LINA ROCÍO DEL PILAR RADA MARTÍNEZ

**Microbioma da bacia do Rio Tietê: Diversidade
funcional e taxonômica**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Microbiologia

Orientador: Prof. Dr. Welington Luiz de Araújo

Versão original

São Paulo
2017

RESUMO

RADA, L. R. M. **Microbioma da bacia do Rio Tietê: Diversidade funcional e taxonômica.** 2017. 122 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

O Rio Tietê é o principal rio do Estado de São Paulo e um dos mais contaminados do país. Este rio nasce no município de Salesópolis, na serra do mar, e flui para o interior do Estado, percorrendo 1.136 km até desaguar no rio Paraná. No seu percurso recebe uma grande quantidade de poluentes industriais e esgoto doméstico que alteram as suas condições físico-químicas, levando a possíveis mudanças na composição e funcionamento das comunidades microbianas presentes. Partindo de estudos de diversidade taxonômica ao longo da bacia do Rio Tietê, quatro locais contrastantes foram selecionados para análises funcionais. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi caracterizar através de análise metagenômica, a diversidade taxonômica e funcional de micro-organismos planctônicos em quatro pontos contrastantes da Bacia do Rio Tietê e identificar genes e vias metabólicas de interesse biotecnológico e/ou envolvidos em adaptação microbiana a esse ambiente. Os perfis taxonômicos e funcionais apontaram à existência de diferenças relacionadas ao local de amostragem. Técnicas dependentes de cultivo, demonstraram diferenças taxonômicas entre micro-organismos isolados de pontos com diferentes níveis de poluição, sugerindo a existência de alterações nas comunidades microbianas em resposta à presença de poluentes na água e no sedimento. A caracterização da comunidade bacteriana ao longo da bacia, assim como a avaliação da capacidade dos micro-organismos para tolerar os poluentes presentes no rio foram avaliadas por métodos dependentes e independentes de cultivo. Mil e quarenta e seis bactérias isoladas de água e do sedimento do rio foram testadas frente a sua capacidade para tolerar altas concentrações dos metais tóxicos cádmio e níquel; os resultados mostraram que 9% desses isolados possuem a capacidade de crescer em concentrações de 4 mM, valor 400 vezes acima do limite permitido pelo CONAMA em corpos d' água. A tolerância a níquel e cádmio também foi avaliada em bibliotecas construídas com DNA metagenômico de amostras de água e sedimento do rio, onde foram detectados sete clones capazes de tolerar 1 mM de cádmio. Os resultados apresentados apontam a influência das características ambientais na composição e funcionamento das comunidades microbianas em ambientes lóticos. A análise metagenômica junto com a construção de bibliotecas de DNA metagenômico resultou em uma estratégia adequada para a busca por genes de interesse biotecnológico e/ou envolvidos em interações ecológicas.

Palavras chave: Ambientes lóticos. Rio Tietê. Poluição da água. Metagenômica. Diversidade microbiana. Diversidade funcional. Tolerância a metais tóxicos.

ABSTRACT

RADA, L. R. M. **Microbiome of the Tietê River basin: Functional and taxonomic diversity**. 2017. 122 p. PhD Thesis (Microbiology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

The Tietê River is the most important river of the State of São Paulo, in the southeastern of Brazil; it is also one of the most contaminated rivers of the country. On its watercourse, the river receives large amounts of anthropogenic and industrial pollutants that can alter the environmental conditions of the water, leading to possible shifts in the microbial diversity. Starting from previous studies aimed to study microbial diversity along the Tiete River basin, four sites were chosen for metagenomic analyses to characterize the taxonomic and functional diversity of microorganisms in selected locations and its correlation with the environmental factors. The results showed taxonomic and functional differences related to the sampling site and water quality. Clear differences in functional profiles between the sampling sites may indicate adaptation of the community to the environmental conditions. The characterization of the bacterial community along the basin and its ability to tolerate toxic pollutants within the river were evaluated by dependent and independent cultivation techniques. One thousand and forty-six bacteria isolated from water and sediment samples were tested against their ability to tolerate high concentrations of the toxic metals cadmium and nickel. The results showed that 9% of these isolates have the capacity to grow at 4 mM of these metals. That concentration of metal is 400 times the limit allowed by CONAMA in water bodies. The tolerance to nickel and cadmium was also evaluated in clone libraries constructed with metagenomic DNA from the river. Seven clones exhibit the capacity to tolerate 1 mM of cadmium. The results show the influence of environmental characteristics on the composition and functioning of microbial communities in lotic environments. The metagenomic analysis along with the construction of metagenomic DNA libraries is a very useful approach when prospecting genes of biotechnological concern and/or involved in ecological interactions.

Keywords: Lotic environments. Tietê River. Water pollution. Metagenomics. Microbial diversity. Functional diversity. Heavy metal tolerance.

INTRODUÇÃO

A água é fundamental para a manutenção do planeta Terra e para os seres vivos que nele habitam. Neste contexto, a água doce é um recurso importante para os seres humanos, pois está relacionada com todas as atividades sociais, econômicas e ambientais, sendo um fator limitante para o desenvolvimento social e tecnológico. Dentre os corpos d'água doce existentes, os rios se constituem como colunas dorsais para o desenvolvimento de municípios e cidades; como observado para o Rio Tietê que é o principal rio do Estado de São Paulo, percorrendo 1136 km desde a sua nascente, no município de Salesópolis, próximo à serra do mar a leste, até a sua foz no rio Paraná a oeste. Por ser o principal rio do Estado, o Tietê virou o eixo de crescimento e desenvolvimento das cidades, trazendo como consequência a necessidade das administrações públicas adotarem uma política de utilização do rio apenas como fonte de produção de energia e como veículo transportador de esgoto. Neste contexto, atualmente são despejadas no Rio Tietê mais de 700 toneladas de esgoto doméstico e industrial por dia, e embora, estejam sendo realizados esforços para despoluir o rio, muito ainda precisa ser feito.

Em condições normais, os rios são capazes de degradar as cargas poluidoras de origem orgânica que recebem em um processo conhecido como autodepuração. Isto ocorre graças à existência de micro-organismos, que cumprem a função de decompor a maior parte da matéria orgânica presente no corpo hídrico. Quando a degradação é completa, o rio volta a seu estado inicial, considerando apenas aspectos físico-químicos. Na cidade de São Paulo, a grande quantidade de esgoto lançado diariamente, somada à retificação sofrida pelo rio entre os anos 1930 e 1950, impedem que existam as condições adequadas para que os processos de autodepuração e diluição ocorram. No entanto, alguns quilômetros após deixar a Grande São Paulo o rio começa a encontrar as condições apropriadas para que esses processos ocorram, permitindo por tanto, a restauração do rio. Entretanto, estudos demonstrando a variação taxonômica e funcional da comunidade microbiana no Rio Tietê são ainda escassos, não sendo possível avaliar o impacto dos poluentes sobre a diversidade taxonômica e funcional desta comunidade.

Estudos prévios apontam para uma possível mudança na diversidade microbiana presente nos diferentes ecossistemas em função da atividade humana, levando a possível extinção de espécies capazes de promover a manutenção destes ambientes e o equilíbrio ecológico. Dessa forma, estudos de monitoramento desta biodiversidade se justificam, visto que à medida que diferentes alterações ambientais ocorrem, a estrutura das comunidades

microbianas presentes pode ser alterada, uma vez que a densidade populacional e a diversidade são reguladas por fatores como fotoperíodo, temperatura e demanda por nutrientes. Essas variações podem ser determinantes para a distribuição de espécies de micro-organismos ao longo do rio e em diferentes períodos. Assim sendo, impactos ambientais como o descarte de efluentes não tratados contribuem para a rápida alteração desses ecossistemas, podendo introduzir espécies com potencial patogênico ou eliminando espécies com funções metabólicas/ecológicas importantes para o ambiente.

Em função das pressões ambientais é plausível imaginar que algumas vantagens sejam conferidas às espécies remanescentes justificando a realização de estudos que permitam entender o funcionamento da comunidade e identificar a presença de genes ou características interessantes do ponto de vista biotecnológico. Tendo em vista que as técnicas dependentes de cultivo permitem acessar menos de 1% da diversidade total de determinado ambiente, a abordagem metagenômica, de diferentes pontos ao longo da bacia do Rio Tietê, possibilita a análise dos mecanismos adaptativos associados aos fatores ambientais que influenciam as comunidades microbianas nos diferentes ambientes de corpos de água doce, permitindo a elaboração de hipóteses a respeito das inter-relações entre membros desta comunidade ou a prospecção de funções de interesse prático e/ou de novas funções e/ou metabólitos que poderiam ser de importância em diferentes áreas da biotecnologia.

CONCLUSÕES

O sucesso na caracterização microbiológica de amostras ambientais depende da qualidade do DNA a ser sequenciado ou clonado. Por esse motivo o processo de extração do DNA é fundamental para a obtenção de bons resultados.

A análise taxonômica e funcional de amostras de água coletadas em pontos amostragem com diferentes características físico-químicas demonstrou que os fatores ambientais têm influência na composição da comunidade e consequentemente no seu funcionamento.

- O metabolismo do nitrogênio, e os processos metabólicos associados, foram mais abundantes nos pontos TIET24 e PATO, localizados em regiões do Rio Tietê com alta concentração de matéria orgânica. Esses locais também mostraram os maiores valores de concentração de nitrogênio na água.

- Processos associados ao metabolismo aeróbio foram mais abundantes em regiões com menor quantidade de matéria orgânica e maior concentração de oxigênio dissolvido na água, TIET25 e TITR. Nesses locais, processos como a fotossíntese e a fixação de CO₂ foram também mais abundantes.

- Funções relacionadas a condições anaeróbias como metanogênese, acetogênese e produção de álcool via fermentação, tiveram uma maior abundância no ponto TIET24 que apresentou o menor valor de oxigênio dissolvido entre as amostras.

- O funcionamento das comunidades bacterianas é influenciado pela composição química do ambiente e disponibilidade de nutrientes. Em locais poluídos e com alta concentração de matéria orgânica houve prevalência de micro-organismos e funções associadas à heterotrofia, em contrapartida, locais menos poluídos e com menor quantidade de nutrientes mostraram prevalência de micro-organismos e metabolismo relacionados à fotoautotrofia e litotrofia.

Dentro das comunidades microbianas, condições ambientais desfavoráveis podem favorecer a aquisição de mecanismos de defesa ou adaptações que lhes garantam a sobrevivência no ambiente.

- A maior quantidade de bactérias tolerantes aos metais tóxicos Cd e Ni foi isolada de pontos do Rio Tietê localizados em regiões industrializadas ou em processo de industrialização.

- Os genes relacionados a mecanismos de resistência a metais detectados nos metagenomas foram mais abundantes no ponto de amostragem TIET24, localizado numa região industrializada do Rio Tietê.

- Clones tolerantes aos metais tóxicos Ni e Cd são mais prevalentes na biblioteca NBS09, proveniente de sedimento com qualidade “ruim” pelas suas características físico-químicas. O local de amostragem se encontra localizado numa região industrializada do Rio Tietê.

REFERÊNCIAS¹

AB RAZAK, N. H. et al. Drinking water studies: A review on heavy metal, application of biomarker and health risk assessment (a special focus in Malaysia) *Journal of Epidemiology and Global Health*, **Journal of Epidemiology and Global Health**, 2015.

ADRIO, J. L.; DEMAINE, A. L. Microbial enzymes: tools for biotechnological processes. *Biomolecules*, v. 4, n. 1, p. 117–139, 2014.

AFIUNE, G.; MOTA, J. **Projeto Tietê**. Disponível em: <<http://apublica.org/projeto-tiete/>>. Acesso em: 05 de Abril de 2017.

ALLEN, R. C. et al. The mercury resistance (mer) operon in a marine gliding flavobacterium, *Tenacibaculum discolor* 9A5. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 83, n. 1, p. 135–148, 2013.

AMOS, G. C. A. et al. Functional metagenomic analysis reveals rivers are a reservoir for diverse antibiotic resistance genes. **Veterinary Microbiology**, v. 171, n. 3–4, p. 441–447, 2014.

ANCION, P.-Y.; LEAR, G.; LEWIS, G. D. Three common metal contaminants of urban runoff (Zn, Cu & Pb) accumulate in freshwater biofilm and modify embedded bacterial communities. **Environmental Pollution**, v. 158, n. 8, p. 2738–2745, 2010.

ANSARI, M. I.; MALIK, A. Biosorption of nickel and cadmium by metal resistant bacterial isolates from agricultural soil irrigated with industrial wastewater. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 16, p. 3149–3153, 2007.

ÁVILA, M. P. et al. Seasonality of freshwater bacterioplankton diversity in two tropical shallow lakes from the Brazilian Atlantic Forest. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 93, p. fiv218, 2017.

AYANGBENRO, A.; BABALOLA, O. A New Strategy for Heavy Metal Polluted Environments: A Review of Microbial Biosorbents. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 14, n. 1, p. 94, 2017.

AYUSO-SACIDO, A.; GENILLOUD, O. New PCR Primers for the Screening of NRPS and PKS-I Systems in Actinomycetes: Detection and Distribution of These Biosynthetic Gene Sequences in Major Taxonomic Groups. **Microbial Ecology**, v. 49, n. 1, p. 10–24, 2005.

¹ De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BELILA, A.; SNOUSSI, M.; HASSAN, A. Rapid qualitative characterization of bacterial community in eutrophicated wastewater stabilization plant by T-RFLP method based on 16S rRNA genes. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 1, p. 135–143, 2012.

BENTO, F. M. et al. Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 9, p. 1049–1055, 2005.

BHATNAGAR, S.; KUMARI, R. Bioremediation : A Sustainable Tool for Environmental Management – A Review. **Annual Review & Research in Biology**, v. 3, n. 4, p. 974–993, 2013.

BOLHUIS, H. et al. Molecular analysis of bacterial diversity in mudflats along the salinity gradient of an acidified tropical Bornean estuary (South East Asia). **Aquatic Biosystems**, v. 10, n. 1, p. 10, 2014.

BROWN, M. E.; CHANG, M. C. Y. Exploring bacterial lignin degradation. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 19, p. 1–7, 2014.

BRUINS, M. R.; KAPIL, S.; OEHME, F. W. Microbial Resistance to Metals in the Environment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 45, n. 3, p. 198–207, 2000.

BURGIN, A. J.; HAMILTON, S. K. Have we overemphasized in aquatic removal of nitrate the role ecosystems? pathways of denitrification review. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 5, n. 2, p. 89–96, 2007.

CASTRO, A. P. DE et al. Construction and validation of two metagenomic DNA libraries from Cerrado soil with high clay content. **Biotechnology letters**, v. 33, n. 11, p. 2169–75, 2011.

CERQUEIRA, V. S. et al. Bioprospection and selection of bacteria isolated from environments contaminated with petrochemical residues for application in bioremediation. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 3, p. 1203–1222, 2012.

CETESB. **Relatório de Qualidade das Águas Interiores no Estado de São Paulo 2013**. São Paulo: CETESB, 2014. 303 p.

CETESB. **Qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo 2014**. 2. ed. São Paulo: CETESB, 2015. 520 p.

CETESB. **Qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo 2015**. 2. ed. São Paulo: CETESB, 2016. 562 p.

CETESB. **Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo 2016**. São Paulo: CETESB, 2017. 287 p.

CHRISTY, P. M.; GOPINATH, L. R.; DIVYA, D. A review on anaerobic decomposition and enhancement of biogas production through enzymes and microorganisms. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 34, p. 167–173, 2014.

COLE, J. J. et al. Plumbing the global carbon cycle: Integrating inland waters into the terrestrial carbon budget. **Ecosystems**, v. 10, n. 1, p. 171–184, 2007.

DA SILVA, I. S. et al. Heavy metal distribution in recent sediments of the Tietê -Pinheiros river system in São Paulo state , Brazil. **Applied Geochemistry**, v. 17, p. 105–116, 2002.

DAEE. **Histórico do Rio Tietê**. Disponível em: <http://www.daee.sp.gov.br/index.php?option=com_content&id=793:historico-do-rio-tiete&Itemid=53>. Acesso em: 01 janeiro de 2017.

DAS, S.; DASH, H. R.; CHAKRABORTY, J. Genetic basis and importance of metal resistant genes in bacteria for bioremediation of contaminated environments with toxic metal pollutants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 7, p. 2967–2984, 2016.

DE OLIVEIRA, L. F. V.; MARGIS, R. The source of the river as a nursery for microbial diversity. **PLoS ONE**, v. 10, n. 3, p. 1–11, 2015.

DEVKOTA, B.; IMBERGER, J. Upper and Middle Tiete River Basin dam-hydraulic system, travel time and temperature modeling. **Journal of Hydrology**, v. 475, p. 12–25, 2012.

DOPSON, M. et al. Metal resistance or tolerance? Acidophiles confront high metal loads via both abiotic and biotic mechanisms. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, n. APR, p. 10–13, 2014.

DUDGEON, D. et al. Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v. 81, n. 2, p. 163–82, 2006.

ESCOBAR-ZEPEDA, A.; DE LEÓN, A. V. P.; SANCHEZ-FLORES, A. The road to metagenomics: From microbiology to DNA sequencing technologies and bioinformatics. **Frontiers in Genetics**, v. 6, n. DEC, p. 1–15, 2015.

EVANS, S. E.; WALLENSTEIN, M. D. Climate change alters ecological strategies of soil bacteria. **Ecology Letters**, v. 17, n. 2, p. 155–164, 2014.

FAKRUDDIN, M.; MANNAN, K. S. BIN. Methods for Analyzing Diversity of Microbial Communities in Natural Environments. **Ceylon Journal of Science (Biological Sciences)**, v. 42, n. 1, p. 19–33, 2013.

FISHER, J. C. et al. Urban microbial ecology of a freshwater estuary of Lake Michigan. **Elementa (Wash D C)**, v. 22, n. 2, p. 134–139, 2015.

FUERST, J. A.; SAGULENKO, E. Beyond the bacterium: planctomycetes challenge our concepts of microbial structure and function. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 6, p. 403–413, 2011.

GARCÍA-ARMISEN, T. et al. Seasonal variations and resilience of bacterial communities in a sewage polluted urban river. **PLoS ONE**, v. 9, n. 3, 2014.

GARG, G. et al. Microbial pectinases: an ecofriendly tool of nature for industries. **3 Biotech**, v. 6, n. 1, p. 1–13, 2016.

GARRIDO, L. et al. Dynamics of microbial diversity profiles in waters of different qualities. Approximation to an ecological quality indicator. **Science of The Total Environment**, v. 468, p. 1154–1161, 2014.

GHAI, R. et al. Metagenomics of the Water Column in the Pristine Upper Course of the. **PLoS One**, v. 6, n. 8, p. e23785, 2011.

GHANBARINIA, F.; KHEIRBADI, M.; MOLLANIA, N. Comamonas sp. halotolerant bacterium from industrial zone of Jovein of Sabzevar introduced as good candidate to remove industrial pollution. **Iranian Journal of Microbiology**, v. 7, n. 5, p. 273–280, 2015.

GHANE, M. et al. Isolation and characterization of a heavy metal resistant Comamonas sp. from industrial effluents. **Iranian Journal of Science and Technology, Transaction A: Science**, v. 37, n. 2, p. 173–179, 2013.

GOLOVLEV, E. L. Ecological strategy of bacteria: specific nature of the problem. **Mikrobiologiya**, v. 70, n. 4, p. 437–43, 2001.

GOODFELLOW, M.; FIEDLER, H.-P. A guide to successful bioprospecting: informed by

actinobacterial systematics. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 98, n. 2, p. 119–142, 2010.

GRAHAM, E. B. et al. Microbes as engines of ecosystem function: When does community structure enhance predictions of ecosystem processes? **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. FEB, p. 1–10, 2016.

GUPTA, M. K. et al. Bioremediation of heavy metal polluted environment using resistant bacteria. **Journal of Environmental Research and Development**, v. 8, n. 4, p. 883–889, 2014.

HALE, R. L. et al. Stormwater Infrastructure Controls Runoff and Dissolved Material Export from Arid Urban Watersheds. **Ecosystems**, v. 18, n. 1, p. 62–75, 2014.

HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. **Palaeontologia Electronica**, v. 4, n. 1, p. 1–9, 2001.

HEMME, C. L. et al. Metagenomic insights into evolution of a heavy metal-contaminated groundwater microbial community. **Isme Journal**, v. 4, n. 5, p. 660–672, 2010.

HESSELSON, M. et al. Isotope array analysis of Rhodocyclales uncovers functional redundancy and versatility in an activated sludge. **The ISME journal**, v. 3, n. 12, p. 1349–64, 2009.

HU, A. et al. Response of bacterial communities to environmental changes in a mesoscale subtropical watershed, Southeast China. **Science of the Total Environment**, v. 472, p. 746–756, 2014.

IBEKWE, A. M.; MA, J.; MURINDA, S. E. Bacterial community composition and structure in an Urban River impacted by different pollutant sources. **Science of the Total Environment**, v. 566–567, p. 1176–1185, 2016.

INTORNE, A. C. et al. Essential role of the *czc* determinant for cadmium, cobalt and zinc resistance in *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAI 5. **International Microbiology**, v. 15, n. 2, p. 69–78, 2012.

ISLAM, M. S. et al. Heavy metal pollution in surface water and sediment: A preliminary assessment of an urban river in a developing country. **Ecological Indicators**, v. 48, p. 282–291. 2015.

JEON, Y. S. et al. Improved pipeline for reducing erroneous identification by 16S rRNA

sequences using the Illumina MiSeq platform. **Journal of Microbiology**, v. 53, n. 1, p. 60–69, 2015.

KANE, A. L. et al. Toward bioremediation of methylmercury using silica encapsulated *Escherichia coli* harboring the mer operon. **PLoS ONE**, v. 11, n. 1, p. 1–10, 2016.

KARTIK, V. P.; JINAL, H. N.; AMARESAN, N. Characterization of cadmium-resistant bacteria for its potential in promoting plant growth and cadmium accumulation in *Sesbania bispinosa* root. **International Journal of Phytoremediation**, v. 18, n. 11, p. 1061–1066, 2016.

KING, G. M. Urban microbiomes and urban ecology: How do microbes in the built environment affect human sustainability in cities? **Journal of Microbiology**, v. 52, n. 9, p. 721–728, 2014.

KNIETSCH, A. et al. Construction and screening of metagenomic libraries derived from enrichment cultures: Generation of a gene bank for genes conferring alcohol oxidoreductase activity on *Escherichia coli*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 3, p. 1408–1416, 2003.

LADE, H. et al. Biodegradation and detoxification of textile azo dyes by bacterial consortium under sequential microaerophilic/aerobic processes. **Experimental and Clinical Sciences, International Online Journal for Advances in Sciences**, p. 158–174, 2015.

LAGE, O. M.; BONDOSO, J. Planctomycetes and macroalgae, a striking association. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, n. JUN, p. 1–9, 2014.

LAL, D. et al. *Cupriavidus metallidurans*: A Modern Alchemist. **Indian Journal of Microbiology**, v. 53, n. 1, p. 114–115, 2013.

LEMOS, L. N. et al. Rethinking microbial diversity analysis in the high throughput sequencing era. **Journal of Microbiological Methods**, v. 86, n. 1, p. 42–51, 2011.

LI, L.-L. et al. Bioprospecting metagenomics of decaying wood: mining for new glycoside hydrolases. **Biotechnology for biofuels**, v. 4, n. 1, p. 23, 2011.

LIMA, F. R. **Caracterização da comunidade bacteriana da bacia do Rio Tietê por métodos independentes de cultivo**. 2015. São Paulo, 2015.

LITCHFIELD, K. et al. Whole-exome sequencing reveals the mutational spectrum of testicular germ cell tumours. **Nature communications**, v. 6, p. 5973, 2015.

LIU, B. et al. Thauera and Azoarcus as functionally important genera in a denitrifying quinoline-removal bioreactor as revealed by microbial community structure comparison. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 55, n. 2, p. 274, 2006.

LLAMES, M. E. et al. The effects of light availability in shallow, turbid waters: A mesocosm study. **Journal of Plankton Research**, v. 31, n. 12, p. 1517–1529, 2009.

LOZA, V.; PERONA, E.; MATEO, P. Molecular fingerprinting of cyanobacteria from river biofilms as a water quality monitoring tool. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 5, p. 1459–1472, 2013.

MA, L. et al. Spatial-temporal changes of bacterioplankton community along an exorheic river. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. MAR, p. 1–12, 2016.

MADSEN, E. L. Microorganisms and their roles in fundamental biogeochemical cycles. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 22, n. 3, p. 456–464, 2011.

MANI, D.; KUMAR, C. Biotechnological advances in bioremediation of heavy metals contaminated ecosystems: An overview with special reference to phytoremediation. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 11, n. 3, p. 843–872, 2014.

MAZARI-HIRIART, M. et al. Final opportunity to rehabilitate an urban river as a water source for Mexico City. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, 2014.

MCLELLAN, S. L.; FISHER, J. C.; NEWTON, R. J. The microbiome of urban waters. **International Microbiology**, v. 18, n. 3, p. 135–140, 2015.

MEYER, F. et al. The metagenomics RAST server -- a public resource for the automatic phylogenetic and functional analysis of metagenomes. **BMC Bioinformatics**, v. 9, n. 1, p. 386, 2008.

MEZITI, A. et al. Anthropogenic effects on bacterial diversity and function along a river-to-estuary gradient in Northwest Greece revealed by metagenomics. **Environmental Microbiology**, v. 18, p. 4640–4652, 2016.

MORTATTI, J.; MENEGHEL DE MORAES, G.; PROBST, J. L. Heavy metal distribution in recent sediments along the Tietê River basin. **Geochemical Journal**, v. 46, p. 13–19, 2011.

MORTATTI, J.; PROBST, J. Characteristics of heavy metals and their evaluation in suspended sediments from Piracicaba river basin (São Paulo , Brazil). **Revista Brasileira de Geociências**, v. 40, n. 3, p. 375–379, 2010.

NACKE, H. et al. Identification and characterization of novel cellulolytic and hemicellulolytic genes and enzymes derived from German grassland soil metagenomes. **Biotechnology Letters**, v. 34, n. 4, p. 663–675, 2012.

NEETA, B.; MAANSI, V.; HARPREET, S. B. Characterization of heavy metal (cadmium and nickel) tolerant Gram negative enteric bacteria from polluted Yamuna River, Delhi. **African Journal of Microbiology Research**, v. 10, n. 5, p. 127–137, 2016.

NEWTON, R. J. et al. A guide to the natural history of freshwater lake bacteria. **Microbiology and Molecular Biology reviews: MMBR**, v. 75, n.1, p. 14-49, 2011

NEWTON, R. J.; MCLELLAN, S. L. A unique assemblage of cosmopolitan freshwater bacteria and higher community diversity differentiate an urbanized estuary from oligotrophic Lake Michigan. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. SEP, p. 1–13, 2015.

NIES, D. H. Microbial heavy-metal resistance. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 51, n. 6, p. 730–750, 1999.

NIES, D. H. Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, n. 2–3, p. 313–339, 2003.

NZILA, A.; RAZZAK, S. A.; ZHU, J. Bioaugmentation: An emerging strategy of industrial wastewater treatment for reuse and discharge. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 13, n. 9, 2016.

ORTIZ, M. P. V. **Caracterização da comunidade fúngica do sedimento e da água do Rio Tietê**. 2015. São Paulo, 2015.

ORTIZ DE GARCÍA, S. A. et al. Ecotoxicity and environmental risk assessment of pharmaceuticals and personal care products in aquatic environments and wastewater treatment plants. **Ecotoxicology**, v. 23, n. 8, p. 1517–1533, 2014.

OULAS, A. et al. Metagenomics: Tools and Insights for Analyzing Next-Generation Sequencing Data Derived from Biodiversity Studies. **Bioinformatics and Biology Insights**. v. 9, p. 75–88, 2015.

PAGANINI, W. DA S. **A identidade de um rio de contrastes. O Tietê e seus múltiplos**

usos. 2da Edição ed. São Paulo: AESABESP, 2008.

PARKS, D. H.; BEIKO, R. G. Identifying biologically relevant differences between metagenomic communities. **Bioinformatics**, v. 26, n. 6, p. 715–721, 2010.

PLAZA, E.; TRELA, J.; HULTMAN, B. Impact of seeding with nitrifying bacteria on nitrification process efficiency. **Water Science and Technology**, v. 43, n. 1, p. 155–164, 2001.

PRABHAKARAN, P.; ASHRAF, M. A.; AQMA, W. S. Microbial stress response to heavy metals in the environment. **RSC Adv.**, v. 6, n. 111, p. 109862–109877, 2016.

RAJENDRAN, P.; MUTHUKRISHNAN, J.; GUNASEKARAN, P. Microbes in heavy metal remediation. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 41, n. 9, p. 935–944, 2003.

REDDY, B. et al. Insights into resistome and stress responses genes in *Bubalus bubalis* rumen through metagenomic analysis. **Molecular Biology Reports**, v. 41, n. 10, p. 6405–6417, 2014.

REN, L. et al. Warming and nutrient enrichment in combination increase stochasticity and beta diversity of bacterioplankton assemblages across freshwater mesocosms. **The ISME Journal**, p. 1–13, 2016.

RIBEIRO, M. **Despoluição do Tietê avança, mas num ritmo aquém do esperado.** Disponível em: <<https://noticias.uol.com.br/opiniao/coluna/2016/10/07/despoluicao-do-tiete-avanca-mas-num-ritmo-aquem-do-esperado.htm>>. Acesso em: 04 de Abril de 2017.

ROY, A. S. et al. Bioremediation potential of native hydrocarbon degrading bacterial strains in crude oil contaminated soil under microcosm study. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 94, p. 79–89, 2014.

SALLOTO, G. R. B. et al. Pollution Impacts on Bacterioplankton Diversity in a Tropical Urban Coastal Lagoon System. **PLoS ONE**, v. 7, n. 11, p. 1–12, 2012.

SAMAD, M. A. et al. Chemical Profile and Heavy Metal Concentration in Water and Freshwater Species of Rupsha River, Bangladesh. **American Journal of Environmental Protection**, v. 3, n. 6, p. 180–186, 2015.

SARDANS, J.; PEÑUELAS, J.; RIVAS-UBACH, A. Ecological metabolomics: overview of current developments and future challenges. **Chemoecology**, v. 21, n. 4, p. 191–225, 2011.

SAVIO, D. et al. Bacterial diversity along a 2600 km river continuum. **Environmental Microbiology**, v. 17, n. 12, p. 4994–5007, 2015.

SCHMEISSER, C.; STEELE, H.; STREIT, W. R. Metagenomics, biotechnology with non-culturable microbes. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 75, n. 5, p. 955–962, 2007.

SHELAK, R. et al. Transcription Factors, Smtbs, From Freshwater *Synechococcus* Sp. PCC 7942, And Marine *Synechococcus* Sp. PCC 7002: Evolutionary And Structural Aspects. **International Journal of Scientific & Technology Research**, v. 2, n. 12, p. 274–284, 2013.

SIMON, C.; DANIEL, R. Metagenomic analyses: Past and future trends. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 4, p. 1153–1161, 2011.

SINGH, B. K. Exploring microbial diversity for biotechnology: the way forward. **Trends in Biotechnology**, v. 28, n. 3, p. 111–116, 2010.

SINGH, J. et al. Metagenomics: Concept, methodology, ecological inference and recent advances. **Biotechnology Journal**, v. 4, n. 4, p. 480–494, 2009.

SINHA, R. K. et al. **Bioremediation of contaminated sites: a low-cost nature's biotechnology for environmental clean up by versatile microbes, plants & earthworms**. Em: TIMO, F; JOHANN, H (eds) *Soil waste management and environmental remediation*. Nova Sciences Publishers, Inc. New York, 2010.

SOS MATA ATLÂNTICA. **Mancha de poluição no Tietê recua 11,5%, mas se mantém acima dos níveis pré-crise hídrica**. Disponível em: <<https://www.sosma.org.br/105428/mancha-de-poluicao-tiete-recua-115-mas-se-mantem-acima-dos-niveis-pre-crise-hidrica/>>. Acesso em: 04 de Abril de 2017.

SPIEGELMAN, D.; WHISSELL, G.; GREER, C. W. A survey of the methods for the characterization of microbial consortia and communities. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 51, n. 5, p. 355–386, 2005.

STALEY, C. et al. Species sorting and seasonal dynamics primarily shape bacterial communities in the Upper Mississippi River. **Science of the Total Environment**, v. 505, p. 435–445, 2015a.

STALEY, C. et al. Frequencies of heavy metal resistance are associated with land cover type in the Upper Mississippi River. **Science of the Total Environment**, v. 511, p. 461–468,

2015b.

SUH, S.-S. et al. Seasonal Dynamics of Marine Microbial Community in the South Sea of Korea. **PloS one**, v. 10, n. 6, p. e0131633, 2015.

THOMAS, T.; GILBERT, J.; MEYER, F. Metagenomics - a guide from sampling to data analysis. **Microbial Informatics and Experimentation**, v. 2, n. 1, p. 3, 2012.

THUNG, D. T. et al. Mobster: accurate detection of mobile element insertions in next generation sequencing data. **Genome biology**, v. 15, n. 10, p. 488, 2014.

TSUNEDA, S. et al. Characterization of denitrifying polyphosphate-accumulating organisms in activated sludge based on nitrite reductase gene. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 99, n. 4, p. 403–407, 2005.

VAN ROSSUM, T. V. et al. Year-long metagenomic study of river microbiomes across land use and water quality. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. DEC, p. 1–15, 2015.

VÖRÖSMARTY, C. J. et al. Global threats to human water security and river biodiversity. **Nature**, v. 467, n. 7315, p. 555–561, 2010.

VUONO, D. C. et al. Disturbance and temporal partitioning of the activated sludge metacommunity. **The ISME journal**, p. 1–11, 2014.

WANG, F. et al. Isolation and characterization of novel cellulase genes from uncultured microorganisms in different environmental niches. **Microbiological Research**, v. 164, n. 6, p. 650–657, 2009.

WANG, S. et al. Heavy metal pollution in coastal areas of South China : A review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 76, n. 1–2, p. 7–15, 2013.

WHEATON, G. et al. The Confluence of Heavy Metal Biooxidation and Heavy Metal Resistance: Implications for Bioleaching by Extreme Thermoacidophiles. **Minerals**, v. 5, n. 3, p. 397–451, 2015.

WILKINS, D. et al. Key microbial drivers in Antarctic aquatic environments. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 37, n. 3, p. 303–335, 2013.

YERGEAU, E. et al. Metagenomic analysis of the bioremediation of diesel-contaminated canadian high arctic soils. **PLoS ONE**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2012.

ZEGLIN, L. H. Stream microbial diversity in response to environmental changes: Review and synthesis of existing research. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. MAY, p. 1–15, 2015.

ZHAO, J. et al. Diversity change of microbial communities responding to zinc and arsenic pollution in a river of northeastern China. **Journal Zhejiang University Science B**, v. 15, n. 7, p. 670–680, 2014.

ZINGER, L.; GOBET, A.; POMMIER, T. Two decades of describing the unseen majority of aquatic microbial diversity. **Molecular Ecology**, v. 21, n. 8, p. 1878–1896, 2012.

ZWART, G. et al. Typical freshwater bacteria: An analysis of available 16S rRNA gene sequences from plankton of lakes and rivers. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 28, n. 2, p. 141–155, 2002.