3	17/12/14	62°10'05.6"	058°26'42.2"	0,1	Superfície
20	XXXIII	Ecology 3	17/12/14	62°10'05.6"	058°26'42.2"	12,5	Meio
21	XXXIII	Ecology 3	17/12/14	62°10'05.6"	058°26'42.2"	25,0	Fundo

Amostra	Operantar	Geleira	Data	Latitude Sul	Longitude Oeste	Prof. (m)	Perfil
22	XXXIII	Ecology 4	17/12/14	62°10'06.8"	058°26'34.6"	0,1	Superfície
23	XXXIII	Ecology 4	17/12/14	62°10'06.8"	058°26'34.6"	17,5	Meio
24	XXXIII	Ecology 4	17/12/14	62°10'06.8"	058°26'34.6"	35,0	Fundo
25	XXXIII	Ecology 1	5/1/15	62°10'12.6"	058°27'23.3"	0,1	Superfície
26	XXXIII	Ecology 1	5/1/15	62°10'12.6"	058°27'23.3"	2,5	Meio
27	XXXIII	Ecology 1	5/1/15	62°10'12.6"	058°27'23.3"	5,0	Fundo
28	XXXIII	Ecology 2	5/1/15	62°10'05.8"	058°27'01.0"	0,1	Superfície
29	XXXIII	Ecology 2	5/1/15	62°10'05.8"	058°27'01.0"	7,5	Meio
30	XXXIII	Ecology 2	5/1/15	62°10'05.8"	058°27'01.0"	15,0	Fundo
31	XXXIII	Ecology 3	5/1/15	62°10'04.5"	058°26'46.2"	0,1	Superfície
32	XXXIII	Ecology 3	5/1/15	62°10'04.5"	058°26'46.2"	13,0	Meio
33	XXXIII	Ecology 3	5/1/15	62°10'04.5"	058°26'46.2"	26,0	Fundo
34	XXXIII	Ecology 4	5/1/15	62°10'03.4"	058°26'43.2"	0,1	Superfície
35	XXXIII	Ecology 4	5/1/15	62°10'03.4"	058°26'43.2"	18,5	Meio
36	XXXIII	Ecology 4	5/1/15	62°10'03.4"	058°26'43.2"	37,0	Fundo
37	XXXIII	Wanda 1	8/1/15	62°06'15.2"	058°21'24.1"	0,1	Superfície
38	XXXIII	Wanda 1	8/1/15	62°06'15.2"	058°21'24.1"	2,5	Meio
39	XXXIII	Wanda 1	8/1/15	62°06'15.2"	058°21'24.1"	5,0	Fundo
40	XXXIII	Wanda 2	8/1/15	62°06'14.2"	058°21'23.5"	0,1	Superfície
41	XXXIII	Wanda 2	8/1/15	62°06'14.2"	058°21'23.5"	7,5	Meio
42	XXXIII	Wanda 2	8/1/15	62°06'14.2"	058°21'23.5"	15,0	Fundo
43	XXXIII	Wanda 3	8/1/15	62°06'14.6"	058°21'25.5"	0,1	Superfície
44	XXXIII	Wanda 3	8/1/15	62°06'14.6"	058°21'25.5"	12,5	Meio
45	XXXIII	Wanda 3	8/1/15	62°06'14.6"	058°21'25.5"	25,0	Fundo

Amostra	Operantar	Geleira	Data	Latitude Sul	Longitude Oeste	Prof. (m)	Perfil
46	XXXIII	Wanda 4	8/1/15	62°06'13.6"	058°21'24.9"	0,1	Superfície
47	XXXIII	Wanda 4	8/1/15	62°06'13.6"	058°21'24.9"	17,5	Meio
48	XXXIII	Wanda 4	8/1/15	62°06'13.6"	058°21'24.9"	35,0	Fundo
49	XXXIII	Ecology 1	12/2/15	62°10'12.7"	058°27'20.3"	0,1	Superfície
50	XXXIII	Ecology 1	12/2/15	62°10'12.7"	058°27'20.3"	3,65	Meio
51	XXXIII	Ecology 1	12/2/15	62°10'12.7"	058°27'20.3"	7,3	Fundo
52	XXXIII	Ecology 2	12/2/15	62°10'10"	058°26'53.7"	0,1	Superfície
53	XXXIII	Ecology 2	12/2/15	62°10'10"	058°26'53.7"	8,3	Meio
54	XXXIII	Ecology 2	12/2/15	62°10'10"	058°26'53.7"	16,6	Fundo
55	XXXIII	Ecology 3	12/2/15	62°10'05.9"	058°26'43.6"	0,1	Superfície
56	XXXIII	Ecology 3	12/2/15	62°10'05.9"	058°26'43.6"	13,2	Meio
57	XXXIII	Ecology 3	12/2/15	62°10'05.9"	058°26'43.6"	26,4	Fundo
58	XXXIII	Ecology 4	12/2/15	62°10'05.5"	058°26'38"	0,1	Superfície
59	XXXIII	Ecology 4	12/2/15	62°10'05.5"	058°26'38"	19,0	Meio
60	XXXIII	Ecology 4	12/2/15	62°10'05.5"	058°26'38"	38,0	Fundo
61	XXXIII	Wanda 1	13/2/15	62°06'15.2"	058°21'23.8"	0,1	Superfície
62	XXXIII	Wanda 1	13/2/15	62°06'15.2"	058°21'23.8"	2,55	Meio
63	XXXIII	Wanda 1	13/2/15	62°06'15.2"	058°21'23.8"	5,1	Fundo
64	XXXIII	Wanda 2	13/2/15	62°06'15.5"	058°21'26.6"	0,1	Superfície
65	XXXIII	Wanda 2	13/2/15	62°06'15.5"	058°21'26.6"	7,95	Meio
66	XXXIII	Wanda 2	13/2/15	62°06'15.5"	058°21'26.6"	15,9	Fundo
67	XXXIII	Wanda 3	13/2/15	62°06'17.02"	058°21'25"	0,1	Superfície
68	XXXIII	Wanda 3	13/2/15	62°06'17.02"	058°21'25"	15,0	Meio
69	XXXIII	Wanda 3	13/2/15	62°06'17.02"	058°21'25"	30,0	Fundo

Amostra	Operantar	Geleira	Data	Latitude	Longitude	Prof. (m)	Perfil
				Sul	Oeste		
70	XXXIII	Wanda 4	13/2/15	62°06'14.5"	058°21'28.4"	0,1	Superfície
71	XXXIII	Wanda 4	13/2/15	62°06'14.5"	058°21'28.4"	18,1	Meio
72	XXXIII	Wanda 4	13/2/15	62°06'14.5"	058°21'28.4"	36,2	Fundo
73	XXXIV	Wanda 1	14/12/15	62°06'15.5"	058°21'24.8"	0,1	Superfície
74	XXXIV	Wanda 1	14/12/15	62°06'15.5"	058°21'24.8"	2.5	Meio
75	XXXIV	Wanda 1	14/12/15	62°06'15.5"	058°21'24.8"	5	Fundo
76	XXXIV	Wanda 2	14/12/15	62°06'15.6"	058°21'26.7"	0,1	Superfície
77	XXXIV	Wanda 2	14/12/15	62°06'15.6"	058°21'26.7"	7.5	Meio
78	XXXIV	Wanda 2	14/12/15	62°06'15.6"	058°21'26.7"	15	Fundo
79	XXXIV	Wanda 3	14/12/15	62°06'14.9"	058°21'25.5"	0,1	Superfície
80	XXXIV	Wanda 3	14/12/15	62°06'14.9"	058°21'25.5"	12.5	Meio
81	XXXIV	Wanda 3	14/12/15	62°06'14.9"	058°21'25.5"	25	Fundo
82	XXXIV	Wanda 4	14/12/15	62°06'13.6"	058°21'24.6"	0,1	Superfície
83	XXXIV	Wanda 4	14/12/15	62°06'13.6"	058°21'24.6"	17.5	Meio
84	XXXIV	Wanda 4	14/12/15	62°06'13.6"	058°21'24.6"	35	Fundo
85	XXXIV	Ecology 1	26/12/15	62°10'11.3"	058°27'26.5"	0,1	Superfície
86	XXXIV	Ecology 1	26/12/15	62°10'11.3"	058°27'26.5"	2.5	Meio
87	XXXIV	Ecology 1	26/12/15	62°10'11.3"	058°27'26.5"	5	Fundo
88	XXXIV	Ecology 2	26/12/15	62°10'10.6"	058°26'53.3"	0,1	Superfície
89	XXXIV	Ecology 2	26/12/15	62°10'11.3"	058°26'53.3"	7.5	Meio
90	XXXIV	Ecology 2	26/12/15	62°10'11.3"	058°26'53.3"	15	Fundo
91	XXXIV	Ecology 3	26/12/15	62°10'05.8"	058°26'41.7"	0,1	Superfície
92	XXXIV	Ecology 3	26/12/15	62°10'05.8"	058°26'41.7"	12.5	Meio
93	XXXIV	Ecology 3	26/12/15	62°10'05.8"	058°26'41.7"	25	Fundo

Amostra	Operantar	Geleira	Data	Latitude Sul	Longitude Oeste	Prof. (m)	Perfil
94	XXXIV	Ecology 4	26/12/15	62°10'04.8"	058°26'40.2"	0,1	Superfície
95	XXXIV	Ecology 4	26/12/15	62°10'04.8"	058°26'40.2"	17.5	Meio
96	XXXIV	Ecology 4	26/12/15	62°10'04.8"	058°26'40.2"	35	Fundo
97	XXXIV	Wanda 1	28/12/15	62°06'15.1"	058°21'21.5"	0,1	Superfície
98	XXXIV	Wanda 1	28/12/15	62°06'15.1"	058°21'21.5"	3.2	Meio
99	XXXIV	Wanda 1	28/12/15	62°06'15.1"	058°21'21.5"	6.4	Fundo
100	XXXIV	Wanda 2	28/12/15	62°06'11.7"	058°21'10.2"	0,1	Superfície
101	XXXIV	Wanda 2	28/12/15	62°06'11.7"	058°21'10.2"	7.5	Meio
102	XXXIV	Wanda 2	28/12/15	62°06'11.7"	058°21'10.2"	15	Fundo
103	XXXIV	Wanda 3	28/12/15	62°06'11.3"	058°21'10.6"	0,1	Superfície
104	XXXIV	Wanda 3	28/12/15	62°06'11.3"	058°21'10.6"	12.5	Meio
105	XXXIV	Wanda 3	28/12/15	62°06'11.3"	058°21'10.6"	25	Fundo
106	XXXIV	Wanda 4	28/12/15	62°06'11.3"	058°21'13.9"	0,1	Superfície
107	XXXIV	Wanda 4	28/12/15	62°06'11.3"	058°21'13.9"	17.5	Meio
108	XXXIV	Wanda 4	28/12/15	62°06'11.3"	058°21'13.9"	35	Fundo
109	XXXIV	Ecology 1	2/1/16	62°06'09.3"	058°21'14.4"	0,1	Superfície
110	XXXIV	Ecology 1	2/1/16	62°06'09.3"	058°21'14.4"	2.5	Meio
111	XXXIV	Ecology 1	2/1/16	62°06'09.3"	058°21'14.4"	5	Fundo
112	XXXIV	Ecology 2	2/1/16	62°10'08.1"	058°26'58.7"	0,1	Superfície
113	XXXIV	Ecology 2	2/1/16	62°10'08.1"	058°26'58.7"	7.5	Meio
114	XXXIV	Ecology 2	2/1/16	62°10'08.1"	058°26'58.7"	15	Fundo
115	XXXIV	Ecology 3	2/1/16	62°10'06.3"	058°26'41.8"	0,1	Superfície
116	XXXIV	Ecology 3	2/1/16	62°10'06.3"	058°26'41.8"	12.5	Meio

Amostra	Operantar	Geleira	Data	Latitude Sul	Longitude Oeste	Prof. (m)	Perfil
117	XXXIV	Ecology 3	2/1/16	62°10'06.3"	058°26'41.8"	25	Fundo
118	XXXIV	Ecology 4	2/1/16	62°10'05.4"	058°26'41"	0,1	Superfície
119	XXXIV	Ecology 4	2/1/16	62°10'05.4"	058°26'41"	17.5	Meio
120	XXXIV	Ecology 4	2/1/16	62°10'05.4"	058°26'41"	35	Fundo
BS	-	-	19/2/16	62°27,396	058°04,582	25	-

Figura 27. Visualização da leitura e do *gating* de uma réplica (180 µl) de amostra da citometria de fluxo: a) Contagem de células fotoautotróficas pelas auto-fluorescências de clorofila e ficoeritrina; b) Contagem de células de bactérias heterotróficas pela fluorescência de “SYBR Green I”.

Tabela 3. Concentração de DNA das extrações realizadas de cada amostra e do controle de sequenciamento do *kit* de extração DNeasy Blood and Tissue” (QIAGEN, USA).

Amostra	dsDNA ng/μl	Amostra	dsDNA ng/μl	Amostra	dsDNA ng/μl
1	0.51	43	0.77	85	1.41
2	0.24	44	0.17	86	0.72
3	0.20	45	0.13	87	0.36
4	0.67	46	0.55	88	0.69
5	1.40	47	0.23	89	0.51
6	0.07	48	0.03	90	0.49
7	0.54	49	0.12	91	0.33
8	0.15	50	0.09	92	0.07
9	0.68	51	0.17	93	<0.5
10	0.72	52	0.30	94	0.12
11	0.09	53	0.05	95	0.05
12	0.13	54	0.46	96	<0.5
13	0.55	55	0.49	97	0.51
14	0.42	56	0.20	98	0.63
15	0.30	57	0.17	99	0.57
16	0.58	58	0.91	100	0.74
17	0.42	59	0.64	101	0.55
18	0.33	60	0.16	102	0.43
19	0.26	61	0.56	103	1.57
20	0.09	62	0.63	104	0.53
21	0.20	63	0.80	105	0.69
22	0.48	64	0.18	106	0.81
23	0.19	65	0.54	107	0.97
24	0.11	66	0.49	108	0.44
25	0.33	67	0.31	109	0.49
26	0.07	68	1.01	110	1.09
27	0.11	69	0.04	111	0.51
28	0.11	70	0.17	112	0.40
29	NA	71	0.42	113	0.38
30	NA	72	1.50	114	1.13
31	NA	73	1.26	115	1.08
32	NA	74	3.67	116	0.45
33	NA	75	5.00	117	0.58
34	NA	76	1.11	118	1.25
35	NA	77	1.98	119	0.86
36	NA	78	1.35	120	0.40
37	0.83	79	2.68	Kit.C	<0.5
38	0.41	80	1.86	BS	1.15
39	0.13	81	2.48		
40	0.29	82	1.18		
41	0.37	83	2.25		
42	0.10	84	1.83		

Tabela 4. Classificação taxonômica das cinquenta OTUs mais abundantes encontradas pela análise do gene RNAr 16s.

OTU	Nº Sequências	Classificação Taxonômica
OTU2	1493745	Bacteria; Cyanobacteria; Oxyphotobacteria; Chloroplast; Thalassiosira gravis; Thalassiosira gravis; Thalassiosira gravis
OTU3	808718	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Oceanospirillales; Nitrospiraceae; uncultured; uncultured marine bacterium
OTU1	587941	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; SAR11 clade; Clade I; Clade Ia; uncultured bacterium
OTU5	470637	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae; Polaribacter 1; Polaribacter sp. ANT9167
OTU4	446567	Bacteria; Cyanobacteria; Oxyphotobacteria; Chloroplast; uncultured cyanobacterium; uncultured cyanobacterium; uncultured cyanobacterium
OTU11	229222	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodobacterales; Rhodobacteraceae; Planktomarina; uncultured marine bacterium
OTU18	212226	Bacteria; Cyanobacteria; Oxyphotobacteria; Chloroplast; uncultured bacterium; uncultured bacterium; uncultured bacterium
OTU6	177669	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Thiomicrospirales; Thioglobaceae; SUP05 cluster; uncultured gamma proteobacterium
OTU8	175107	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodobacterales; Rhodobacteraceae; Sulfotobacter; uncultured marine bacterium
OTU7	162353	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Flavobacteriales; Cryomorphaceae; uncultured; uncultured bacterium
OTU32	136545	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae; Polaribacter; metagenome
OTU12	114815	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Cellvibrionales; Porticoccaceae; SAR92 clade; uncultured marine bacterium
OTU10	100773	Bacteria; Cyanobacteria; Oxyphotobacteria; Chloroplast; Corethron pennatum; Corethron pennatum; Corethron pennatum
OTU14	95862	Bacteria; Cyanobacteria; Oxyphotobacteria; Chloroplast; uncultured bacterium; uncultured bacterium; uncultured bacterium
OTU13	95637	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Flavobacteriales; NS9 marine group; uncultured bacterium; uncultured bacterium
OTU16	84954	Bacteria; Cyanobacteria; Oxyphotobacteria; Chloroplast; uncultured bacterium; uncultured bacterium; uncultured bacterium
OTU15	84481	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae; Ulvibacter; uncultured Bacteroidetes bacterium
OTU53 0	84178	Bacteria; Cyanobacteria; Oxyphotobacteria; Chloroplast; uncultured marine eukaryote; uncultured marine eukaryote; uncultured marine eukaryote
OTU19	76154	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae; NS2b marine group; uncultured Bacteroidetes bacterium
OTU20	63057	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae; NS5 marine group; uncultured marine bacterium
OTU24	57256	Bacteria; Cyanobacteria; Oxyphotobacteria; Chloroplast; uncultured bacterium; uncultured bacterium; uncultured bacterium
OTU22	56437	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae; NS4 marine group; uncultured marine bacterium
OTU9	55345	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Betaproteobacteriales; Burkholderiaceae; Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia; Burkholderia glumae

OTU	Nº Sequências	Classificação Taxonômica
OTU17	53769	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Alteromonadales; Colwelliaceae; Colwellia; uncultured Antarctic sea ice bacterium
OTU23	50840	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Flavobacteriales; Cryomorphaceae; uncultured; uncultured Bacteroidetes bacterium
OTU31	45641	Bacteria; Cyanobacteria; Oxyphotobacteria; Chloroplast; uncultured bacterium; uncultured bacterium; uncultured bacterium
OTU34	44680	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Alteromonadales; Pseudoalteromonadaceae; Pseudoalteromonas; Pseudoalteromonas sp. An90
OTU25	42298	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Pseudomonadaceae; Pseudomonas; Pseudomonas sp. RA12
OTU33	40034	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; SAR11 clade; Clade II; uncultured marine bacterium; uncultured marine bacterium
OTU26	37435	Bacteria; Cyanobacteria; Oxyphotobacteria; Chloroplast; uncultured organism; uncultured organism; uncultured organism
OTU41	36219	Bacteria; Cyanobacteria; Oxyphotobacteria; Chloroplast; uncultured bacterium ARCTIC13_E_12; uncultured bacterium ARCTIC13_E_12; uncultured bacterium ARCTIC13_E_12
OTU27	33118	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodobacterales; Rhodobacteraceae; Amylibacter; uncultured bacterium
OTU28	32434	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodobacterales; Rhodobacteraceae; uncultured; uncultured marine bacterium
OTU26 2	31842	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodobacterales; Rhodobacteraceae; Ascidiaceihabitans; uncultured bacterium
OTU38	28169	Bacteria; Cyanobacteria; Oxyphotobacteria; Chloroplast; Triparma laevis; Triparma laevis; Triparma laevis
OTU61	28016	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae; Flavobacterium; Flavobacterium sp. KJF1-1
OTU37	26506	Bacteria; Cyanobacteria; Oxyphotobacteria; Chloroplast; uncultured Chlorophyta; uncultured Chlorophyta; uncultured Chlorophyta
OTU35	25987	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae; Aurantivirga; uncultured Flavobacteriaceae bacterium
OTU44	23508	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae; NS5 marine group; uncultured bacterium ARCTIC37_F_06
OTU40	22866	Bacteria; Cyanobacteria; Oxyphotobacteria; Chloroplast; uncultured marine eukaryote; uncultured marine eukaryote; uncultured marine eukaryote
OTU36	22725	Bacteria; Cyanobacteria; Oxyphotobacteria; Chloroplast; uncultured bacterium; uncultured bacterium; uncultured bacterium
OTU54	20445	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Puniceispirillales; SAR116 clade; uncultured marine bacterium; uncultured marine bacterium
OTU42	19901	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Flavobacteriales; NS7 marine group; uncultured bacterium; uncultured bacterium
OTU43	18891	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; SAR86 clade; uncultured marine bacterium; uncultured marine bacterium; uncultured marine bacterium
OTU29	18511	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Xanthomonadales; Rhodanobacteraceae; Rhodanobacter; uncultured bacterium
OTU46	18340	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Flavobacteriales; Cryomorphaceae; NS10 marine group; uncultured Bacteroidetes/Chlorobi group bacterium

OTU	Nº Sequências	Classificação Taxonômica
OTU58	18281	Bacteria; Cyanobacteria; Oxyphotobacteria; Chloroplast; Synedra hyperborea; Synedra hyperborea; Synedra hyperborea
OTU120	18156	Bacteria; Cyanobacteria; Oxyphotobacteria; Chloroplast; Chaetoceros sp. C134; Chaetoceros sp. C134; Chaetoceros sp. C134
OTU107	16729	Bacteria; Bacteroidetes; Bacteroidia; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae; Flavobacterium; Flavobacterium resistens
OTU49	16323	Bacteria; Cyanobacteria; Oxyphotobacteria; Chloroplast; Phalacroma mitra; Phalacroma mitra; Phalacroma mitra