

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO**

**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO MAR**

**BACHARELADO INTERDISCIPLINAR EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO MAR**

**GUSTAVO ANTONIO OLIVEIRA MENDES**

**COMPARAÇÃO ENTRE A COMUNIDADE MICROBIANA DE VIDA LIVRE  
COM A COMUNIDADE ASSOCIADA A EUCARIOTOS E PARTÍCULAS EM  
ÁGUAS COSTEIRAS**

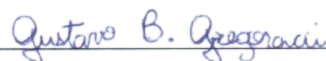
**SANTOS/SP**

**2022**

GUSTAVO ANTONIO OLIVEIRA MENDES

**COMPARAÇÃO ENTRE A COMUNIDADE MICROBIANA DE VIDA LIVRE  
COM A COMUNIDADE ASSOCIADA A EUCARIOTOS E PARTÍCULAS EM  
ÁGUAS COSTEIRAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
à Universidade Federal de São Paulo como  
parte dos requisitos para obtenção do título de  
Bacharel Interdisciplinar em Ciência e  
Tecnologia do Mar, sob a orientação do Prof.  
Dr Gustavo Bueno Gregoracci.



SANTOS/SP

2022

Ficha catalográfica elaborada por sistema automatizado com  
os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M538cc Mendes, Gustavo Antonio Oliveira.  
Comparação entre a comunidade microbiana de vida  
livre com a comunidade associada a eucariotos e  
partículas em águas costeiras. / Gustavo Antonio  
Oliveira Mendes; Orientador Gustavo Bueno  
Gregoracci; Coorientador . -- Santos, 2022.  
32 p. ; 30cm

TCC (Graduação - Bacharelado Interdisciplinar em  
Ciência e Tecnologia do Mar) -- Instituto do Mar,  
Universidade Federal de São Paulo, 2022.

1. Microbiologia. 2. Taxonomia. 3. Ecologia  
microbiana. I. Gregoracci, Gustavo Bueno, Orient.  
II. Título.

CDD 551.46

Dedico este trabalho, aos meus pais, avós e amigos que sempre estiveram ao meu lado. Além dos meus professores por todos os ensinamentos durante minha formação acadêmica.

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer ao meu orientador Prof. Dr. Gustavo Bueno Gregoracci pelo acolhimento, dedicação, empenho e ensinamentos transmitidos durante todo esse período de pesquisa. Obrigado por promover todos os obstáculos em momentos de aprendizagens através da sua impecável orientação, nos tornando em protagonistas do nosso próprio percurso educacional. Agradeço também a todos os docentes, disseminadores do conhecimento, do IMAR (Instituto do Mar) da Universidade Federal de São Paulo, em destaque o Prof. Dr. Rodrigo Schweitzer.

Agradeço também aos meus pais, Neide de Oliveira Santos e Antônio Joaquim Pereira Mendes, pelos exemplos de amor, resiliência, humanidade e coragem. Obrigado por permanecerem ao meu lado todos esses anos e me incentivarem a sempre alcançar o melhor que a vida possa me oferecer. A minha família, gratidão por vivenciarem verdadeiramente essa experiência única comigo.

A todos os meus amigos, obrigado pelo companheirismo, conselhos e apoio em todas as minhas decisões. Grato às amizades construídas nessa graduação, em especial: Renata Akiyoshi e Gabriela Parra, pela paciência, alegria, carinho e por dividirem os sonhos comigo, fazendo com que nossos laços fossem fortalecidos nas diferentes circunstâncias. Vitor Marvulle, Giulia Strupeni e Luigi Del Guercio, obrigado por acreditarem no meu potencial e por me ensinarem diariamente. A minha colega de laboratório, Bianca Acayaba, meus agradecimentos a sua empatia e caridade durante o desenvolvimento desse trabalho.

Agradeço a minha professora e parceira de curso Thais Levatti Alexandre, por me incentivar a desbravar e experimentar o novo, todos os dias. Além de trilhar comigo, desde o primeiro instante, as emoções da universidade pública. Obrigado a todos por não desistirem de mim, amo vocês.

“Se a educação sozinha não transforma a sociedade, sem ela tampouco a sociedade muda”.

Paulo Freire.

## RESUMO

As células microbianas vivem associadas a outras células, formando comunidades das quais podem apresentar composições e compartimentos diferentes, sendo de vida livre ou associada ao material particulado. Contudo, os recursos, as condições físico-químicas e as interferências antropogênicas no microambiente também influenciam no controle, abundância e manutenção das comunidades. Portanto, o estudo tem como objetivo comparar as composições taxonômicas das comunidades microbianas de vida livre com a associada a eucariotos e partículas em águas costeiras. O resultado da pesquisa destacou a semelhança estatística entre os táxons, mesmo com uma ampla variedade de micro-organismos presentes na região do canal do Porto de Santos e na Estação Ecológica de Tupinambás. A análise das amostras de água revelou um alto índice de: *Gammaproteobacteria*, *Marinobacterium*, *SAR 11 Clade Ia* e *SAR 11 Clade Ige*, variando com local e dia de coleta. E o material particulado, por sua vez, consagrou a presença importante do filo *Cyanobacteria*, mediante a abundância significativa de *Chloroplastge* nas amostras do porto e do gênero *Synechococcus\_CC9902* em Tupinambás.

Palavras-Chave: *micro-organismos, comunidade, ecologia, ecossistema, microambiente, abundância e taxonomia.*

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1</b> - Amostragem.....                                                                                                             | 12 |
| <b>Tabela 2</b> - Contagem de sequências iniciais das amostras (awk).....                                                                     | 14 |
| <b>Tabela 3</b> - Relação entre os domínios e o total de unidades taxonômicas operacionais moleculares (OTUs) nas amostras de água.....       | 14 |
| <b>Tabela 4</b> - Relação entre os domínios e o total de unidades taxonômicas operacionais moleculares (OTUs) nas amostras de partículas..... | 15 |

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                        |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1</b> - Abundância relativa de filos nas amostras de água do canal do Porto de Santos e na Estação Ecológica de Tupinambás.....              | 15 |
| <b>Figura 2</b> - Abundância relativa de filos nas amostras de partículas do canal do Porto de Santos e na Estação Ecológica de Tupinambás.....        | 16 |
| <b>Figura 3</b> - Abundância relativa de ordem-gênero nas amostras de água do canal do Porto de Santos e na Estação Ecológica de Tupinambás.....       | 17 |
| <b>Figura 4</b> - Abundância relativa de ordem-gênero nas amostras de partículas do canal do Porto de Santos e na Estação Ecológica de Tupinambás..... | 17 |
| <b>Figura 5</b> - Análise de componentes principais (PCA) com sistema de eixos tridimensionais.....                                                    | 18 |



## SUMÁRIO

|                                                           |           |
|-----------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO.....</b>                                 | <b>8</b>  |
| 1.1    Objetivo geral.....                                | 11        |
| 1.2    Objetivos específicos.....                         | 11        |
| <b>2. METODOLOGIA.....</b>                                | <b>12</b> |
| 2.1    Amostragem, extração e PCR.....                    | 12        |
| 2.2    Processamento das sequências e bioinformática..... | 13        |
| 2.3    Análise estatística.....                           | 13        |
| <b>3. RESULTADOS.....</b>                                 | <b>14</b> |
| 3.1    Análise taxonômica.....                            | 14        |
| 3.2    Comparação estatística.....                        | 18        |
| <b>4. DISCUSSÃO.....</b>                                  | <b>19</b> |
| <b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>                       | <b>22</b> |
| <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>                    | <b>23</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

Os micro-organismos exercem, há bilhões de anos, funções biológicas fundamentais, em especial na geração de energia, decomposição, crescimento e reprodução (MADIGAN et al., 2010). Apesar de serem as menores formas de vida, formam, coletivamente, uma parte importante da biomassa do planeta (BODELIER, 2011; MADIGAN et al., 2010) e realizam funções primordiais para a manutenção do equilíbrio ambiental e integração dos fatores abióticos e bióticos da Terra, por meio de processos de degradação de matéria orgânica (MADIGAN et al., 2010) e da reciclagem de nutrientes (JOBARD et al., 2015).

O termo micro-organismo está relacionado ao mundo microscópico e reúne ideias conservadoras de um organismo como uma entidade viva ou de estrutura celular (FUERST, 2014) com ferramentas e abordagens biotecnológicas, que permitem examinar uma imensa diversidade do mundo microbiano (FUERST, 2014; HAYOUN et al., 2020), do qual exhibe um conglomerado de táxons variados (BRASIL, 2003; FUERST, 2014). Desse modo, domínios como bactérias, arqueias, bem como fungos, protistas e vírus fazem parte deste conceito (BRASIL, 2003; FUERST, 2014).

Esses organismos também exercem grande influência nos processos ecológicos e evolutivos ao longo do espaço e do tempo devido à alta adaptabilidade em condições extremas, manutenção das relações dinâmicas (ESCALAS et al., 2019), tempos de geração rápidos e distribuição onipresente (BODELIER, 2011; HAYOUN et al., 2020), o que contribui para a percepção de que são altamente redundantes e inextinguíveis (BODELIER, 2011).

A estreita relação dos micro-organismos com o ambiente ainda enfrenta particularidades. Em razão disso, foi estabelecida a ecologia microbiana (MADIGAN et al., 2010), com o objetivo de promover análises e estudos relacionados aos micro-organismos e o ambiente no qual estão inseridos, procurando desenvolver um maior entendimento da dinâmica de vida na natureza (MADIGAN et al., 2010). Na natureza, as células microbianas vivem associadas a outras células, formando comunidades microbianas (MADIGAN et al., 2010) com as quais interagem, crescem e auxiliam de diversas maneiras. Os recursos, bem como as condições físico-químicas do habitat microbiano, a disponibilidade de nutrientes, pH, temperatura, água, luz e a salinidade (HAYOUN et al., 2020; KLIER et al., 2018; MADIGAN et al.,

2010; RIECK et al., 2015), favorecem o controle da diversidade, abundância e manutenção da vida dessas comunidades (MADIGAN et al., 2010).

No ambiente aquático, por exemplo, verificam-se as diferenciações entre as comunidades microbianas a partir de uma das principais variáveis, a salinidade, de modo que as comunidades bacterianas de água doce se diferenciam das comunidades de água do mar (KLIER et al., 2018). Gradientes temporais e espaciais em fatores ambientais moldam, portanto, a composição da comunidade e as atividades metabólicas dos micro-organismos (RIECK et al., 2015). Outro fator de interferência nas comunidades são as diferentes sensibilidades a perturbações, poluição e efeitos antrópicos, particularmente em regiões costeiras, como baías e estuários (GARRISON, 2016). Os impactos influenciam microambientes inteiros, especialmente os de água rasa mais complexos e biologicamente sensíveis (GARRISON, 2016). A dinâmica estuarina, por sua vez, interfere diretamente na distribuição e atividade de micro-organismos (SANTOS et al., 2011), por meio da riqueza de nutrientes e elevação das águas profundas (MADIGAN et al., 2010).

Entretanto, a variedade da vida microbiana também é identificada em organismos que habitam locais semelhantes, em razão de fatores como o nicho ecológico e o modo de vida dos micro-organismos. Essa relação pode ser comprovada através das composições da comunidade bacteriana, das quais se dividem em dois grupos principais: as bactérias associadas a partículas (PA - *Particle-Associated*) e as de vida livre (FL - *Free-Living*) (RIECK et al., 2015). As bactérias associadas a partículas (PA), por exemplo, são maiores, incorporam mais substratos, apresentam um potencial bioquímico de hidrólise mais alta se comparada às bactérias de vida livre (FL) (CRESPO et al., 2013). Além de precisarem de adaptações específicas para serem capazes de se fixar à superfície das partículas e degradar os compostos da matéria orgânica, influenciando assim todo o processo biogeoquímico dos ecossistemas aquáticos.

A relação da biodiversidade microbiana no equilíbrio e manutenção funcional dos ecossistemas está diretamente relacionada a nichos que moldam as interações das unidades biológicas (KRAUSE et al., 2014), por exemplo, as unidades taxonômicas operacionais moleculares (OTUs – *Operational Taxonomic Units*) e os grupos filogenéticos (KRAUSE et al., 2014). Desta forma, a metagenômica revolucionou o campo da ecologia microbiana (WILLIAMSON et al., 2012) por meio de um conjunto de técnicas, abordagens e métodos, com o objetivo de verificar se a

comunidade microbiana está apta a habitar um determinado ambiente (GARRIDO-CARDENAS et al., 2017), utilizando ferramentas biomoleculares de amplificação e sequenciamento genético massivo (GARRIDO-CARDENAS et al., 2017; HAYOUN et al., 2020).

O estudo comparativo entre as composições de comunidades microbianas de vida livre e comunidades associadas a eucariotos e partículas, usando os dados do sequenciamento genético dessas populações, contribuem para a compreensão da diversidade genética, das classificações taxonômicas, na capacidade adaptativa desses organismos (HAYOUN et al., 2020; WILLIAMSON et al., 2012), investigação de sua estrutura e na abundância das comunidades bacterianas (ZHANG et al., 2021) em diferentes ambientes e sujeita a distintos fatores físico-químicos (KRAUSE et al., 2014).

## 1.1 Objetivo geral

O estudo tem como objetivo, avaliar e comparar as composições taxonômicas das comunidades microbianas de vida livre com a associada a eucariotos e partículas provenientes de águas costeiras, utilizando a análise metagenômica e os processos de bioinformática, além de abordar a biodiversidade e os fatores prováveis que interferem nas comunidades.

## 1.2 Objetivos específicos

- Analisar e comparar as composições taxonômicas das comunidades microbianas.
- Observar as diferenças das comunidades microbianas de vida livre com as associadas a eucariotos e partículas em águas costeiras, coletadas em regiões com diferentes sensibilidades às perturbações e impactos do meio.
- Descrever adicionalmente as possíveis relações entre os micro-organismos e os fatores antrópicos.

## 2. METODOLOGIA

### 2.1 Amostragem, extração e PCR

As amostras de água foram previamente colhidas em regiões costeiras do estado de São Paulo, especificamente no Porto de Santos e na Estação Ecológica de Tupinambás, Unidade de Conservação Federal de proteção integral, dentro do projeto FAPESP 2013/21745-4. Com a coleta de 80-120L de água de subsuperfície, as amostras passaram por uma pré-filtragem em 100 $\mu$ m, e tangencialmente filtrados (100kDa), reduzindo seu volume a ~0,5L. Esse concentrado microbiano foi, então, filtrado com seringa e membrana de 3 $\mu$ m para separação de células eucarióticas e partículas, seguido por filtro Sterivex de 0,22 $\mu$ m para separação de bactérias e arqueias.

Esse procedimento foi reproduzido no Porto de Santos em duas datas, 09 e 19 de janeiro de 2016 (antes e depois do vazamento de material tóxico no terminal da Localfrio). E, na ESEC Tupinambás próximo à ilha de Alcatrazes, em 17 de janeiro de 2016. As amostras foram extraídas com fenol-clorofórmio e precipitadas com etanol. As frações, em seguida, sofreram um processo de amplificação, por meio da técnica de Reação de Polimerase em Cadeia (PCR – *Polymerase Chain Reaction*) com primers 16S recomendados pela Illumina, já acrescidos de adaptadores para o sequenciamento (KLINDWORTH et al., 2013). Por fim, foram purificados, indexados e sequenciados seguindo protocolos padrão na plataforma Illumina MiSeq, pair-ended, com kit de 2x250pb.

Tabela 1 - Amostragem.

|                         | NOME          | LOCAL           | DATA       |
|-------------------------|---------------|-----------------|------------|
| WATER<br>(ÁGUA)         | Sts1_water    | Porto de Santos | 09/01/2016 |
|                         | Sts2_water    | Porto de Santos | 19/01/2016 |
|                         | Tupi_water    | ESEC Tupinambás | 17/01/2016 |
| PARTICLE<br>(PARTÍCULA) | Sts1_particle | Porto de Santos | 09/01/2016 |
|                         | Sts2_particle | Porto de Santos | 19/01/2016 |
|                         | Tupi_particle | ESEC Tupinambás | 17/01/2016 |

Fonte: Autor.

## 2.2 Processamento das sequências e bioinformática

A análise bioinformática de cada amostra ocorreu no sistema operacional multitarefa e multiusuário Linux (FERREIRA, 2008) e contabilizou inicialmente as sequências de cada arquivo, usando o interpretador de linha de comando *prompt*, através do comando *awk* (Aho, Weinberger e Kernighan).

Posteriormente, foi empregado o software Solexa QA++ na opção *dynamic trim*, para remover bases de baixa qualidade (COX et al., 2010). Logo após, retirou-se as sequências curtas, menores que 75pb, com o auxílio do script em Perl, que representam erros de sequenciamento. Réplicas exatas foram unidas com script em Perl e os amplicons foram agrupados em unidades taxonômicas operacionais moleculares (OTUs – *Operational Taxonomic Units*) usando o software SWARM (MAHÉ et al., 2015).

Para anotação das sequências moleculares, utilizou-se o banco de dados SILVA v132 de qualidade controlada de sequências de genes de RNA ribossômico (QUAST et al., 2012) através do pacote de software *mothur* (SCHLOSS et al., 2009). Uma vez concluída o segmento de processamento das sequências, as análises foram comparadas no Microsoft Office, através da tabela dinâmica do editor de planilhas Excel. As figuras foram feitas no programa computacional GraphPad Prism (RADUSHEV et al., 2019).

## 2.3 Análise estatística

Para análise estatística do material amostrado, utilizou-se a abundância relativa dos micro-organismos e a análise de variância (ANOVA) no software STAMP (*Statistical analysis of metagenomic profiles*) (PARKS et al., 2014) que analisa os perfis taxonômicos, funcionais e/ou metabólicos através de diferentes parâmetros e técnicas de bioinformática (MAHONY et al., 2007; PARKS et al., 2014). A comparação de todas as amostras, de água e de partículas, no nível de perfil taxonômico de gênero, empregou o método de múltiplas variáveis PCA, o qual unifica os dados relevantes em um espaço n-dimensional (COLMANETTI, 2020). Além dessas componentes principais, a análise empregou ainda o teste de welch's t-test, com correção de teste múltiplo de Benjamini-Hochberg e q-value filter de 0,05%.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Análise taxonômica

Inicialmente, contamos as sequências iniciais das seis amostras (Tabela 2). Após limpeza e processamento dos dados, anotamos entre 350.577 e 420.855 unidades taxonômicas operacionais moleculares (OTUs), somando domínios e material não identificado para as amostras de água (Tabela 3), sendo sua maior quantidade identificada no domínio *Bacteria* e a menor nas *Archaea*. Nas amostras associadas às partículas, a relação comparativa obteve entre 256.738 e 564.760 OTUs, com o maior número observado na Estação Ecológica de Tupinambás (Tabela 4).

Tabela 2 - Contagem de sequências iniciais das amostras, através do comando awk (Aho, Weinberger e Kernighan).

| AMOSTRAS      | SEQUÊNCIA INICIAL (awk) |
|---------------|-------------------------|
| Sts1_water    | 427269                  |
| Sts2_water    | 374090                  |
| Tupi_water    | 353997                  |
| Sts1_particle | 320692                  |
| Sts2_particle | 261169                  |
| Tupi_particle | 588047                  |

Fonte: Autor.

Tabela 3 - Relação entre os domínios e o total de unidades taxonômicas operacionais moleculares (OTUs) nas amostras de água.

| Amostras    | Sts1_water     | Sts2_water     | Tupi_water     |
|-------------|----------------|----------------|----------------|
| Archaea     | 7 (0,0%)       | 9 (0,0%)       | 24 (0,0%)      |
| Bacteria    | 418910 (99,5%) | 369215 (99,4%) | 348067 (99,2%) |
| Eukaryota   | 331 (0,0%)     | 153 (0,0%)     | 218 (0,0%)     |
| Unknown     | 1607 (0,3%)    | 1701 (0,4%)    | 2268 (0,6%)    |
| Total Geral | 420855         | 371078         | 350577         |

Fonte: Autor.



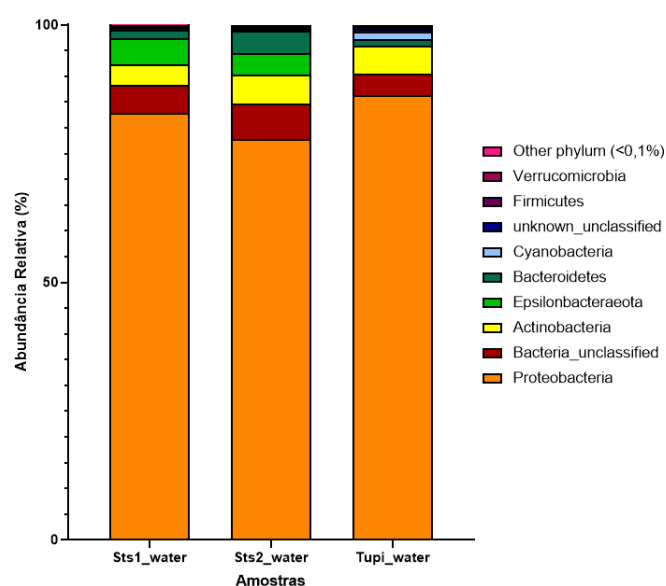
Tabela 4 - Relação entre os domínios e o total de unidades taxonômicas operacionais moleculares (OTUs) nas amostras de partículas.

| Amostras    | Sts1_particle  | Sts2_particle  | Tupi_particle  |
|-------------|----------------|----------------|----------------|
| Archaea     | 2 (0,0%)       | 4 (0,0%)       | 68 (0,0%)      |
| Bacteria    | 294893 (97,4%) | 253939 (98,9%) | 559162 (99,0%) |
| Eukaryota   | 2208 (0,7%)    | 312 (0,1%)     | 1318 (0,2%)    |
| Unknown     | 5467 (1,8%)    | 2483 (0,9%)    | 4212 (0,7%)    |
| Total Geral | 302570         | 256738         | 564760         |

Fonte: Autor.

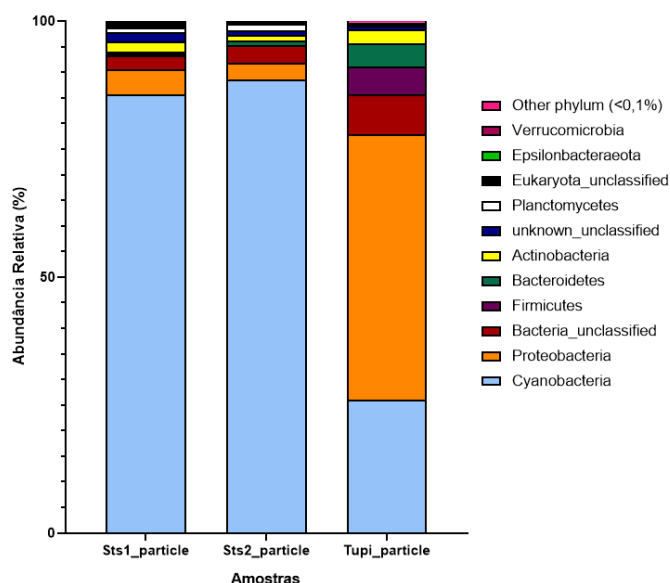
Para uma comparação filogenética nas categorias desenhou-se, a partir das tabelas dinâmicas, figuras descritivas sobre os principais filos e gêneros de micro-organismos existentes nas coletas, estabelecendo o corte de abundância, respectivamente, maior de 0,1% e maior de 1,0%. Nas amostras de água (Figura 1) o filo predominante é o *Proteobacteria* com 82,85% na primeira amostragem, 77,77% na segunda, realizada após o vazamento de material tóxico e por fim 86,25% na ESEC Tupinambás. Entretanto, os micro-organismos associados ao material particulado (Figura 2) resultaram no filo *Cyanobacteria* como o de maior abundância no porto (Sts1\_particle = 85,71% e Sts2\_particle = 88,52%) e a *Proteobacteria* (51,80%) na Unidade de Conservação de proteção integral.

Figura 1 - Abundância relativa de filos nas amostras de água do canal do Porto de Santos e na Estação Ecológica de Tupinambás.



Fonte: Autor.

Figura 2 - Abundância relativa de filos nas amostras de partículas do canal do Porto de Santos e na Estação Ecológica de Tupinambás.

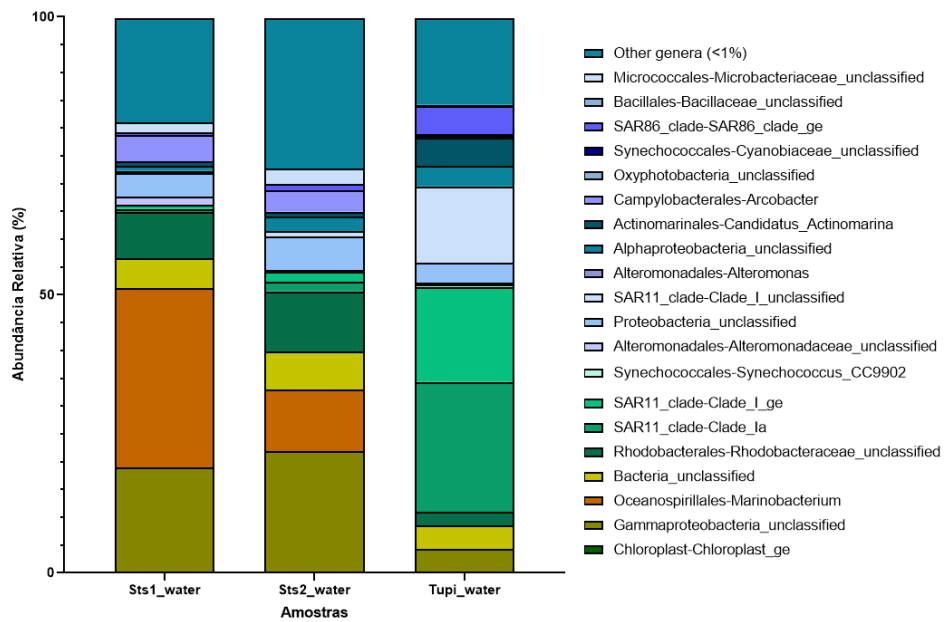


Fonte: Autor.

Em relação aos gêneros, dois obtiveram maior abundância nas amostras de água, realizadas no canal do Porto de Santos (Figura 3), sendo eles: *Marinobacterium* (32,30%) da ordem *Oceanospirillales* e *Gammaproteobacteria* não classificada (21,71%). Todavia, Tupinambás apresentou diferentes grupos, especificamente, *SAR11 Clade Ia* (23,43%) e *SAR11 Clade Ige* (16,99%) da classe *Alphaproteobacteria*. Os mesmos exibem menos de 2% nas análises do porto, com: 0,5% e 0,75% (Sts1\_water), e 1,73% e 1,87% (Sts2\_water).

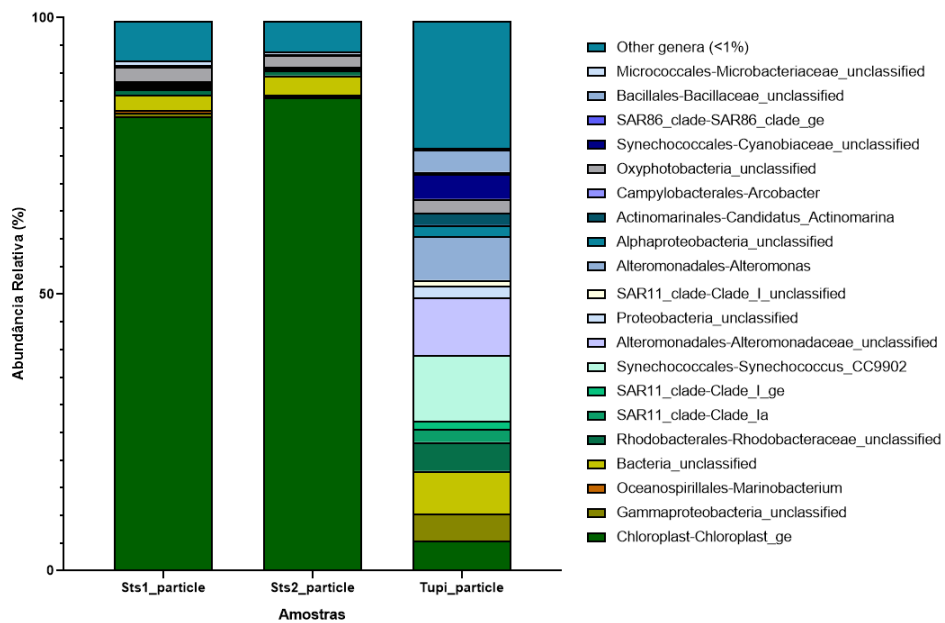
Nos estudos biomoleculares do material particulado (Figura 4), observou-se a abundância de *Chloroplast\_ge*, relacionado ao filo *Cyanobacteria*, predominando em mais da metade das amostras do canal do Porto de Santos, resultando em 82,18% (Sts1\_particle) e 85,56% (Sts2\_particle), contudo, a abundância desses micro-organismos na Estação Ecológica é baixa se comparada aos dados descritos anteriormente, com 5,41%. Na ESEC Tupinambás, os principais grupos são *Synechococcus\_CC9902* (11,90%) e *Alteromonadaceae* (10,35%).

Figura 3 - Abundância relativa de ordem-gênero nas amostras de água do canal do Porto de Santos e na Estação Ecológica de Tupinambás.



Fonte: Autor.

Figura 4 - Abundância relativa de ordem-gênero nas amostras de partículas do canal do Porto de Santos e na Estação Ecológica de Tupinambás.



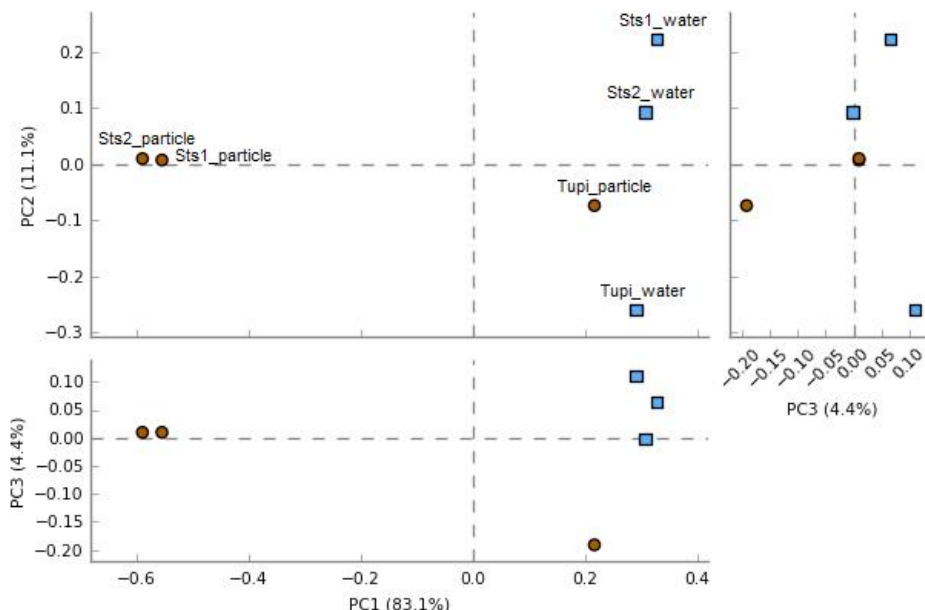
Fonte: Autor.

### 3.2 Comparação estatística

Na comparação estatística entre amostras de água e de partículas, constataram o número de recursos ativos iguais à zero, o que significa que não houve diferença significativa entre esses grupos. O gráfico abaixo de análise de componentes principais (PCA) aborda os pontos localizados em um espaço tridimensional reduzido (Figura 5).

Essa mesma representação mostra os eixos PC1 e PC2 explicando mais de 90% da variação das amostras, destacando a similaridade entre os micro-organismos presentes nas amostras de partículas e água retiradas no canal do Porto de Santos. Entretanto, na Unidade de Conservação ESEC Tupinambás, a maior proximidade está entre as amostras de água e partículas do mesmo local (Tupi\_water e Tupi\_particle).

Figura 5 - Análise de componentes principais (PCA) com sistema de eixos tridimensionais.



Fonte: Autor.

#### 4. DISCUSSÃO

A análise taxonômica das amostras de água revela um alto índice de quatro principais: *Gammaproteobacteria*, *Marinobacterium*, *SAR 11 Clade Ia* e *SAR 11 Clade Ige*, com a abundância relativa variando com local e dia de coleta (Figura 3). No entanto, os grupos descritos fazem parte do mesmo filo das *Proteobacteria* (Figura 1). Esse grupo engloba diversos micro-organismos com diferentes metabolismos e mecanismos de produção energética (MADIGAN et al., 2010), contribuindo para sua adaptabilidade e diversidade genética (KERSTERS et al., 2006; MADIGAN et al., 2010; OLIVEIRA, 2017). Desse modo, é imprescindível sua contribuição nos ciclos biogeoquímicos ambientais, dentre eles: do carbono e nitrogênio (KERSTERS et al., 2006; OLIVEIRA, 2017) e no funcionamento dos ecossistemas microbianos.

As *Proteobacteria* são bactérias gram-negativas (LOPES, 2008; MADIGAN et al., 2010) com estruturas complexas de multicamadas de lipopolissacarídeos (LPS) no exterior (MADIGAN et al., 2010). Além disso, o filo manifesta múltiplas características fisiológicas e morfológicas entre as espécies e integra a maior diversidade fenotípica da linhagem filogenética das bactérias (GUPTA, 2000; KERSTERS et al., 2006; MADIGAN et al., 2010; OLIVEIRA, 2017), favorecendo sua presença em diferentes ambientes, devido à variedade e adaptabilidade metabólica. No meio aquático, a *Proteobacteria* é amplamente disseminada na água e habitam lugares com alto teor de matéria orgânica (MO), como as estações de esgotos (MADIGAN et al., 2010).

À vista disso, a evidência desse filo de bactérias na água dos dois locais de coleta, corrobora com as particularidades dos lugares, os quais apontam uma intensa degradação de compostos orgânicos na água (SUTTI et al., 2016). O estuário de Santos, assim como a maioria das zonas costeiras, são ambientes enriquecidos em MO, principalmente devido as atividades antropogênicas (SIQUEIRA et al., 2006), derivadas da ocupação humana e do esgoto irregular, além da ação portuária no ecossistema aquático (SIQUEIRA et al., 2006).

Outra evidência que reforça as consequências de ações antrópicas e detecção de águas residuais no estuário de Santos, precisamente no canal do porto da região, é a existência do gênero *Arcobacter* apenas na água do local (Sts1\_water = 4,77% e Sts2\_water = 3,84%) enquanto a abundância relativa é igual à zero na

Unidade de Conservação de Tupinambás (Figura 2). O gênero que abriga uma pluralidade de espécies de vida livre (FL - *Free-Living*) (CALLBECK et al., 2019) tem como principal preceito sua disseminação em ambientes marinhos costeiros com exacerbado níveis sulfeto e MO (CALLBECK et al., 2019; MADIGAN et al., 2010), estações de tratamento de águas e esgotos (KRISTENSEN et al., 2020; MADIGAN et al., 2010), ambientes salinos e nos tratos reprodutivos da fauna e da flora (MADIGAN et al., 2010). Além disso, possui características zoonóticas e patogênicas, que acarretam em distúrbios reprodutivos e infecções gastroenterite nos seres humanos e animais (SHRESTHA et al., 2018; VANDENBERG et al., 2004).

As amostras de partículas, por sua vez, consagram presença importante do filo *Cyanobacteria*, mediante a significativa abundância relativa de *Chloroplast\_ge* nas amostras do porto, com cerca de 80% na primeira coleta e mais de 85% na segunda; e do gênero *Synechococcus\_CC9902* em Tupinambás (11,90%). O filo de destaque evolutivo, majoritariamente de fototróficos oxigênicos (HERRERO et al., 2016; SCHUERGERS et al., 2017; SOO et al., 2017), compreende um vasto grupo heterogêneo de produtores primários (ALVARENGA et al., 2017) e micro-organismos unicelulares, filamentosos e de agregados celulares desenvolvidos por extensas redes mucilaginosas, ou bainhas, que proporcionam o agrupamento de células, partículas e filamentos (MADIGAN et al., 2010).

Desse modo, as cianobactérias são adaptáveis, amplamente distribuídas nos ecossistemas (MADIGAN et al., 2010), tolerantes a aspectos extremos do meio (ESTEVES-FERREIRA et al., 2018) e estabelecem relações ecológicas primordiais entre os fatores bióticos e abióticos do ambiente (ALVARENGA et al., 2017), tendo como exemplo, a fixação de nitrogênio (ESTEVES-FERREIRA et al., 2018; HERRERO et al., 2016; ZEHR, 2011) e a ciclagem do carbono e oxigênio da atmosfera, mediante ao processo metabólico da fotossíntese oxigênica (MARQUES et al., 2006; SOO et al., 2017).

Os cloroplastos, em grande quantidade nas análises do canal do porto, indicam a possível relação com outras algas eucarióticas no local, principalmente se considerarmos a teoria da endossimbiose (MADIGAN et al., 2010; ZIMORSKI et al., 2014). Esse processo é fundamentado em duas organelas membranosas, mitocôndria e cloroplasto, (LOPES, 2008) no qual o surgimento da segunda baseia-se na incorporação estável, em outro tipo de célula, nesse caso, de uma

cianobactéria que realizava fotossíntese oxigênica e de uma bactéria quimiorganotrófica (MADIGAN et al., 2010). O aprimoramento filogenético dos genomas de cianobactérias e dos cloroplastos comprova essa estabilização simbiótica com benefícios para ambos (SATO, 2021). Atualmente, o filo *Cyanobacteria* ainda possui aspectos e características capazes de instituir vínculos harmônicos bem-sucedidos com uma variedade de hospedeiros (CHANG et al., 2019).

O gênero unicelular de cianobactérias, *Synechococcus*, em relevância nas amostras de partículas da Estação Ecológica (11,90%), corrobora a descrição do ambiente, pois esse grupo de micro-organismos é geralmente encontrado em numerosa quantidade nas zonas fóticas costeiras dos oceanos, validando assim a atividade fotossintética e as concentrações de gases na atmosfera, por intermédio do sequestro do dióxido de carbono e da produção de oxigênio (LOPES, 2008; MADIGAN et al., 2010).

Apesar da extrema importância das comunidades microbianas como provedores biológicos de diversidade metabólica para a diminuição dos efeitos antrópicos e na biorremediação de ambientes impactados (PEREIRA et al., 2012), as florações exacerbadas das espécies do filo *Cyanobacteria*, por exemplo, podem ocasionar problemas ambientais preocupantes (MOREIRA et al., 2014). Visto que alguns micro-organismos do filo produzem potentes cianotoxinas, que englobam: neurotoxinas, hepatoxinas e dermatoxinas (HAQUE et al., 2017; MEREL et al., 2013; RODGERS et al., 2018), acarretando no desequilíbrio do ambiente e na intoxicação humana e da biota marinha, e em paralelo a isso, descoloração da água e liberação de odores no meio (MADIGAN et al., 2010; MOREIRA et al., 2014). Segundo a CETESB (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo), há registros dessas florações em todo litoral paulista, inclusive na região de Santos.

Vale salientar que a comparação genômica de alguns gêneros das amostras com o banco de dados SILVA v132, resultou em *unknowns* (categorias desconhecidas), isso porque muitas sequências de genes não são identificadas por completo. Outra ênfase, deve ser feita em relação aos organismos nomeados com letras e números, como é o caso do gênero *Synechococcus\_CC9902*, pois essas características são de sequências não cultivadas de outros estudos e pesquisas. Consequentemente, sem o isolamento dos genes, torna-se mais complicada a obtenção de informações específicas do organismo.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização da análise metagenômica e dos processos de bioinformática na comparação das composições taxonômicas das comunidades microbianas de vida livre com a associada a eucariotos e partículas apresentou uma ampla variedade de micro-organismos presentes na região do canal do Porto de Santos e na Estação Ecológica de Tupinambás, resultando em táxons semelhantes estatisticamente, contudo exibindo uma abundância relativa particular em cada amostra.

A presença, o crescimento e o desenvolvimento dessas comunidades estão estreitamente envolvidos com os aspectos de seu microambiente, sendo assim, parâmetros físicos e biogeoquímicos influenciam diretamente a sobrevivência e manutenção da vida desses organismos microscópios. Em paralelo a isso, o ecossistema microbiano também é responsável por caracterizar em sua maioria, os micro-organismos do local através da adaptabilidade desses seres às particularidades do meio. No entanto, esse equilíbrio ecológico, envolvendo as espécies e o ambiente, podem manifestar diferentes reações, a partir de perturbações e interferências antropogênicas, ocasionando distintas distribuições microbianas que podem afetar todos os fatores bióticos e abióticos do local.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, D, O; Fiore, M, F; Varani, A, M. A metagenomic approach to cyanobacterial genomics. Repositório Instituto Unesp, 2009. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/16975>. Acesso em: 14 de novembro de 2022.

BODELIER, P, L, E. Para entender, gerenciar e proteger os ecossistemas microbianos. Frontiers em microbiologia, 2011. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2011.00080/full>. Acesso em: 18 de outubro de 2022.

BRASIL. CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Praias - Florações de Microalgas Marinhas. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/praias/floracoes-de-microalgas-marinhas/>. Acesso em: 22 de novembro de 2022.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Unidades nos Biomas, marinho. ESEC Tupinambás. Disponível em: <https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/biodiversidade/unidade-de-conservacao/unidades-de-biomas/marinho/lista-de-ucs/esec-tupinambas>. Acesso em: 22 de novembro de 2022.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Microrganismos, 2003. Disponível em: [https://antigo.mma.gov.br/estruturas/chm/\\_arquivos/Aval\\_Conhec\\_Cap2.pdf](https://antigo.mma.gov.br/estruturas/chm/_arquivos/Aval_Conhec_Cap2.pdf). Acesso em: 26 de julho de 2021.

CALLBECK, C, M; Pelzer, C; Lavik, G; Fordelman, T, G; Graf, J, S; Vekeman, B; Schunk, H; Littmann, S; Fuchs, B, M; Hach, P, F; Kalvelage, T; Schimtz, R, A; Kuypers, M, M, M. *Arcobacter peruensis* sp. nov., a Chemolithoheterotroph Isolated from Sulfide- and Organic-Rich Coastal Waters off Peru. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6881792/>. Acesso em: 14 de novembro de 2022.

CHANG, G, C, A; Chen, T; Li, N; Duan, J. Perspectives on Endosymbiosis in Coralloid Roots: Association of Cycads and Cyanobacteria. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31474965/>. Acesso em: 28 de novembro de 2022.

COX, P, M; Peterson, A, D; Biggs, J, P. SolexaQA: avaliação rápida da qualidade dos dados de sequenciamento de segunda geração da Illumina. BMC bioinformática, 2010. Disponível em: <https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2105-11-485>. Acesso em: 18 de outubro de 2022.

CRESPO, G, B; Pommier, T; Gomez, F, B; Alió, P, C. Composição taxonômica das assembléias bacterianas de vida livre e fixadas por partículas no Mar Mediterrâneo do Noroeste analisadas por pirosequenciamento do rRNA 16S. Biblioteca Nacional de Medicina dos EUA, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3948605/>. Acesso em: 18 de outubro de 2022.

COLMANETTI, E, B. Avaliação estatística de três estações de tratamento de esgoto da campanha de saneamento ambiental do Distrito Federal (CAESB) por análise de componentes principais (PCA). Instituto de Química, 2020. Disponível em: [https://bdm.unb.br/bitstream/10483/29131/1/2020\\_EstevanBarbosaColmanetti\\_tcc.pdf](https://bdm.unb.br/bitstream/10483/29131/1/2020_EstevanBarbosaColmanetti_tcc.pdf). Acesso em: 28 de novembro de 2022.

ESCALAS, A; Hale, L; Voordeckers W, J; Yang, Y; Firestone, K, M; Cohen, L, A; Zhou, J. Microbial functional diversity: From concepts to applications. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6822047/>. Acesso em: 18 de outubro de 2022.

ESTEVEZ-FERREIRA, A, A; Inaba, M; Fort, A; Araújo, W, L; Sulpice, R. Nitrogen metabolism in cyanobacteria: metabolic and molecular control, growth consequences and biotechnological applications. US National Library of Medicine National Institutes

of Health, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29528259/>. Acesso em: 28 de novembro de 2022.

FERREIRA, Rubem E. Visão geral do Linux. In: FERREIRA, Rubem E. Linux: Guia do Administrador do Sistema. 2° Edição. ed. São Paulo: Novatec Editora, 2008.

FUERST, John A. Microorganisms – A Journal and a Unifying Concept for the Science of Microbiology. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5029479/#B1-microorganisms-02-00140/>. Acesso em: 09 de novembro de 2022.

GARRIDO-CARDENAS, J, A; Agugliaro, F, M. The metagenomics worldwide research. Springer link, 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00294-017-0693-8>. Acesso em: 18 de outubro de 2022.

GARRISON, Tom. Usos e Abusos do Oceano. In: GARRISON, Tom. Fundamentos de Oceanografia. 2ª Edição brasileira. ed. São Paulo: [s. n.], 2016.

GUPTA, R, S. The phylogeny of proteobacteria: relationships to other eubacterial phyla and eukaryotes. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10978543/#affiliation-1>. Acesso em: 28 de novembro de 2022.

HAQUE, F; Banayan, S; Yee, J; Chiang, W, Y. Extraction and applications of cyanotoxins and other cyanobacterial secondary metabolites. Chemosphere. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28544902/>. Acesso em: 28 de novembro de 2022.

HAYOUN, K; Pible O; Petit. P; Allain, F; Jouffret, V; Culotta, K; Rivasseau, C; Armengaud, J; Alpha-Bazin, B. Proteotyping Environmental Microorganisms by Phylopeptidomics: Case Study Screening Water from a Radioactive Material Storage Pool. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2020. Disponível

em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7599590/>. Acesso em: 14 de novembro de 2022.

HERRERO, A; Stavans, J; Flores, E. The multicellular nature of filamentous heterocyst-forming cyanobacteria. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28204529/>. Acesso em: 28 de novembro de 2022.

JOBARD, M; Pessiot, J; Nouaille, R; Fonty, G; Sime-Ngando, T. Diversidade microbiana em apoio à valorização da biomassa anaeróbia. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26516020/>. Acesso em: 26 de agosto de 2022.

KERSTERS, K; Vos, P; Gillis, M; Swings, J; Vandamme, P; Stackebrandt, E. Springer. Introduction to the Proteobacteria. The Prokaryotes. Disponível em: [https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/0-387-30745-1\\_1#citeas](https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/0-387-30745-1_1#citeas). Acesso em: 14 de novembro de 2022.

KLIER, J; Dellwig, O; Leipe, T; Jürgens, K; Herlemann, PR, D. Benthic Bacterial Community Composition in the Oligohaline-Marine Transition of Surface Sediments in the Baltic Sea Based on rRNA Analysis. US National Library of Medicine, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5827536/>. Acesso em: 08 de setembro de 2022.

KLINDWORTH, A; Pruesse, E; Schweer, T; Peplies, J; Quast, C; Horn, M; Glöckner, O, F. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22933715/>. Acesso em: 09 de novembro de 2022.

KRAUSE, S; Le Roux, X; Niklaus, A, P; Van Bodegom, M, P; Lennon, T, J; Bertilsson, S; Grossart, P, H; LE Bodelier, P. Trait-based approaches for understanding microbial biodiversity and ecosystem functioning. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2014. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4033906/>. Acesso em: 18 de outubro de 2022.

KRISTENSEN, J, M; Nierychlo, M; Albertsen, M; Nielsen, P, H. Bacteria from the Genus *Arcobacter* Are Abundant in Effluent from Wastewater Treatment Plants. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7170470/>. Acesso em: 28 de novembro de 2022.

LOPES, Sônia. Estrutura dos ecossistemas, fluxo de energia e ciclo da matéria. In: LOPES, Sônia. Bio. 2ª Edição. ed. São Paulo: Saraiva, 2008. v. Volume único.

MADIGAN, Michael T.; MARTINKO, John M.; DUNLAP, Paul V.; CLARK, David P. Microbiologia de Brock. 12ª Edição. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

MAHÉ, F; Rognes, T; Quince, C; Vargas, C; Dunthorn, M. Swarm v2: cluster de amplicon altamente escalonável e de alta resolução. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26713226/>. Acesso em: 08 de setembro de 2022.

MAHONY, S; Benos, V, P. STAMP: a web tool for exploring DNA-binding motif similarities. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17478497/>. Acesso em: 08 de setembro de 2022.

MARQUES, K, N. Análise morfológica e molecular de cianobactérias isoladas de efluentes de uma mina de urânio desativada com ênfase em *Aphanothece* e sua capacidade de bioadsorção do <sup>226</sup>Ra. Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 2006. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/64/64133/tde-19032007-160337/publico/KARLA.pdf>. Acesso em: 28 de novembro de 2022.

MEREL, S; Walker, D; Chicana, R; Snyder, S; Baurès, E; Thomas, O. State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins. US National

Library of Medicine National Institutes of Health, 2013. Disponível em:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23892224/>. Acesso em: 28 de novembro de 2022.

MOREIRA, C; Ramos, V; Azevedo J; Vasconcelos, V. Methods to detect cyanobacteria and their toxins in the environment. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2014. Disponível em:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25085613/>. Acesso em: 14 de novembro de 2022.

OLIVEIRA, M, O. Estrutura da comunidade de Proteobactérias no solo de quatro fazendas com diferentes níveis de degradação em condições de seca e chuva. Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, 2017. Disponível em:  
<https://www2.ufjf.br/engsanitariaeambiental/files/2014/02/TCC-Mariana-Batista-Oliveira.pdf>. Acesso em: 28 de novembro de 2022.

PARKS, H, D; Tyson, W, G; 2, Hugenholtz, P; Beiko, G, R. STAMP: statistical analysis of taxonomic and functional profiles. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2014. Disponível em:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25061070/>. Acesso em: 27 de agosto de 2022.

PEREIRA, B, R, A; Freitas, F, A, D. Uso de Microorganismos para Biorremediação em Ambientes Impactados. Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental, REGET/UFSM, 2012. Disponível em:  
<https://periodicos.ufsm.br/reget/article/view/4818/2993>. Acesso em: 22 de novembro de 2022.

QUAST, C; Pruesse, E; Yilmaz, P; Gerken, J; Schweer, T; Yarza, P; Peplies, J; Glöckner, O, F. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. US National Library of Medicine Nacional Institutes of Health, 2013. Disponível em:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3531112/>. Acesso em: 18 de outubro de 2022.

RADUSHEV D et al. One-way ANOVA followed by Dunnett's multiple comparisons test was performed using GraphPad Prism version 8.0.2 for Windows, GraphPad

Software, San Diego, California USA, [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com), 2019.

RIECK, A; Herlemann, PR, D; Jurguens, K; Grossart, P, H. Particle-Associated Differ from Free-Living Bacteria in Surface Waters of the Baltic Sea. *Frontiers em Microbiolgy*, 2015. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2015.01297/full>. Acesso em: 18 de outubro de 2022.

RODGERS, K, J; Main, B, J; Samardzid, K. Cyanobacterial Neurotoxins: Their Occurrence and Mechanisms of Toxicity. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28585115/>. Acesso em: 14 de novembro de 2022.

SANTOS, L; Santos, A, L; Coelho, F, J, R, C; Gomes, N, C, M, G; Dias, J, M; Cunha, Â; Almeida, A. Relation between bacterial activity in the surface microlayer and estuarine hydrodynamics. *Fems Microbiology Ecology*, 2011. Disponível em: <https://academic.oup.com/femsec/article/77/3/636/518558?login=false>. Acesso em: 14 de novembro de 2022.

SATO, N. Are Cyanobacteria an Ancestor of Chloroplasts or Just One of the Gene Donors for Plants and Algae? *Genes (Basel)*. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34071987/>. Acesso em: 25 de novembro de 2022.

SCHLOSS, D, P; Westcott, L, S; Ryabin, T; Hall, R, J; Hartmann, M; Hollister, B, E; Lesniewski, A, R; Oakley, B, B; D, H, Parks; Robinson, J, C; Sahl, W, J; Stres, B; Thallinger, G, G; Van Horn, J, D; Weber, F, C. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19801464/>. Acesso em: 26 de agosto de 2022.

SCHUERGERS, Nils; Mullineaux, C, W; Wilde, A. Cyanobacteria in motion. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28472718/>. Acesso em: 28 de novembro de 2022.

SHRESTHA, R, G; Tanaka, Y; Malla, B; Tandukar, S; Bhandari, D; Inoue, D; Sei, K; Sherchand, J, B; Haramoto, E. Development of a Quantitative PCR Assay for *Arcobacter* spp. and its Application to Environmental Water Samples. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6167121/>. Acesso em: 15 de novembro de 2022.

SIQUEIRA, G, W; Braga, E, S; Mahiques, M, M; Aprile, F, M. Determinação da matéria orgânica e razões C/N e C/S em sedimentos de fundo do Estuário de Santos - SP/Brasil. Labomar, 2006. Disponível em: <https://labomar.ufc.br/wp-content/uploads/2017/01/acm-2006-39-02.pdf>. Acesso em: 28 de novembro de 2022.

SOO, R, M; Hemp, J; Parks, H, D; Fischer, W, W; Hugenholtz, P. On the origins of oxygenic photosynthesis and aerobic respiration in Cyanobacteria. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28360330/>. Acesso em: 27 de novembro de 2022.

SUTTI, B; Chiozzini, V, G; Braga, E, S. Water quality and organic matter study in the Port Channel and Santos Bay (São Paulo coast, Brazil) in spring time. Instituto Oceanográfico. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Bruno-Sutti/publication/319184955\\_Water\\_quality\\_and\\_organic\\_matter\\_study\\_in\\_the\\_Port\\_Channel\\_and\\_Santos\\_Bay\\_Sao\\_Paulo\\_coast\\_Brazil\\_in\\_spring\\_time/links/5999bd3645851564432dbf2b/Water-quality-and-organic-matter-study-in-the-Port-Channel-and-Santos-Bay-Sao-Paulo-coast-Brazil-in-spring-time.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Bruno-Sutti/publication/319184955_Water_quality_and_organic_matter_study_in_the_Port_Channel_and_Santos_Bay_Sao_Paulo_coast_Brazil_in_spring_time/links/5999bd3645851564432dbf2b/Water-quality-and-organic-matter-study-in-the-Port-Channel-and-Santos-Bay-Sao-Paulo-coast-Brazil-in-spring-time.pdf). Acesso em: 28 de novembro de 2022.

VANDENBERG, O; Dediste, A; Houf, K; Ibekwem, S; Souayah, H; Cadranel, S; Douat, N; Zissis, G; Butzler, J, P; Vandamme, P. *Arcobacter* Species in Humans. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2004. Disponível em:



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3323243/>. Acesso em: 27 de novembro de 2022.

WILLIAMSON, J, S; Yooseph, S. From bacterial to microbial ecosystems (metagenomics). US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22144147/>. Acesso em: 18 de outubro de 2022.

ZEHR, J, P. Nitrogen fixation by marine cyanobacteria. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21227699/>. Acesso em: 28 de novembro de 2022.

ZHANG, Z; Deng, Q; Wan, L; Cao, X; Zhou, Y; Song, C. Bacterial Communities and Enzymatic Activities in Sediments of Long-Term Fish and Crab Aquaculture Ponds. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7996777/>. Acesso em: 18 de outubro de 2022.

ZIMORSKI, V; Ku, C; Martins, F, W; Gould, B, S. Endosymbiotic theory for organelle origins. Curr Opin Microbiol. US National Library of Medicine National Institutes of Health, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25306530/>. Acesso em: 28 de novembro de 2022.