ANA CAROLINA DE OLIVEIRA GUSMÃO

Microbioma pelágico no Estreito de Gerlache (Península Antártica Ocidental) frente às mudanças climáticas globais.

São Paulo

2022

ANA CAROLINA DE OLIVEIRA GUSMÃO

Microbioma pelágico no Estreito de Gerlache (Península Antártica Ocidental) frente às mudanças climáticas globais.

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.

Orientador: Prof. Dra. Camila Negrão Signori

São Paulo

2022

Ana Carolina de Oliveira Gusmão. **Microbioma pelágico no Estreito de Gerlache (Península Antártica Ocidental) frente às mudanças climáticas.** 2022. Dissertação (Mestrado) apresentada ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências, Programa de Oceanografia, área de Oceanografia Biológica.

Aprovado em: ___/___/_____.

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição_____

Julgamento_____ Assinatura_____

Prof. Dr. _____ Instituição_____

Julgamento_____ Assinatura_____

Prof. Dr. _____ Instituição_____

Julgamento_____ Assinatura_____

AGRADECIMENTOS

Á Universidade de São Paulo e ao Instituto Oceanográfico pela oportunidade de realização do curso e estrutura disponível para realizar as análises.

À minha orientadora Profa. Dra. Camila Negrão Signori, que sempre esteve disponível para me ensinar e me apoiar, que acreditou no meu valor como cientista e me deu oportunidades para meu crescimento pessoal, científico e intelectual.

Ao projeto "Respostas do Ecossistema Pelágico às mudanças climáticas no Oceano Austral" (EcoPelagos) e ás operações do Programa Antártico Brasileiro (OPERANTAR) pela disponibilização das amostras e pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Eduardo Secchi, coordenador do projeto EcoPelagos e ao Grupo de Oceanografia de Altas Latitudes (GOAL) pela disponibilização dos dados físico-químicos.

Ás colegas de trabalho do Laboratório de Ecologia Microbiana (LECOM) Msc. Francielli Peres e Dra. Amanda Bendia, pela atenção, paciência, ensinamentos e apoio durante a realização desse trabalho. Ao laboratório de Oceanografia Microbiana (MicrOcean) por toda a ajuda com informações e companheirismo no café e nas risadas.

Ao meu noivo e melhor amigo Carlos Bercini, que esteve ao meu lado nos momento difíceis, que corrigiu meus textos, me ajudou durante diversas etapas da pesquisa e nunca me deixou desistir dos meus sonhos.

Aos meus pais, Vera e Márcio, que nunca mediram esforços para me auxiliar na permanência em São Paulo, e sempre me apoiaram à seguir o caminho científico. E aos meus pais de coração Juliana, Uwe, Lauro e Luciana que sempre estiveram com o coração aberto para me receber e vibrar pelas minhas conquistas.

Aos meus amigos Gabriela, Hadassa, Loreana, João, Diogo, Gabriel e Ewerton pela alegria nos momentos de descontração, pela amizade e convivência nesses anos em São Paulo. Vocês tornaram essa passagem mais divertida.

Á Kimera que é luz na minha vida e minha companheira durante toda a carreira acadêmica.

Á todos os outros que não foram citados e conheci nessa caminhada, que me ajudaram a crescer de alguma forma.

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

“O papel dos infinitamente pequenos na natureza é infinitamente grande”.

(PASTEUR, Louis)

RESUMO

GUSMÃO, Ana Carolina de Oliveira. **Microbioma pelágico no Estreito de Gerlache (Península Antártica Ocidental) frente às mudanças climáticas globais**. 2022. 107 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

As mudanças climáticas é um dos principais fatores ocasionando alterações ambientais na criosfera e nos oceanos devido ao aumento das emissões de gases de efeito estufa na atmosfera. O Estreito de Gerlache é uma área caracterizada por alta produtividade biológica, confinada topograficamente e localizada na Península Antártica Ocidental (PAO), uma das áreas mais sensíveis às mudanças climáticas no planeta. Entender a estrutura, composição e principais fatores ambientais de influência das comunidades microbianas na coluna d'água do Estreito de Gerlache é um passo fundamental para antecipar possíveis efeitos das mudanças climáticas na composição e funções ecológicas dos microrganismos dessa região. O principal objetivo desse estudo foi acessar o microbioma marinho de Archaea e Bacteria do Estreito de Gerlache, caracterizando a diversidade, composição taxonômica e estrutura de comunidades, e determinar os principais fatores ambientais de influência no contexto das mudanças climáticas. Foram coletadas amostras de águas do mar das zonas epipelágica e mesopelágica e dados abióticos (salinidade, temperatura, oxigênio dissolvido) e bióticos (fluorescência) em dez estações oceanográficas durante as primaveras e verões austrais de 2013, 2014 e 2015. Através de técnicas moleculares, o DNA das 38 amostras foi extraído, a região V4 do gene 16S RNAr foi amplificada e sequenciada pela plataforma Illumina. As sequências foram analisadas através de ferramentas de Bioinformática. Nossos resultados mostraram a presença de 1279 ASVs, com dominância de Bacteria e revelaram que as comunidades microbianas são estruturadas pela sazonalidade e zonas pelágicas associadas às diferentes massas d'água. Amostras de águas profundas se mostraram mais diversas e ricas do que de superfície, inclusive para grupos raros. Em águas superficiais, o período de primavera teve maior riqueza de microrganismos do que o verão. A primavera apresentou uma mistura de táxons e metabolismos das duas zonas pelágicas encontradas no verão, mostrando importância na dinâmica sazonal das comunidades microbianas. O microbioma central foi composto por 19 ASVs de Bacteria, com composição similar à de outras regiões próximas na PAO. As famílias mais abundantes de bactérias foram Flavobacteriaceae, Cyanobacteria, Rhodobacteraceae, Thioglobaceae e Nitrincolaceae, enquanto que os táxons mais abundantes de arqueias foram Nitrosopumilaceae e Marine Group II da classe Thermoplasmata. As comunidades microbianas do Estreito de Gerlache demonstraram importância para os ciclos do carbono, nitrogênio e enxofre. Os principais parâmetros ambientais que influenciaram significativamente a riqueza das comunidades foram o nitrito e a salinidade, e para a diversidade, foram a temperatura e a salinidade. Outros parâmetros como nitrato, fosfato, silicato, amônia e fluorescência demonstraram importância secundária para a estrutura microbiana. As alterações nos parâmetros ambientais relacionadas às mudanças climáticas, como aumento de temperatura e alterações na salinidade apresentam uma alta possibilidade de afetar a composição, diversidade, riqueza e dinâmica sazonal das comunidades microbianas do Estreito de Gerlache, bem como os ciclos biogeoquímicos dos quais essas comunidades participam.

Palavras-chave: Diversidade. Comunidades Microbianas. Coluna d'água. Oceano Austral

ABSTRACT

GUSMÃO, Ana Carolina de Oliveira. **Pelagic microbiome in the Gerlache Strait (Western Antarctic Peninsula) in the context of global climate change.** 2022. 107 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

Climate change is one of the most profund disturbances affecting the cryosphere and ocean systems due the consequences of increase greenhouse gases in the atmosphere. The Gerlache Strait is an area characterized by high biological productive, topographically confined area and localized in Western Antarctic Peninsula (WAP), one of the most sensitive areas to climate change in the planet. Understanding the structure, composition and environmental drivers in the microbial communities in the water column of Gerlache Strait is required to provide antecipate insights of climate change effects in the composition and ecological functions of these microbial communities in these region. The main goal of our study was to assess the marine microbiome of Archea and Bacteria of Gerlache Strait, characterizing the diversity, taxonomic composition, structure and environmental drivers in the context of global climate change. We collected seawater samples from epipelagic and mesopleagic zones and physical data (salinity, temperature, nutrients, oxygen dissolved) and biological data (fluorescence) at ten oceanographic stations during spring and austral summer of 2013, 2014 and 2015. Using molecular techniques, we extracted the DNA from 38 samples, the V4 region of 16S rRNA gene was amplified and sequenced by Illumina platform. The sequences were analyzed by Bioinformatic tools. Our results reveal the presence of 1279 ASVs with Bacteria dominance, and the results also reveal that microbial communities are structured by seasonality and pelagic zones associated with different water masses. Deeper waters presented more diversity and richness than surface, including rares groups. In surface waters, the spring season was richer than summer. The spring season presented a mix of taxa and metabolisms of two water column layers of summer, showing an importance for interannual dynamic of microbial communities. The core microbiome was composed by 19 ASVs of Bacteria, with similar composition of other close regions in the WAP. The most abundant bacterial families are Flavobacteriaceae, Cyanobacteria, Rhodobacteraceae, Thioglobaceae e Nitrincolaceae, where as the most abundant archeal taxa are Nitrosopumilaceae e Marine Group II from Thermoplasmata class. The microbial communities of Gerlache Strait have been shown to play an important role in carbon, nitrogen and sulfur cycles. The main environmental drivers with a significant influence on microbial richness is nitrite and salinity, and for diversity is temperature and salinity. Other environmental parameters such as nitrate, phosphate, silicate, ammonia and fluorescence showed secondary significance for microbial structure. The changes in environmental parameters related to climate change, such as the increase of temperature and disturbance of salinity, presented a high possibility to affect the composition, diversity, richness and interannual dynamic of microbial communities in Gerlache Strait and the biogeochemical cycles that these microrganisms are part of.

Keywords: Diversity. Water Column. Microbial Communities. Southern Ocean.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Principais áreas geográficas no continente antártico e Oceano Austral. A linha tracejada representa a Convergência Antártica (ou Frente Polar), Áreas pontilhadas representam plataformas de gelo e os tons de azul representam a batimetria. Adaptado e traduzido de Convey e Peck (2019). 21
Figura 2: Península Antártica e principais áreas geográficas. Traduzido de Griffth et al (1989). 23
Figura 3: Estrutura do ecossistema pelágico marinho e atuação microbiana. A matéria orgânica está dividida em matéria orgânica particulada (MOP) e matéria orgânica dissolvida (MOD). DMS, dimeltilsulfeto. Adaptado e traduzido de Azam e Malfatti (2007). 24
Figura 4: Temperatura na superfície global nos últimos 170 anos. Comapração entre a linha preta que representa a média anual observada e modelos de simulação climática da fase 6 do Projeto de Intercomparação de Modelos Acoplados (CMIP6), onde a linha marrom representa respostas da temperatura para fatores ambientais e naturais e a linha verde representa apenas fatores naturais (atividade vulcânica e solar). Linhas sólidas mostram a média e sombras coloridas mostram o intervalo de probabilidade das simulações. Traduzido de IPCC, 2022. . 29
Figura 5: Comparação das características entre (A) atual ecossistema oceânico e (B) oceano do futuro modificado por consequências das mudanças climáticas. COD, carbono orgânico dissolvido. Traduzido de Abirami et al (2021). 30
Figura 6: Plataforma de Gelo Antártica (linhas sólidas) em diferentes locais do continente entre 1990 e os dias atuais. As alterações acumulativas são determinadas pela integral das médias mensais, sendo a incerteza delimitada pela área sombreada. As linhas pontilhadas representam avaliações anteriores. Traduzido de Sheperd et al (2018). 31
Figura 7: Batimetria do Estreito de Gerlache, onde a linha tracejada vermelha representa a isóbata de 300 m e a linha tracejada branca representa a isóbata de 500 m. No canto inferior direito está a localização da Península Antártica no continente antártico. 38
Figura 8: Circulação simplificada do Estreito de Gerlache. Setas vermelhas representam a intrusão de CDW, setas amarelas representam a Corrente de Gerlache e a seta verde representa a variação sazonal da corrente de Gerlache. Informações retiradas de Smith et al (1999), Garcia et al (2002), Zhou, Niller e Hu (2002) e Couto et al (2017). 40
Figura 9: Estreito de Gerlache com a localização das 10 estações de coleta em vermelho. Em amarelo, a divisão do estreito em áreas norte e sul. Em azul, a localização do Estreito de

Bismarck, Canal Schollaert, Mar de Bellingshausen e Estreito de Bransfield. Em preto, o nome das principais áreas terrestres. Á direita, o gradiente de cores representa as profundidades da coluna d'água. 43
Figura 10: Coleta de água no Estreito de Gerlache através do sistema CTD-Rossete acoplado á garrafas Niskin durante a expedição OPERANTAR XXXIII que ocorreu em 2015. 43
Figura 11: Boxplot da média das temperaturas (ºC) na coluna d'água entre os anos de 2014 e 2015. As cores representam as duas categorias de profundidade: rosa é superfície (< 100 m) e azul é fundo (> 100 m). 47
Figura 12: Boxplot da média das salinidades (psu) na coluna d'água entre os anos de 2014 e 2015. As cores representam as duas categorias de profundidade: rosa é superfície (< 100 m) e azul é fundo (> 100 m). Os pontos pretos representam os *outliers*. 48
Figura 13: Boxplot da média do oxigênio dissolvido (mL/L) na coluna d'água entre os anos de 2014 e 2015. As cores representam as duas categorias de profundidade: rosa é superfície (< 100 m) e azul é fundo (> 100 m). 49
Figura 14: Boxplot da média das temperaturas superficiais (ºC) entre os anos de 2013, 2014 e 2015. As cores representam a sazonalidade: verde é primavera e laranja é verão. 50
Figura 15: Boxplot da média da salinidade (psu) da camada superficial entre os anos de 2013, 2014 e 2015. As cores representam a sazonalidade: verde é primavera e laranja é verão. O ponto preto representa um *outlier*. 50
Figura 16: Boxplot da média do oxigênio dissolvido (mL/L) da camada superficial entre os anos de 2013, 2014 e 2015. As cores representam a sazonalidade: verde é primavera e laranja é verão. 51
Figura 17: Distribuição das amostras de acordo com medidas in situ de temperatura (ºC), salinidade (psu) e oxigênio dissolvido (mL/L). Cada símbolo representa uma estação de amostragem, sendo que cada formato indica a sazonalidade (quadrado = primavera, círculo = verão). O gradiente de cores representa os valores de oxigênio dissolvido (mL/L), sendo que a cor preta é referente as amostras que não possuem dados de OD. A reta tracejada vermelha representa a divisão das amostras em relação à profundidade da coluna d'água, onde as amostras acima da reta são profundas (> 100 m) e as amostras abaixo da reta são de superfície (< 100 m). As linhas pretas ponto-tracejadas representam as massas d'água: Água Superficial Antártica (AASW), Água de Inverno (WW), Água Circumpolar Profunda Modificada (mCDW) e Águas em Zona de Transição com Influência do Mar de Weddell (TWW). 52
Figura 18: Correlação entre nutrientes inorgânicos e outros fatores físico-químicos de amostras de superfície (< 100 m) (A) e fundo (> 100 m) (B) em 2014. Cada círculo representa

a correlação das variáveis encontradas nos eixos. O gradiente de cores e o tamanho dos círculos representam a correlação, sendo azul positiva e vermelho negativa. O X representa correlaçoes estatisticamente não significativas (p-valor > 0,05). 53
Figura 19: Índice de riqueza de ACE por amostra na região do Estreito de Gerlache..... 58
Figura 20: Índices de diversidade de Shannon (A) e Simpson (B) por amostra na região do Estreito de Gerlache..... 59
Figura 21: Índices de riquezas (ASVs Observadas, Chao1 e ACE) nas amostras agrupadas por zona pelágica (rosa = epipelágica, azul = meso/batipelágica) e estação sazonal (verde = primavera, laranja = verão) na região do Estreito de Gerlache. 60
Figura 22: Índices de diversidade (Shannon e Simpson) nas amostras agrupadas por zona pelágica (rosa = epipelágica, azul = meso/batipelágica) e sazonalidade (verde = primavera, laranja = verão) na região do Estreito de Gerlache. 60
Figura 23: Índice de riqueza (ASVs Observadas, Chao1 e ACE) entre as amostras de superfície agrupadas por sazonalidade (primavera x verão). 61
Figura 24: Índice de diversidade (Shannon e Simpson) entre as amostras de superfície agrupadas por sazonalidade (primavera x verão). 61
Figura 25: Dendograma gerado através do índice de Unifrac Weighted e clusterizaçãodas amostras microbianas pelo método UPGMA. Azul = Amostras profundas (> 100 m), Rosa = Superfície (< 100 m). 63
Figura 26: Dendograma gerado através do índice de Unifrac Weighted e clusterização das amostras microbianas pelo método UPGMA. Verde = Primavera 2013 e 2014; Sem marcação = Verão 2014 e 2015. 63
Figura 27: Escalonamento multidimensional não-métrico (NMDS) da beta-diversidade das amostras, calculada pela distância de Bray-Curtis. Círculos rosas representam amostras coletadas em superfície (< 100 m) e círculos azuis representam amostras coletadas em águas profundas (> 100 m). Cada seta representa um gradiente ambiental correlacionado á ordenação. A seta aponta para a direção do gradiente no ambiente e seu tamanho é proporcional à correlação entre ordenação e variável ambiental. 64
Figura 28: Análises de regressão linear entre os índices de alfa-diversidade (ASVs Observadas, ACE, Chao1, Simpson e Shannon) com temperatura (°C) (A1-A5) e nitrito (µM/L) (B1-B5). As informações estatísticas podem ser encontradas no canto inferior esquerdo. 66

Figura 29: Análise de regressão entre salinidade (psu) e índices de alfa-diversidade ASVs Observadas (A), ACE (B), Chao1 (C), Shannon (D) e Simpson (E), com as informações estatísticas no canto inferior direito. 67
Quadro 1: Microbioma central: táxons compartilhados entre todas as amostras do Estreito de Gerlache e classificação taxonômica em nível de gênero 68
Figura 30: Diagrama de Venn com ASVs exclusivas e compartilhadas entre zonas pelágicas: águas superficiais ou epipelágica (EPI) e águas profundas ou meso/batipelágicas (BAT). 71
Figura 31: Diagrama de Venn com ASVs exclusivas e compartilhadas entre amostras mais superficiais de acordo com a sazonalidade: verão (VER) e primavera (PR). 72
Figura 32: Diagrama de Venn com ASVs exclusivas e compartilhadas entre categorias de temperatura: Acima de 0°C (AZ) e Abaixo de 0°C (BZ). 72
Figura 33: Abundância relativa (%) dos táxons em nível de família de todas as amostras agrupadas por zonas pelágicas (epipelágica e meso/batipelágica) e sazonalidade (primavera e verão). 75
Figura 34: Abundância relativa (%) dos táxons em nível de família das amostras de superfície (> 100 m) no período de primavera, agrupadas pelos anos de coleta (2013 e 2014). 76
Figura 35: Predição de metabolismos microbianos de todas as amostras do Estreito de Gerlache agrupadas por zona pelágica (epipelágica e meso/batipelágica) e sazonalidade (primavera e verão). 78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Informações das estações de amostragem. 44

Tabela 2: Valores de nutrientes (amônia NH_3, nitrito NO_2^-, nitrato NO_3^-, fosfato PO_4^{3-} e silicato SiO_2) da água do mar. As amostras com asterisco (*) representam as amostras das zonas meso- e batipelágicas (> 100 m). 54

Tabela 3: Valores de clorofila A (mg/m^{-3}) na superfície (< 100m) dos anos 2014 e 2015. 56

Tabela 4: Valores de SAM para os anos de 2013, 2014 e 2015. Em azul e negrito são destacados os valores dos meses abordados nesse estudo. Dados disponíveis em : *https://legacy.bas.ac.uk/met/gjma/sam.html* 57

Tabela 5: Valores de ENSO para os anos de 2013, 2014 e 2015. Em azul e negrito, são destacados os valores dos meses abordados nesse estudo. 57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACC	Corrente Circumpolar Antártica
PAO	Península Antártica Ocidental
ENSO	Oscilação Sul do El Niño
SAM	Modo Anular Sul ou Oscilação Antártica
MOD	Matéria Orgânica Dissolvida
OD	Oxigênio Dissolvido
IPCC	*Intergovernamental Panel of Climate Change*
TSM	Temperatura Superficial do Mar
CDW	Água Profunda Circumpolar
mCDW	Água Profunda Circumpolar Modificada
NGS	Sequenciamento de Nova Geração
ASV	*Amplicon Sequence Variant*
OTU	Unidades Taxonômicas Operacionais
QIIME	*Quantitative Insights Into Microbial Ecology*
FAPROTAX	Ferramenta de anotação funcional de táxons procarióticos
Lat.	Latitude
Long.	Longitude
AASW	Água Superficial Antártica
WW	Água de Inverno
UCDW	Água Circumpolar Profunda Superior
HSSW	Água de Alta Salinidade da Plataforma
OPERANTAR	Operação Antártica Brasileira
PCR	Reação em cadeia da polimerase
TWW	Água de Transição com Influência de Weddell
nMDS	Escalonamento multidimensional não-métrico
DMS	dimetilsulfeto

LISTA DE SÍMBOLOS

km	quilômetros
m	metros
°C	graus Celsius
UV	ultravioleta
%	porcentagem
CO^2	dióxido de carbono
cm	centímetros
θ	temperatura
>	maior que
<	menor que
µm	micrômetro
ng	nanograma
mL	mililitro
L	litro
p	p-valor
µM	micromolar
$\bar{x}$	média
r^2	R quadrado (coeficiente de correlação)
$mg.m^{-3}$	miligrama por metro cúbico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO **17**

2 OBJETIVO GERAL **19**

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 19

3 REVISÃO DA LITERATURA **20**

3.1 OCEANO AUSTRAL E ANTÁRTICA 20

3.1.1 Península Antártica Ocidental *21*

3.2 MICROBIOLOGIA MARINHA POLAR 23

3.2.1 Parâmetros ambientais e a ecologia microbiana pelágica antártica *25*

3.2.2 Comunidades microbianas marinhas da Península Antártica Ocidental (PAO) *27*

3.3 MUDANÇAS CLIMÁTICAS NO OCEANO E CRIOSFERA 28

3.3.1 Mudanças climáticas na Península Antártica *31*

3.3.2 Microrganismos e mudanças climáticas *32*

3.4 METODOLOGIA DE CARACTERIZAÇÃO DE COMUNIDADES MICROBIANAS 34

3.4.1 Amplificação do gene de interesse 16S RNAr *34*

3.4.2 Análises de riqueza e diversidade (alfa, beta e gama) *35*

3.4.3 Microbioma e predição metabólica *36*

4 MATERIAIS E MÉTODOS **38**

4.1 ÁREA DE ESTUDO 38

4.1.1 Características gerais *38*

4.1.2 Circulação e correntes *39*

4.1.3 Hidrografia da coluna d'água *40*

4.2 AMOSTRAGEM 42

4.3 ANÁLISES MICROBIANAS MOLECULARES 44

4.3.1 Extração de DNA *44*

4.3.2 Amplificação e sequenciamento do gene 16S RNAr *45*

4.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS E BIOINFORMÁTICA 45

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO **47**

5.1 PARÂMETROS AMBIENTAIS DA COLUNA D'ÁGUA NOS PONTOS DE AMOSTRAGEM 47

5.1.1 Temperatura, salinidade e oxigênio dissolvido com a profundidade e sazonalidade *47*
5.1.2 Nutrientes inorgânicos *52*
5.1.3 Fluorescência *55*
5.1.4 El Niño e Oscilação Antártica *56*
5.2 RIQUEZA E DIVERSIDADE DAS COMUNIDADES MICROBIANAS 57
5.2.1 Alfa-diversidade *57*
5.2.2 Beta-diversidade e correlação das comunidades microbianas com parâmetros ambientais *62*
5.3 COMPOSIÇÃO DAS COMUNIDADES MICROBIANAS NO ESTREITO DE GERLACHE 67
5.3.1 Microbioma Central *67*
5.3.2 Táxons mais abundantes em nível de Família *72*
5.3.3 Inferência metabólica microbiana *76*
5.4 MUDANÇAS CLIMÁTICAS E ALTERAÇÕES NAS COMUNIDADES MICROBIANAS NO ESTREITO DE GERLACHE 78
6 CONCLUSÕES **82**
6.1 RECOMENDAÇÕES FUTURAS 83
REFERÊNCIAS **84**
APÊNDICE A – AMOSTRAS E DADOS OBTIDOS OU DISPONIBILIZADOS **100**
APÊNDICE B – ASVS DE EUCARIOTOS **101**
APÊNDICE C – ÍNDICES RIQUEZA E DIVERSIDADE GERAL **103**
APÊNDICE D – TESTE ADONIS **104**
APÊNDICE E – TESTE ADONIS NMDS **105**
APÊNDICE F – REGRESSÃO (CLORIFLA, AMÔNIA E NITRATO) **106**
APÊNDICE G – REGRESSÃO (SILICATO E FOSFATO) **107**

1 INTRODUÇÃO

Uma grande diversidade morfológica, genética e funcional de microrganismos pode ser encontrada nos oceanos (Verde et al, 2016). Esses microrganismos marinhos possuem um papel fundamental na ciclagem de elementos e podem atuar como base da teia trófica (Cavicchioli, 2015;Verde et al, 2016; Gasol e Kirchman, 2018). Em ambientes polares, como no Oceano Austral, os microrganismos desempenham um papel essencial na transferência de energia e na ciclagem de elementos, principalmente no sequestro de carbono inorgânico (CO^2), sendo que, em algumas regiões, a cadeia alimentar e os ciclos biogeoquímicos são integralmente formados por comunidades microbianas (Hanson e Lowery, 1986, Vincent, 1988, Cavicchioli, 2015). Estudos filogenéticos sugerem que a diversidade microbiana em ambientes polares é maior do que se imaginava, sendo a maioria dos microrganismos não-cultiváveis (Miller e Whyte, 2012). O desenvolvimento de métodos moleculares independentes de cultivo revolucionaram a Ecologia Microbiana, permitindo entender a diversidade dessas comunidades de microrganismos (Sharp et al, 2014, Verde et al, 2016).

A composição de comunidades microbianas é influenciada por diferentes parâmetros bióticos e abióticos (Fuhrman et al, 2015). Entender a biodiversidade, os parâmetros que influenciam a distribuição das comunidades microbianas, suas funções ecológicas, aliado a uma amostragem sazonal frequente é essencial para compreender o comportamento dessas comunidades frente às perturbações decorrentes das mudanças climáticas (Pearce, 2008; Bunse e Pinhassi, 2017; Signori et al, 2018). Um dos principais distúrbios aos parâmetros ambientais na criosfera e nos habitats marinhos são as mudanças ocasionadas por mudanças climáticas (IPCC, 2019). Nos oceanos polares, as principais alterações são relacionadas à temperatura com o aquecimento anormal da superfície do mar, ao aumento de eventos climáticos extremos, às alterações na salinidade e estratificação da coluna d'água com o aumento de água doce no sistema através do recuo e derretimento de geleiras e diminuição e afinamento das camadas de gelo sazonais, às alterações no pH e consequente acidificação e à diminuição do oxigênio dissolvido disponível nas águas (IPCC, 2019; IPCC, 2022).

Entre o arquipélago Palmer e a área noroeste da Península Antártica está localizado o Estreito de Gerlache, uma região considerada altamente produtiva devido às recorrentes florações (*blooms*) de fitoplâncton e elevada biomassa de krill, sendo portanto, de importância para grandes cetáceos e outros predadores de krill em níveis tróficos superiores (Griffith e Anderson, 1989; Isla et al, 2002; Zhou, Niiler and Hu, 2002). A região ocidental da Península

Antártica, onde está localizado o estreito, é uma das regiões no mudno que apresentam as maiores taxas de aquecimento nas últimas décadas (Vaughan et al., 2003, Meredith et al, 2005, Turner et al, 2014; Hendry et al, 2018; Chown et al, 2022), com alterações na dinâmica de gelo marinho, recuo e derretimento de geleiras, estratificação da coluna d'água, alterações de salinidade e aquecimento de águas profundas (Meredith et al, 2005; Stammerjohn et al, 2008; Cook et al., 2016; Brown et al, 2019; Chown et al, 2022).

Alguns estudos de identificação de comunidades microbianas pelágicas já incluíram amostras do Estreito de Gerlache (Kelley et al, 1995; Massana et al, 1998; Karl et al, 1999; Signori et al, 2018), contudo, uma caracterização mais detalhada, atualizada e específica das comunidades microbianas pelágicas dessa região, bem como a identificação dos principais fatores ambientais no contexto atual de mudanças climáticas que influenciam a composição dessas comunidades ainda é uma lacuna de conhecimento a ser abordada.

Desta forma, este trabalho desenvolvido no âmbito do Projeto "Respostas do ecossistema pelágico às mudanças climáticas no Oceano Austral" (EcoPelagos) coordenado pelo Prof. Dr. Eduardo Secchi (Universidade Federal do Rio Grande - FURG), em parceria com outros pesquisadores do Grupo de Oceanografia de Altas Latitudes (GOAL), do *Woods Hole Oceanographic Institution* (WHOI, Estados Unidos) e do laboratório de Oceanografia Microbiana (MicrOcean Lab) do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (IO-USP), e apoiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior do Brasil (CAPES) e pelo Programa Antártico Brasileiro (PROANTAR) apresentou os objetivos a seguir.

2 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho foi investigar a composição, diversidade e estrutura das comunidades microbianas pelágicas na região do Estreito de Gerlache (Península Antártica Ocidental) e determinar os principais fatores ambientais que as influenciam no contexto das mudanças climáticas.

2.1 Objetivos específicos

- Definir a composição taxonômica, microbioma central e diversidades -alfa, -beta e -gama das comunidades pelágicas;
- Determinar as variações das comunidades na coluna d'água de acordo com a espacialidade (superfície x fundo), (norte x sul) e temporalidade (primavera x verão);
- Inferir o potencial metabólico e possíveis processos ecológicos das comunidades microbianas;
- Determinar os parâmetros ambientais que podem influenciar na estrutura e composição dessas comunidades;
- Correlacionar os fatores abióticos no contexto das mudanças climáticas com variações das comunidades microbianas;

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Oceano Austral e Antártica

A Antártica é o continente mais seco e gelado do mundo, com uma área aproximada de 14 milhões de km^2 (Miller e Whyte, 2012). Localizado quase centrado ao pólo sul do eixo terrestre, tem importância geopolítica, científica e climática (Benninghoff, 1987). A Antártica é isolada de outras massas de terra pelo Oceano Austral que a circunda e suas fortes correntes marítimas (Benninghoff, 1987). O ecossistema antártico se estende até a Convergência Antártica, área oceânica entre as latitudes 50°S e 60°S (FIGURA 1) marcada por diferenças abruptas de temperatura (oceânica e atmosférica) e biota (Benninghoff, 1987; Cavicchioli, 2015). Durante o inverno, parte do Oceano Austral congela (FIGURA 1) cobrindo uma área de 20 x 10^6 km^2 ao redor do continente antártico com gelo marinho (Verde et al, 2016).

O Oceano Austral exerce grande influência na regulação do clima global, nos ciclos biogeoquímicos e na circulação oceânica (Wilkins et al, 2012; Cavicchioli, 2015; Sallée, 2018; Henley et al, 2020). Com profundidade média de 4000 m (Benninghoff, 1987), essa bacia oceânica é o ponto de encontro das massas d'água provenientes do Atlântico, Pacífico e Índico, onde se misturam para compor a Corrente Circumpolar Antártica (ACC), criando uma conexão entre as maiores bacias oceânicas do mundo (Sallée, 2018; Shadwick et al, 2021). Atua no fluxo do carbono antropogênico (Frölicher et al, 2015; Landschützer et al, 2015) e absorção de calor, controlando a temperatura de águas profundas (IPCC, 2022).

Devido à falta de barreiras continentais, a ACC flui de maneira energética em volta do continente, sendo responsável por isolar termicamente a Antártica (Sallée, 2018; Rogers et al, 2020). A ACC é essencial para a circulação termohalina que transporta nutrientes, calor e gases dissolvidos para outras partes do globo e conecta massas de água verticalmente (superfície e fundo) (Wilkins et al, 2012; Cavicchioli, 2015; Sallée, 2018; Henley et al, 2020).

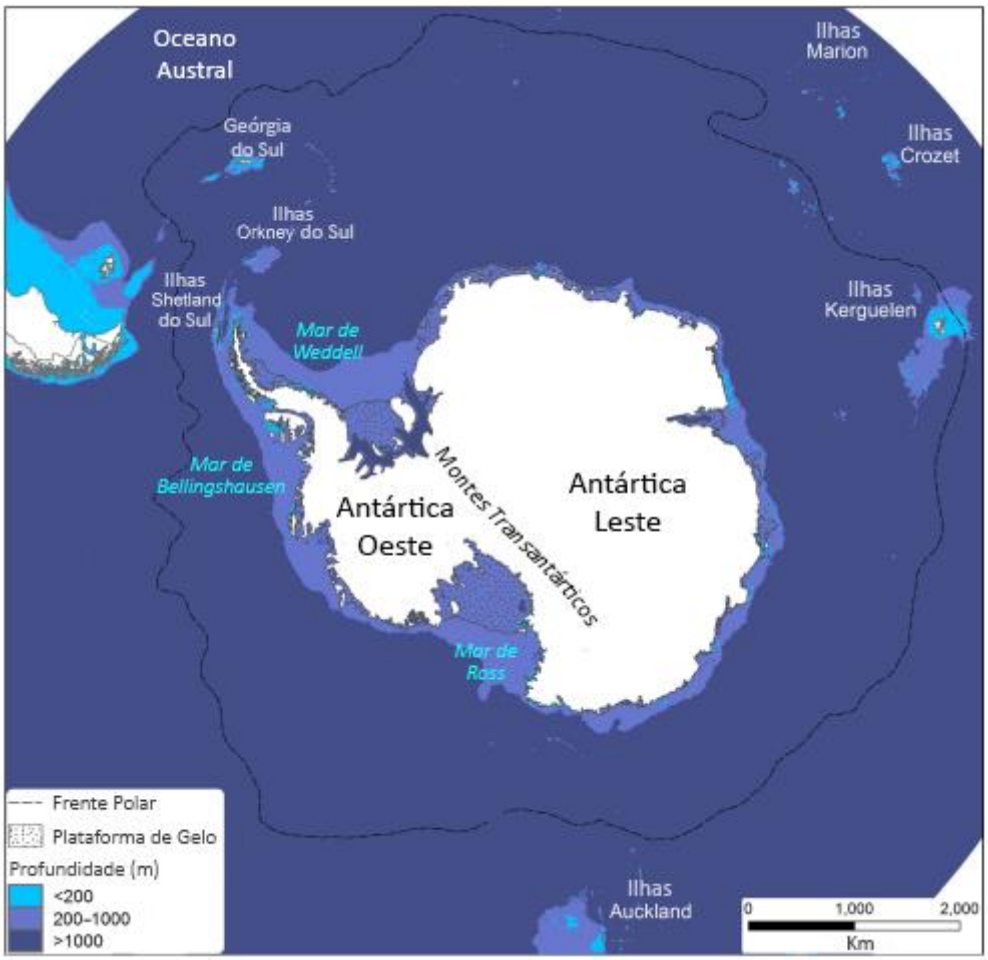


Figura 1: Principais áreas geográficas no continente antártico e Oceano Austral. A linha tracejada representa a Convergência Antártica (ou Frente Polar), Áreas pontilhadas representam plataformas de gelo e os tons de azul representam a batimetria. Adaptado e traduzido de Convey e Peck (2019).

3.1.1 Península Antártica Ocidental

A Península Antártica (FIGURA 2) está localizada na região oeste do continente antártico entre 150°E e 60°W (Campbell e Claridge, 1987). Sua região ocidental se estende da extremidade norte da península até a Ilha Alexander, uma área com cerca de 22.000 km^2 (Hofmann et al, 1996), com uma plataforma continental de 200 km de largura e profundidade média de 430 m (Shadwick et al, 2021). Seu ecossistema marinho se estende do Mar de Bellingshausen até a costa majoritariamente glacial (Ducklow et al, 2007). Suas sub-regiões se diferem na geometria, hidrografia e padrão de circulação (Hofmann et al, 1996).

A Península Antártica Ocidental (PAO) passa por alterações ambientais toda primavera associada à sazonalidade com diferença na disponibilidade de luz solar e na dinâmica de gelo marinho, resultando em intensas florações de fitoplâncton que são suporte para uma teia trófica altamente produtiva (Venables et al, 2013). A temporada de alta

produtividade é curta e ocorre durante a primavera e verão austrais (Li et al, 2014). Em anos com uma ampla extensão da camada de gelo, o derretimento que ocorre na primavera gera alta estabilidade na coluna d'água e retém o fitoplâncton na camada superficial, onde há maior intensidade luminosa (Schofield, et al 2018). Em anos com temporada de gelo curta ou com extesão reduzida, caracterizada por fortes ventos e camada de mistura profunda, o fitoplâncton recebe menos luz e, portanto, a produtividade primária é reduzida (Schofield et al, 2018). Além disso, essa região tem experenciado alterações na atmosfera, criosfera e oceano decorrentes de mudanças climáticas (Stammerjohn et al, 2008).

A região da PAO possui clima marítimo e temperaturas mais amenas em relação ao restante do continente (Miller e Whyte, 2012), com sua variabilidade climática sendo muito influenciada por padrões climáticos como Oscilação Sul do El Niño (ENSO) e o Modo Anular Sul (SAM) ou Oscilação Antártica (Stammerjohn et al., 2008). Essa variabilidade significativa do ambiente associada aos processos climáticos exerce impacto na biogeoquímica e no ecossistema regional, tornando a PAO uma região modelo para estudos de impactos climáticos em sistemas marinhos polares (Henley et al, 2019).

As fases negativas de SAM no inverno e primavera geram condições favoráveis à ocorrência de *blooms* na PAO, com aumento da extensão do gelo marinho no inverno e formação de intensa estratificação da coluna d'água no período de primavera/verão, quando o gelo derrete (Saba et al, 2014).

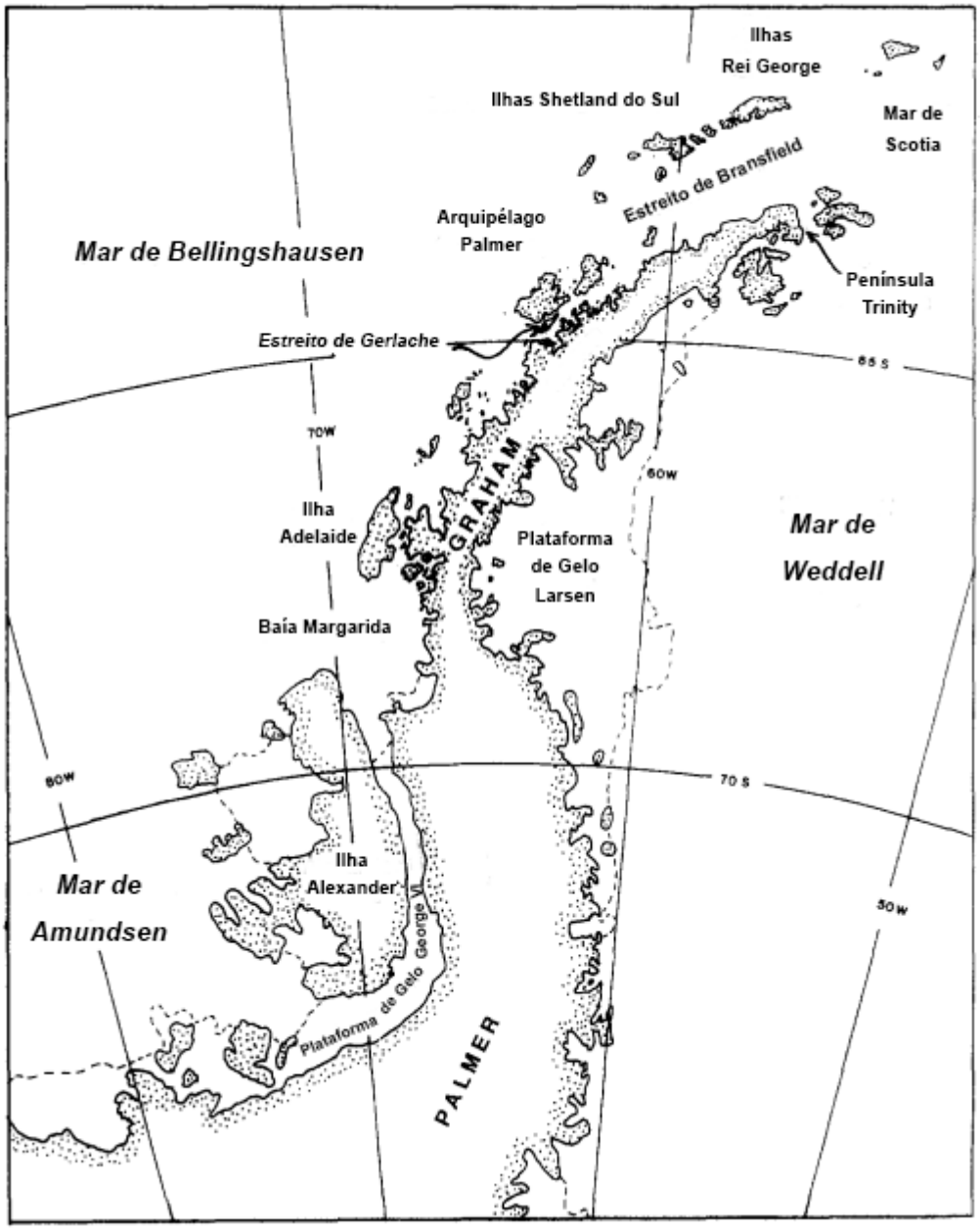


Figura 2**:** Península Antártica e principais áreas geográficas. Traduzido de Griffth et al (1989).

3.2 Microbiologia marinha polar

Microrganismos marinhos são essenciais no funcionamento dos oceanos, dominam em biomassa (Azam e Malfatti, 2007) e atuam nos ciclos biogeoquímicos globais de elementos como carbono, nitrogênio, fósforo, enxofre e ferro (Falkowski et al, 2008; Fuhrman et al, 2015). Bactérias e arqueias controlam o fluxo de carbono nos oceanos através do acesso quase exclusivo à matéria orgânica dissolvida (MOD) gerada pelo fitoplâncton (Azam et al, 1983; Azam e Malfatti, 2007) e através da alça microbiana (Figura 3), com a remineralização do carbono orgânico e nutrientes (Azam e Malfatti, 2007; Fuhrman et al, 2015).

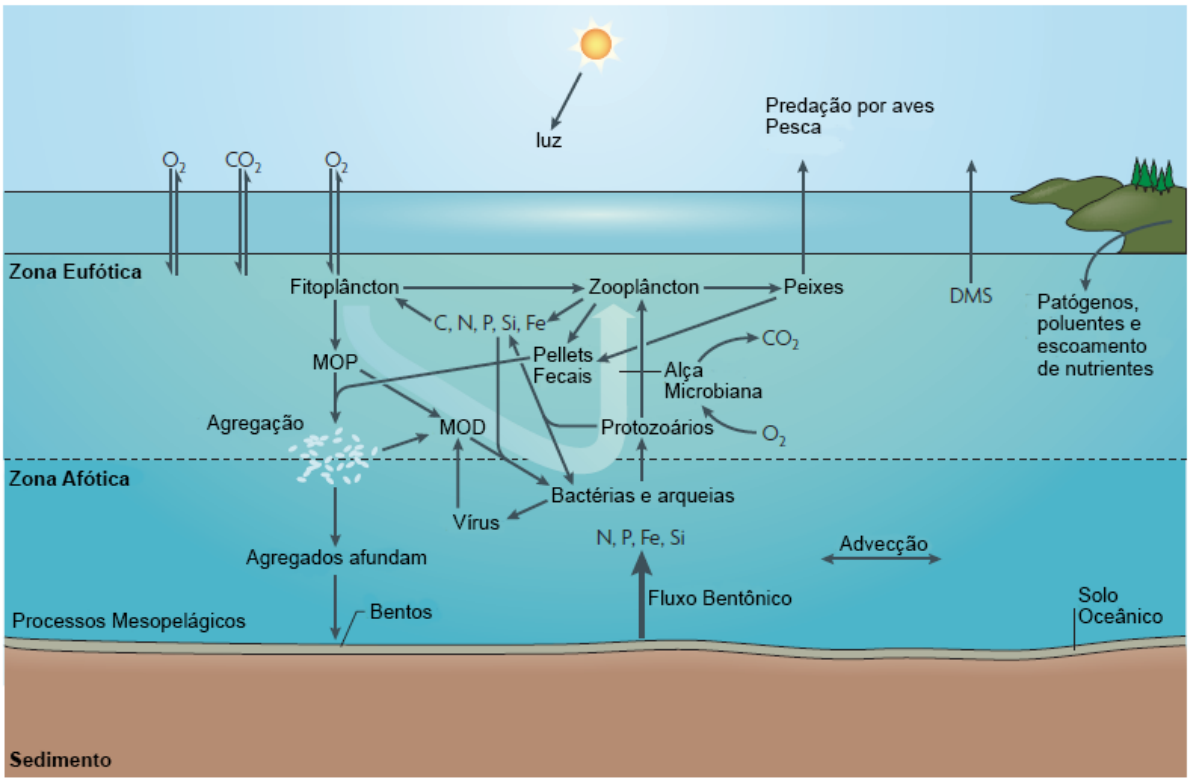


Figura 3: Estrutura do ecossistema pelágico marinho e atuação microbiana. A matéria orgânica está dividida em matéria orgânica particulada (MOP) e matéria orgânica dissolvida (MOD). DMS, dimeltilsulfeto. Adaptado e traduzido de Azam e Malfatti (2007).

A criosfera representa uma grande parte da biosfera que é congelada periodicamente ou de maneira permanente (Miller e Whyte, 2012; Wilkins et al, 2012). Cerca de 85% da biosfera do planeta Terra está abaixo de 5°C, composta por regiões polares, áreas de mar profundo e geleiras (Margesin e Miteva, 2011) criando diversos habitats frios com microrganismos adaptados para baixas temperaturas (psicrófilos) (Miller e Whyte, 2012; Verde et al, 2016). Assim como em outros ambientes naturais no planeta, os microrganismos dominam as taxas de biomassa e diversidade genética em ambients polares, sendo essenciais no funcionamento ecossistêmico (Wilkins et al, 2012).

Classifica-se um microrganismo como psicrófilo quando a temperatura óptima de crescimento está abaixo de 15 °C (Delille, 1992). As baixas temperaturas criam diversos desafios fisiológicos e bioquímicos para esse micróbios, como redução de atividade enzimática, desnaturação de proteínas e diminuição na eficiência do transporte e na fluidez da membrana celular (Margesin and Miteva, 2011; Miller e Whyte, 2012; Wilkins et al, 2012). Outras características de ambientes polares, como grande variação sazonal, formação de gelo marinho, ventos fortes, alta incidência de radiação UV e alta salinidade, que pode ocorrer

devido ao processo de formação de gelo, também se tornam desafios para esses microrganismos (Miller e Whyte, 2012).

Os dois oceanos polares (Ártico e Austral) possuem diferenças significantivas de composição das comunidades microbianas, compartilhando apenas cerca de 15% das espécies de grupos taxonômicos marinhos típicos (Ghiglione et al, 2012). Os dois oceanos se diferenciam no aporte de água doce, onde no Ártico ocorre principalmente pelo deságue de grandes sistemas fluviais, enquanto que, no Oceano Austral, o aporte de água doce ocorre em menor escala e principalmente devido ao processo de degelo glacial (Hollibaugh, Lovejoy e Murray, 2007; Ghiglione et al, 2012). Essa diferença também modifica a quantidade de sedimento e carbono orgânico dissolvido presentes no sistema (Ghiglione et al, 2012).

Dentre os grupos bacterianos presentes nos dois pólos, pode-se citar aqueles que são cosmopolitas nos oceanos: como SAR86, SAR11, Flavobacteria, Roseobacter (Bano et al, 2004; Giovannoni et al, 2005; Hollibaugh, Lovejoy e Murray, 2007; Murray and Grzymski, 2007, Ghiglione et al, 2012). No bacterioplâncton, as bactérias quimiolitoautotróficas aparentam ser abundantes em oceanos polares, principalmente as responsáveis por mediar o nitrogênio inorgânico e transformações de enxofre (Hollibaugh et al., 2002; Hollibaugh, Lovejoy e Murray, 2007). Em relação às arqueias, o Marine Group I de Crenarchaeota domina as águas polares (DeLong et al., 1994; Massana et al., 1998; Murray et al., 1998; Church et al., 2003; Bano et al. 2004; Galand et al., 2006), com grande presença de outros grupos como Marine Group II de Euryarchaeota (Delong et al, 1994), e Group II e IV de Crenarchaeota em águas profundas (Bano et al, 2004; López-Garcia et al, 2004; Galand et al., 2006).

3.2.1 Parâmetros ambientais e a ecologia microbiana pelágica antártica

Microrganismos são influenciados por diferentes fatores (bióticos e abióticos) em diferentes escalas temporais, que podem ocasionar alterações na composição das comunidades microbianas (Fuhrman et al, 2015; Jin et al, 2018). Na Antártica, a diversidade de comunidades marinhas procarióticas pelágicas é correlacionada com variações físico-químicas e oceanográficas principalmente relacionadas á sazonalidade (Wilkins et al, 2013, Luria et al, 2014; Signori et al, 2014; Signori et al, 2018).

A temperatura é um dos principais parâmetros ambientais que podem influenciar na atividade e diversidade microbiana em ambientes polares (Delille, 2004; Cavicchioli, 2015; Verde et al, 2016). As águas superficiais antárticas permanecem frias (< 3 °C) durante todo o ano, porém passam por extremas alterações sazonais que incluem variações na cobertura da

camada de gelo marinho, exposição solar e duração do dia (Wilkins et al, 2013). Além disso, o cenário atual de mudanças climáticas tem provocado o aquecimento da superfície do mar em algum pontos da Antártica (IPCC, 2019; IPCC, 2022), dando ainda mais relevância para essa variável. A temperatura influencia a taxa de reações químicas nas células, pode ter um impacto direto na composição de comunidades microbianas ou ainda influenciar outros paramêtros ambientais (Miller e Whyte, 2012; Sharp et al, 2014).

Um efeito relevante da variação de temperatura é a relação com o balanço de íons carbonato e bicarbonato, que resulta em variações na escala de pH (Miller e Whyte, 2012). O pH é dado em escala logarítmica, onde pequenas alterações podem causar grandes mudanças na composição filogenética de comunidades microbianas (Jin et al, 2018). Em baixas temperaturas o grau de ionização da água diminui afetando reações bioquímicas como o equilíbrio enzimático celular (Miller e Whyte, 2012)

A salinidade é outro parâmetro ambiental relacionado à temperatura. O processo de glaciação (formação de gelo) na água do mar exclui a grande quantidade de mineirais dissolvidos devido às diferenças no processo de cristalização dos sais e da água, concentrando esse sal em canais ou pequenos bolsos de salmoura, os *brine channels* ou *pockets* (Golden 2001, Colins et al, 2008; Miller e Whyte, 2012). A variação de salinidade gera um estresse osmótico nas células, afetando o transporte de substratos através da membrana plasmática que pode levar à inibição do crescimento microbiano (Walter et al, 1987; Miller e Whyte, 2012). Para lidar com esse estresse osmótico, microrganismos psicrófilos exibem também com frequência adaptações similares à de halofílicos (Leblanc et al, 2003; Ponder et al, 2005, Miller e Whyte, 2012). Ainda, a salinidade é diretamente relacionada com a densidade da água e portanto pode alterar a profundidade da camada superficial de mistura, sendo um fator de extrema importância nas mudanças climáticas (Talley, 2002). A salinidade em ambientes polares também pode ser afetada por variações e degelo na camada de gelo marinho ou derretimento de geleiras (Álcama-Arias et al, 2021)

A disponibilidade de nutrientes inorgânicos como silicato, nitrogênio ou fósforo, exercem influência na composição e dispersão de comunidades microbianas, sendo também diretamente relacionada com a temperatura (Cavicchioli, 2015). Baixas temperaturas causam um aumento da viscosidade e consequente redução nas taxas de difusão da água, ocasionando uma diminuição na disponibilidade de nutrientes (fosfatos, carbono orgânicos e compostos nitrogenados) necessários ao crescimento microbiano (Miller e Whyte, 2012). Ao contrário do fosfato e silicato, compostos nitrogenados como o nitrato (NO_3^-) são mediados por processo biológicos (Codispoti e Christensen, 1985). Na coluna d'água, o nitrato é assimilado ou

fixado na superfície pelo fitoplâncton e denitrificado ou remineralizado por microrganismos na subsuperfície através de processos como a amonificação e nitrificação (Rafter et al, 2019). A amonificação consiste na liberação de amônia (NH_3) através da decomposição de matéria orgânica. A nitrificação ($NH_3 \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO_3^-$) é o processo de conversão de amônia em nitrito e nitrato. Ambos os processo são partes importantes do ciclo do nitrogênio (Strock, 2008).

O oxigênio dissolvido (OD) também influencia na composição de comunidades bacterianas, principalmente em sistemas costeiros, onde a escassez ou abundância pode influenciar na presença de organismos de metabolismo anaeróbicos ou aeróbicos, respectivamente (Aldunate et al, 2018). A temperatura pode influenciar na solubilidade do OD, com diminuição na disponibilidade de OD correlacionada ao aumento da temperatura (Walczyńska e Sobczyk, 2017).

A profundidade na coluna d'água também é um fator importante na diversidade e composição de comunidades microbianas. Ghiglione et al (2012) realizaram um estudo comparando comunidades bacterioplanctônicas em altas e baixas latitudes e concluiu que a diversidade bacteriana pelágica global é influenciada principalmente pela distribuição vertical na coluna d'água e por sub-regiões oceânicas. Diferenças de diversidade filogenética foram explicadas principalmente devido à dinâmica das condições físico-químicas ambientais, com rápidas alterações na superfície e constantes durante períodos de longa escala temporal em águas profundas (Ghiglione et al, 2012).

3.2.2 Comunidades microbianas marinhas da Península Antártica Ocidental (PAO)

Comunidades microbianas (Archaea e Bacteria) da PAO possuem forte correlação com a variação de parâmetros ambientais, principalmente relacionados às alterações sazonais (Church et al, 2003; Luria et al, 2014, Moreno-Pino et al, 2016), com alteração de até 50% da composição bacterioplânctonica entre inverno e verão (Murray et al., 1998; Murray e Grzymski, 2007). Church et al, (2003) inclusive encontraram diferenças na composição do picoplâncton em zonas meso- e batipelágicas associadas à sazonalidade.

A sazonalidade da coluna d'água inclui variações na exposição solar, profundidade e estratificação da camada de mistura no coluna d'água, cobertura de gelo marinha e produção primária (Luria et al, 2014). Luria et al (2014) encontraram comunidades de Bacteria e Archaea semelhantes em amostras de profundidade do verão (~100 m) com amostras de

superfície no inverno (~10 m), relacionando as diferenças de estratificação da coluna d'água entre as duas estações sazonais.

Arqueias aparecem como mais abundantes e representativas nas águas de superfície durante o inverno do que no verão, onde Bacteria dominam em abundância (Murray et al, 1998; Church et al, 2003). Durante o verão, as comunidades são principalmente formadas por bactérias heterótrofas dependentes da matéria orgânica formada por fotoautótrofos (Grzymski et al, 2012, Willians et al 2012; Signori et al, 2014, Oztuk et al, 2022). Contudo, a diversidade bacteriana se apresenta maior em águas mais frias e escuras durante o inverno (Murray & Grzymski 2007, Grzymski et al. 2012).

Estudos realizados ao longo da costa da PAO (Murray e Grzymski, 2007; Luria et al, 2014; Signori et al, 2014; Ozturk et al, 2022) encontraram abundância em táxons como SAR11, Rhodobacteraceae (gêneros *Roseobacter* e *Sulfitobacter*), Pseudoalteromonadaceae, SAR86, SAR92, Oceanospirillales, Desulfobacterales, Colwelliaceae, Nitrospinaeae, SAR324, Flavobacteriaceae, Gemmataceae (gênero *Zarvarzinella)*, Moraxellaceae e Deferribacteraceae.

As arqueias são descritas com uma representação quantitativa menor em superfície do que bactérias e aumentando essa representação com a profundidade (Massana et al, 1998; Church et al, 2003). Um estudo conduzido no Estreito de Gerlache por Massana et al. (1998) estimou 1–15% de Archaea na camada de mistura superficial, com aumento de 25% em 500 m de profundidade. Os principais táxons de arqueias pelágicas reportados na PAO foram relacionados ao filo Thaumarchaeota, com alta ocorrência de *Nitrosopumilus* e outras arqueias oxidantes de amônia (Signori et al, 2014; Hernández et al., 2015) e, em menor abundância relativa, Marine Groups II e III (classe Thermoplasmata) e classe Bathyarchaeia (Signori et al, 2014; Ozturk et al, 2022).

3.3 Mudanças climáticas no oceano e criosfera

O aumento nos valores de emissão de gases com efeito estufa (gás carbônico, metano e óxido nitroso) tem ocasionado alterações na atmosfera, biosfera, oceano e criosfera (IPCC, 2022). Apesar de as alterações nos padrões climáticos poderem ser de causas naturais, as ações antrópicas se apresentaram como a principal causa observada (IPCC, 2022).

A queima de combustíveis de origem fóssil, o desmatamento e a liberação de gases de fontes industriais podem alterar a composição atmosférica, afetando diretamente a quantidade de radiação que atinge o planeta e que é, ou não, refletida de volta, alterando o clima (IPCC, 2014). O último relatório (AR6 Report) do *Intergovernamental Panel of Climate Change*

(IPCC) que foi disponibilizado em 2022 advertiu (*alta confiança*) que a média anual de emisão de todos os grupos de gases de efeito estufa da última década (2010-2019) foi maior do que qualquer outra década anterior, sendo que a emissão de CO_2 proveniente da queima de combustíveis fósseis e industriais aumentou 67% em 2019 comparado com 1990 (Figura 4).

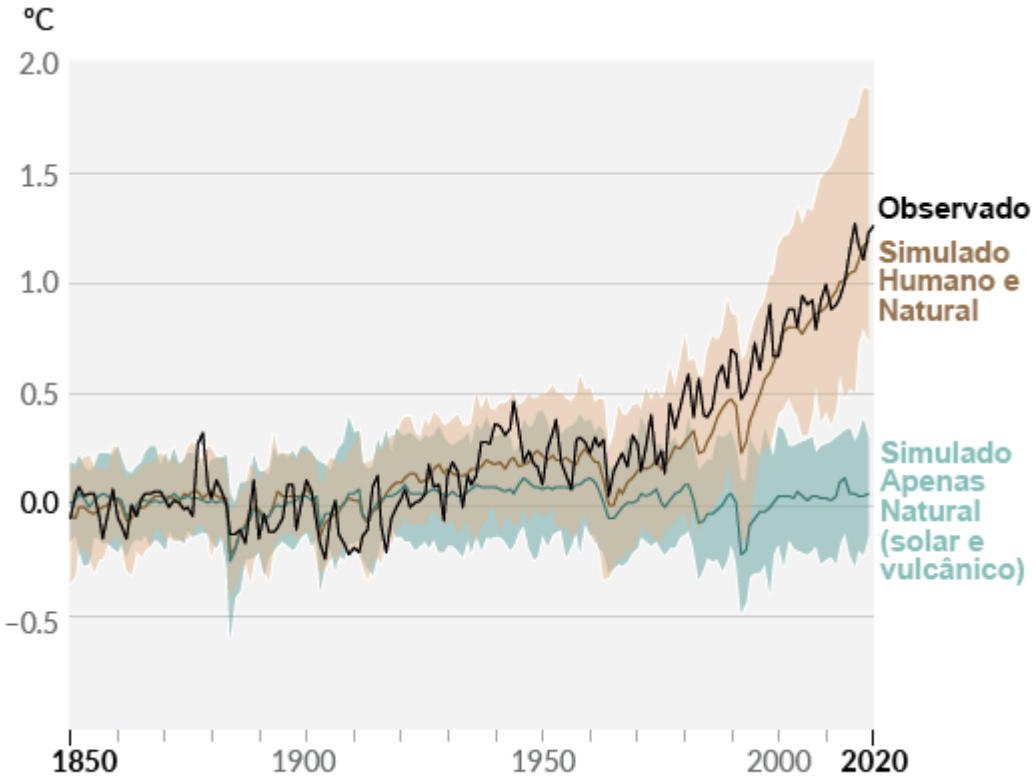


Figura 4: Temperatura na superfície global nos últimos 170 anos. Comapração entre a linha preta que representa a média anual observada e modelos de simulação climática da fase 6 do Projeto de Intercomparação de Modelos Acoplados (CMIP6), onde a linha marrom representa respostas da temperatura para fatores ambientais e naturais e a linha verde representa apenas fatores naturais (atividade vulcânica e solar). Linhas sólidas mostram a média e sombras coloridas mostram o intervalo de probabilidade das simulações. Traduzido de IPCC, 2022.

Esse relatório também advertiu sobre as alterações relacionadas aos oceanos. A média global da temperatura superficial do mar (TSM) aumentou cerca de 0,88 °C desde o início do século 20, e o nível do mar aumentou 0,2 m entre 1901 e 2018. O aquecimento dos oceanos representa 91% do aquecimento no sistema climático (IPCC, 2022). As camadas superiores da coluna d'água (0 – 200 m) se mostraram cerca de 4.9 $\pm$ 1,5% mais estratificadas entre 1970 e 2018. A expansão de zonas de oxigênio mínimo em diversas áreas do globo (*alta confiança*) e declínio do pH ocasionando acidificação dos oceanos nas últimas 2 décadas (*alta confiança*) também foram observados (AR6 IPCC Report, 2022). Para a biota marinha, foram relatadas diversas mudanças relacionadas às alterações nos ciclos de vida e distribuição geográfica (*alta*

confiança) de diferentes espécies e localidades, e portanto, com possibilidade de pertubação em grandes ecossistemas marinhos (IPCC, 2022).

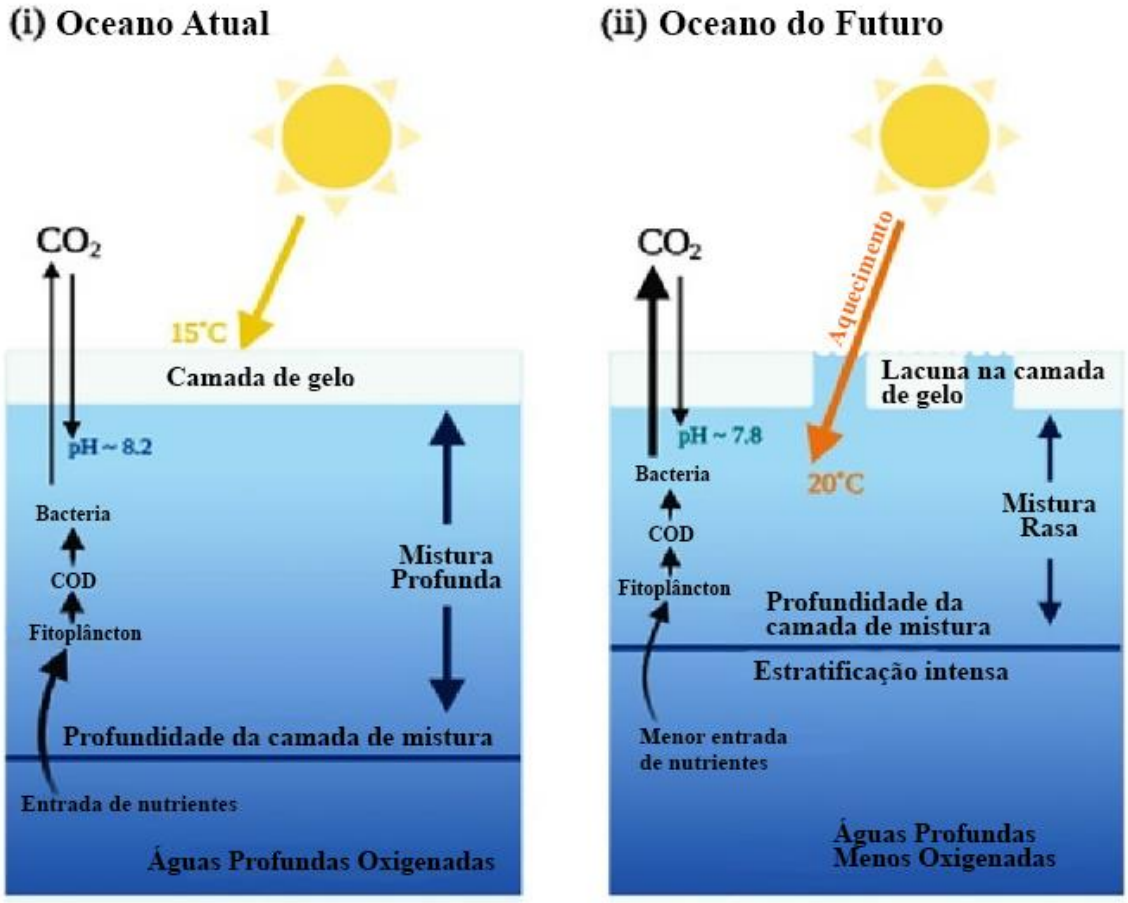


Figura 5: Comparação das características entre (A) atual ecossistema oceânico e (B) oceano do futuro modificado por consequências das mudanças climáticas. COD, carbono orgânico dissolvido. Traduzido de Abirami et al (2021).

A criosfera e os ambientes polares também são particularmente sensíveis para as alterações causadas por mudanças climáticas (Miller e Whyte, 2012; Cavicchioli, 2015; IPCC, 2019). Essas alterações podem acarretar consequências globais, devido à importância desses ambientes para a biodiversidade, circulação oceânica e regulação climática (Cavicchioli, 2015; Verde et al, 2016). A grande quantidade de gelo existente na Antártica reflete parte da radiação solar, atenuando os efeitos de aquecimento global (Wilkins et al, 2012). O derretimento de geleiras e afinamento das plataformas de gelo ocasionadas pelo aumento térmico no sistema climático, explicam 42% do aumento do nível do mar entre 1901 e 2018, sendo os principais contribuintes para aumento no nível do mar durante o período de 2006-2018 (Sheperd et al, 2018; IPCC, 2022).

O Oceano Austral tem um papel importante na absorção de calor, controlando a temperatura de águas profundas (IPCC, 2019; IPCC, 2022) e no fluxo de CO_2 atmosférico (Frölicher et al 2015; Landschützer et al., 2015). Cerca de 40% da absorção de carbono antropogênico acontece no Oceano Austral, o tornando o maior sumidouro oceânico de CO_2 (Caldeira e Duffy, 2000; Frölicher et al 2015; Landschützer et al., 2015), contudo, atualmente existem incertezas em relação ao fluxo (absorção-liberação) de CO_2 no Oceano Austral devido à escassez de dados no período de inverno (Gruber et al, 2019).

Porém, a Antártica não é homogênea em relação às mudanças climáticas (Figura 6). Enquanto algumas áreas, principalmente na parte oriental do continente, não apresentaram nas últimas décadas mudanças significantes na TSM ou na camada de gelo marinha (Verde et al, 2016; IPCC, 2022), os efeitos das alterações climáticas podem ser notados na Península Antártica (IPCC, 2019), principalmente em sua região ocidental (Vaughan et al, 2003, Stammerjohn et al, 2008; IPCC, 2019).

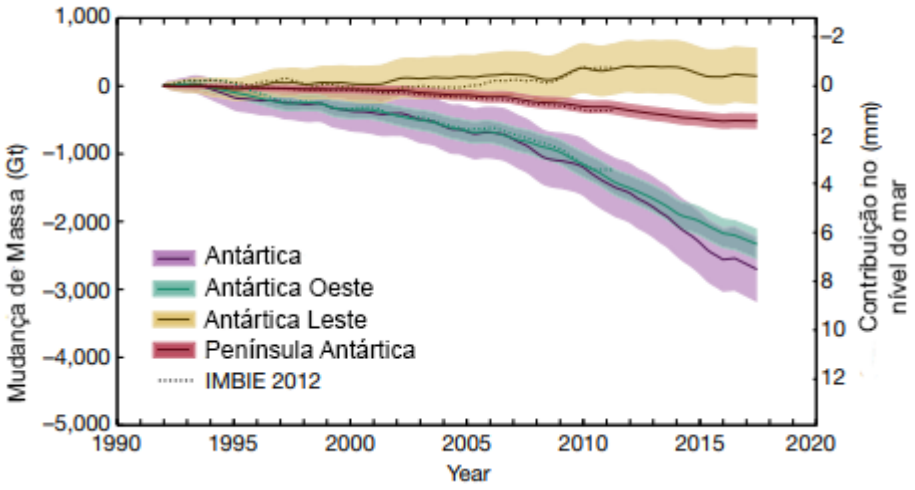


Figura 6: Plataforma de Gelo Antártica (linhas sólidas) em diferentes locais do continente entre 1990 e os dias atuais. As alterações acumulativas são determinadas pela integral das médias mensais, sendo a incerteza delimitada pela área sombreada. As linhas pontilhadas representam avaliações anteriores. Traduzido de Sheperd et al (2018).

3.3.1 Mudanças climáticas na Península Antártica

Nas últimas décadas, a Península Antártica tem apresentado altas taxas de aquecimento atmosférico e oceânico, principalmente a área ocidental, com aumento na temperatura do ar de cerca de 0,46°C por década entre 1951 e 2018 (Vaughan et al., 2003, Meredith et al, 2005, Turner et al, 2014; Hendry et al, 2018; Chown et al, 2022).

O rápido aquecimento atmosférico e oceânico impulsionam um efeito térmico nas geleiras de terminação marinha na PAO, fazendo com que 90% dessas geleiras apresentem recuo frontal (Cook et al., 2016). Esse aquecimento também tem diminuido a duração da temporada de gelo marinho associada á alterações sazonais como um avanço tardio no outono e recuo antecipado na primavera (Stammerjohn et al. 2008), além de redução da extensão da camada de gelo (Stammerjohn et al, 2008 e 2012).

Além disso, outras alterações descritas na PAO relacionadas às mudanças climáticas são a diminuição da salinidade nas camadas superficiais do oceano (Meredith et al, 2005), aquecimento de águas profundas (Meredith et al, 2005), aprofundamento da camada de mistura (Brown et al, 2019) e aumento na frequência e intensidade de eventos climáticos extremos (IPCC, 2022). Essas mudanças têm impacto na biota marinha (Clarke et al, 2007, Convey e Peck, 2019, Gutt et al, 2020).

O aquecimento da PAO tem sido associado ao fortalecimento da tendência de fases positivas de SAM (Clem et al. 2016). O fenômeno de SAM descreve padrões de circulação atmosférica na região antártica (Clen et al, 2016) e possui forte influência na variabilidade inter-anual climática da PAO, influenciando na dinâmica da camada de gelo marinha e em alterações de aportes pontuais de água (degelo glacial e precipitação) no Oceano Austral (Moffat e Meredith 2018). O recuo tardio da camada de gelo marinho aumenta a estratificação da coluna d'água no próximo verão, colaborando para alta produtividade primária (Vernet et al., 2008; Steinberg et al., 2012; Ducklow et al., 2013; Saba et al., 2014). O aumento de emissões antropogênicas e a fase positiva de SAM resultante também contribuem para a entrada da Água Profunda Circumpolar (CDW) na Península (Cape et al, 2019). Essa massa d'água é relativamente mais quente, sendo que ao interagir com a base das geleiras e da plataforma de gelo acaba acelerando o processo de degelo e aumentando o aporte de água doce com consequências para a salinidade (Pan et al, 2022).

3.3.2 Microrganismos e mudanças climáticas

As mudanças climáticas alteram parâmetros ambientais dos oceanos e criosfera (IPCC, 2019) e, com isso, podem afetar as comunidades microbianas que vivem nesses habitats (Abirami et al, 2021). Devido a características, como resiliência relacionada às taxas de rápido crescimento, grande capacidade de dispersão, flexibilidade e variabilidade metabólica, alta diversidade genética e funcional e rápida evolução, predizer respostas microbianas (Archaea e Bacteria) às mudanças climáticas representa um desafio (Shade et al., 2012; Luria

et al., 2014; Martiny et al., 2017). Portanto, para entender os possíveis efeitos dessas mudanças em microrganismos antárticos, é necessário conhecer a biodiversidade, estabilidade e funções ecológicas das comunidades microbianas no ecossistema (Pearce, 2008).

As comunidades microbianas podem responder às alterações nos parâmetros ambientais de três formas: com mudanças na sua composição (comunidades sensíveis), sem alterações na composição (comunidades resistentes) ou com mudanças na composição, mas sem alterar as funções ecológicas (redundância funcional) (Abirami et al, 2021; Wang et al, 2021). O potencial de uma comunidade microbiana para lidar com alterações com o aquecimento e acidificação está diretamente relacionado com a fisiologia dos organismos e o grau de heterogeneidade do habitat em questão (Dutkiewicz et al, 2015; Wang et al, 2021). Ainda, as alterações entre os táxons podem estar interconectadas, com alterações na abundância de um táxon microbiano influenciando outros táxons (Hennon et al, 2018).

Oliver et al (2014) descreveram as bactérias marinhas como resistentes às altas concentrações de CO^2 e diminuição do pH. Alguns estudos avaliando alterações em comunidades microbianas pelágicas relacionadas às mudanças climáticas na Península Antártica já foram realizados (ex. Moreno-Pino et al, 2016; Kim et al, 2018; Ferreira, 2019; Álcaman-Arias et al, 2021).

Álcama-Arias (2021) analisaram a composição de comunidades microbianas em um gradiente de salinidade em superfície relacionado ao degelo de geleiras na Baía Chile (Ilha Greenwhich) no verão de 2016 através de análises experimentais de simulação e observacionais pela análise do 16S RNAr. Álcama-Arias (2021) encontrou interferência no fornecimento de nutrientes e clorofila-a para água do mar e alterações na composição de Bacteria com a descarga de água doce proveniente do degelo de geleiras na PAO. Sendo que, um dos potenciais alertas para altas taxas de derretimento e *freshning* do sistema marinho em costas altamente glaciais, é a presença de *Flavobacterium* visto a sua resiliência metabólicas a essas mudanças. Ainda, outro táxons que apresentaram resiliência às alterações de salinidade foram *Polaribacter Pseudoalteromonas* e HTCC2207.

Kim et al (2020) analisaram a composição microbiana em superfície associada às propriedades físico-químicas durante o verão de 2018 na Caverna Marian, Ilha Rei George. Encontraram os táxons Cryomorphaceae, Sedimenticola, e *Salibacter* associados às geleiras e os táxons *Sulfitobacter*, *Arcobacter,* e *Odoribacter* como dominantes na região da Baía Maxwell. As comunidades da região se estruturaram principalmente devido às variações físico-químicas ambientais.

Moreno-Pino et al (2016) analisaram a variação nas comunidades microbianas na Baía Fildes, Antártica e encontrou os parâmetros ambientais como o principal fator para determinar essas comunidades. Porém, a influência desses fatores variou entre eucariotos fotossintéticos e comunidades bacterianas, sendo a diversidade metabólica bacteriana uma habilidade importante para responder e se adaptar às alterações ambientais.

Ferreira (2019) caracterizou a microbiota associada ao degelo de duas geleiras na Baía do Almirantado. Encontrou diversos grupos bacterianos associados à decomposição de matéria orgânica, como Flavobacteriales, Rhodobacterales, SAR11 e Oceanospirillales (Nitrincolaceae) e notou variação associada à introdução de espécies alóctones, provenientes de regiões de mar aberto.

3.4 Metodologia de caracterização de comunidades microbianas

Análises moleculares filogenéticas tem sido a principal forma de acessar a composição e distribuição de microrganismos nos últimos anos (Fuhrman et al, 2015; Cao et al, 2020), principalmente em ambientes considerados extremos (Shu e Huang, 2022). A metagenômica possibilitou o estudo de comunidades microbianas direto do ambiente, sem a necessidade de técnicas clássicas de microbiologia como isolamento e cultivo espécies (Miller e Whyte, 2012).

3.4.1 Amplificação do gene de interesse 16S RNAr

O gene ribossomal 16S (16S RNAr) é um dos marcadores filogenéticos de organismos procarióticos descritos por Woese e Fox (1977). Esse gene possui 1550 pares de base (Rudi et al, 2007) com regiões conservadas intercaladas por regiões hipervariáveis (Roh et al, 2010; Fuks et al, 2018). A presença dessas regiões permite a criação de primers específicos e a possibilidade de inferência filogenética entre organismos (Huys et al, 2008; Fuks et al, 2018). O RNAr 16S se tornou um padrão em classificação taxonômica bacteriana (Huys et al, 2008) e sendo o principal método aplicado a estudos de microbiologia ambiental (Case et al, 2007; Huys et al, 2008, Roh et al, 2008, Straub et al, 2020).

A tecnologia de sequenciamento de nova geração (NGS) permitiu a obtenção de maneira rápida de uma enorme quantidade de fragmentos de DNA de amostras complexas e com menor custos do que as versões anteriores de sequenciamento (Roh et al, 2010), sendo que dentre as plataformas disponíveis a Illumina tem sido predominate em estudos de

ecologia microbiana (Quail et al, 2012). Existem diversos softwares e métodos de clusterização disponíveis para análise do resultado desses sequenciamentos. O uso de *Amplicon Sequence Variant (*ASVs) como método de clusterização é um método mais detalhado do que em unidades taxonômicas operacionais (OTUs), pois enquanto ASVs distinguem sequências com apenas um nucleotídeo de diferença, OTUs utilizam uma similaridade de 97% para agrupar organismos em uma mesma OTU (Callahan et al, 2017). Straub et al (2020) analisaram diferentes softwares de Bioinformática, chegando à conclusão de que o software Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME 2) que utiliza o método de clusterização em ASVs é a ferramenta mais precisa para refletir a comunidade microbiana em relação à recuperação de sequências, diversidade e atribuição taxonômica.

3.4.2 Análises de riqueza e diversidade (alfa, beta e gama)

A biodiversidade já foi descrita como um dos fatores dominantes no funcionamento e dinâmica de ecossistemas (Bell et al, 2005; Tilman et al, 2014). Segundo Whittaker (1972) a diversidade de um ecossistema pode ser definida em 3 níveis: alfa, beta e gama. A diversidade alfa (α) pode ser caracterizada como a avaliação da riqueza de espécies em nível local, ou seja, em apenas um ecossistema, enquanto que a diversidade gama (γ) é a avaliação dos mesmos parâmetros porém em nível regional, somando todos os habitats de uma determinada área. Já a diversidade beta (β) pode ser descrita como a mudança de espécies ao longo de um gradiente ambiental, onde se realiza uma comparação de similaridade ou dissimilaridade entre comunidades, sendo amplamente utilizada para avaliar a associação entre composição microbiana e variáveis ambientais.

A caracterização de uma comunidade é diretamente relacionado ao esforço amostral e padronização desse esforço para todos os pontos amostrados (Gaston, 1996; Chao e Chiu, 2016). A padronização e alto esforço amostral são uma ideia utópica para diversas pesquisas (Chao e Chiu, 2016), principalmente quando demandam altos investimentos e possuem dificuldades logísticas, como o estudo de microbiologia de ambientes extremos. Para suprir essas dificuldades, é possível caracterizar uma comunidade através de ferramentas estatísticas como a extrapolação, rarefação e utilização de índices de diversidade (Chao e Chiu, 2016; Thukral, 2017).

Diversos índices já foram descritos na literatura. O índice de riqueza Chao pode ser dividido em dois, o Chao1 baseia-se na abundância dos táxons, enquanto que Chao2 baseia-se na incidência, ou seja, na presença ou ausência de determinado táxon (Chao e Chiu, 2016). O

índice de ACE baseia-se no conceito de “cobertura de amostra”, originalmente desenvolvido para análises criptográficas por Alan Turing e Irving Good, esse índice avalia abundância relativa de espécies raras e comuns para definir o grau de heterogeneidade da amostra (Chao e Chiu, 2016). O índice de diversidade de Simpson calcula a probabilidade de duas amostras retiradas ao caso pertencerem a mesma espécie (Gorestein, 2002), enquanto que o índice de diversidade de Shannon quantifica o grau de incerteza na predição da espécie que será uma amostra retirada ao acaso (Kim et al, 2017). Apesar dos dois índices avaliarem a diversidade da comunidade, o primeiro é mais sensível as espécies dominantes enquanto que o segundo considera espécies abundantes e raras com mesmo peso na análise (Marrugan, 1998).

Para comparar comunidades, utilizam-se os índices de similaridade ou dissimilaridade, com o objetivo de avaliar o nível de semelhança, ou a distância (dissimilaridade) entre duas ou mais comunidades, respectivamente. Um índice comumente utilizado na Ecologia Microbiana é a medida de dissimilaridade de Bray-Curtis, que avalia a abundância relativa geral por amostra e a abundância de cada táxon na comunidade (Bray e Curtis, 1957). Distâncias Unifrac incorporam informações filogenéticas, e podem avaliar presença/ausência (unweighted) ou abundância relativa (weighted) (Lozupone e Knight, 2005).

3.4.3 Microbioma e predição metabólica

O microbioma central (*core microbiome*) é a representação dos táxons compartilhados entre duas ou mais comunidades microbianas associadas á um habitat (Shade e Handelsman, 2011). Identificar o microbioma central é essencial para entender os principais processos ecológicos microbianos daquele habitat, e o primeiro passo para predizer respostas das comunidades às perturbações como alterações decorrentes de mudanças climáticas (Shade e Handelsman, 2011). Uma forma usual de análise do *core* é um conjunto de dados baseado em presença/ausência visualizado através de um Diagram de Venn (Shade e Handelsman, 2011).

Microrganismos são reconhecidos por sua alta diversidade metabólica, muitas vezes associada ao ciclo de elementos que modulam os ecossistemas do planeta (Falkowski et al, 2008; Louca et al, 2018). Descrever as comunidades através das funções metabólicas permite entender como essas comunidades se estruturam através de gradientes ambientais, visto a existência de uma possível relação dos metabolismos com os parâmetros ambientais (Louca et al, 2018). A ferramenta de anotação funcional de táxons procarióticos (FAPROTAX) foi desenvolvida para predizer funções ecológicas relevantes de Bacteria e Archaea através de

dados provenientes da análise de sequenciamento de 16S RNAr (Louca et al, 2018; Sansupa et al, 2021). Essa ferramenta utiliza um banco de dados pautado na literatura de culturas microbianas representativas, e muitas vezes pode ser preferível para análises de funções associadas aos ciclos biogeoquímicos em amostras ambientais (Louca et al, 2016; Sansupa et al, 2021).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Área de estudo

4.1.1 Características gerais

O Estreito de Gerlache é uma área de alta produtividade biológica (Griffith and Anderson, 1989; Isla et al, 2002; Zhou, Niiler and Hu, 2002) localizada na região noroeste da Península Antártica (Lat 64°S - 65°S; Long 61° W - 64°W) (Isla et al, 2002). Com quase 200 km de comprimento, o canal é limitado à leste pela região costeira da península e, à oeste, pelas ilhas Brabant e Anvers, que o separam do Mar de Bellingshausen (García et al, 2002; Isla et al, 2002; Cunha et al, 2018; Parra, Laurido e Sánchez, 2020) (Figura 7).

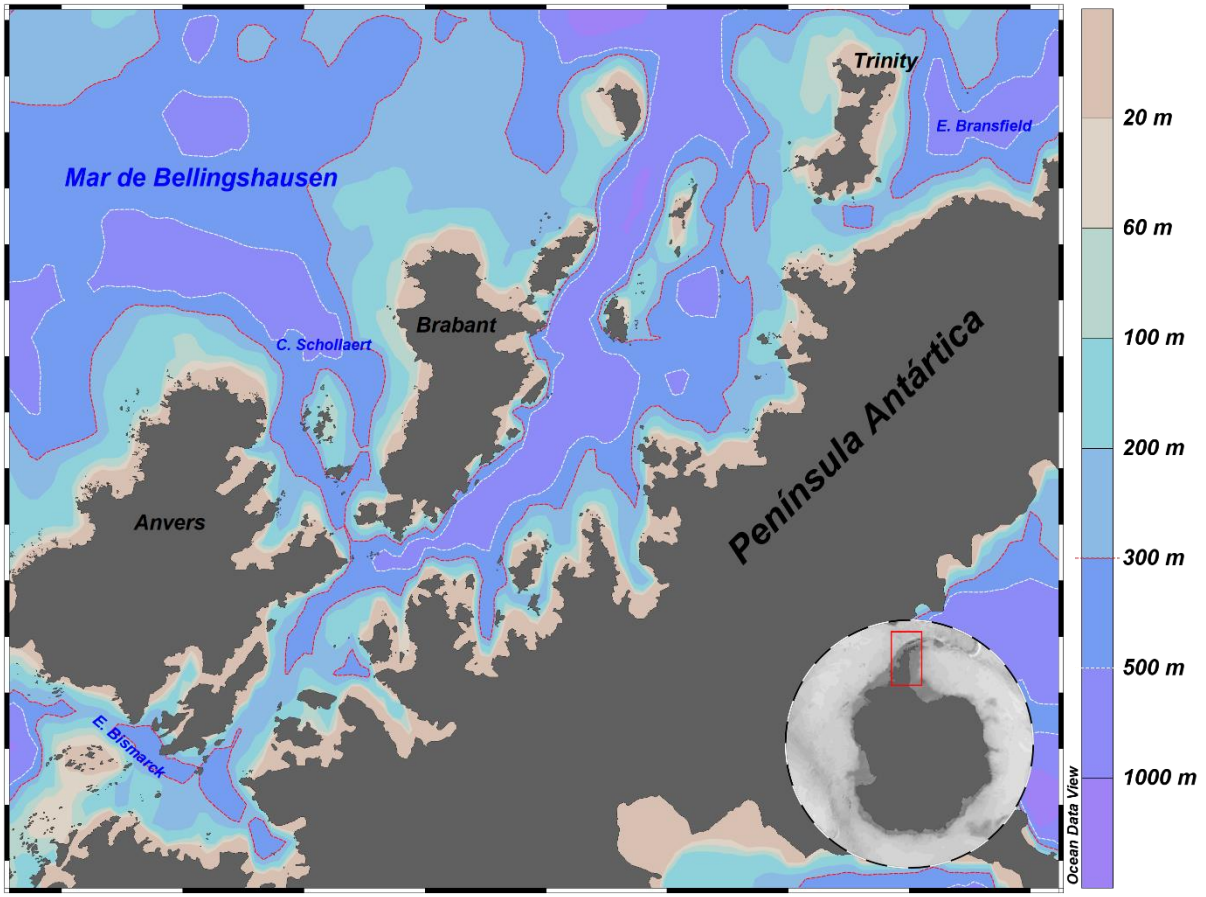


Figura 7: Batimetria do Estreito de Gerlache, onde a linha tracejada vermelha representa a isóbata de 300 m e a linha tracejada branca representa a isóbata de 500 m. No canto inferior direito está a localização da Península Antártica no continente antártico.

A saída norte do estreito tem cerca de 60 km de largura e é conectada ao Estreito de Bransfield, enquanto que na saída ao sul (~10 km de largura) encontra-se o Estreito de

Bismarck (Zhou et al, 2002; Cunha et al, 2018; Parra, Laurido e Sánchez, 2020), que junto do Canal Schollaert localizado na área central, conectam o Mar de Bellingshausen ao Estreito de Gerlache (Cunha et al, 2018). Profundidades de cerca de 800 m são encontradas na área central de Gerlache, enquanto que as saídas, tanto norte quanto sul, possuem elevações que deixam essas áreas mais rasas (até 300 m de profundidade) (Cunha et al, 2018).

As áreas rasas e baías atuam como um berçário para diversas espécies, principalmente krill (Cabal et al, 2002; Zhou, Niiler and Hu, 2002). Durante o final do verão (outubro-janeiro), a grande concentração de fitoplâncton existente nas águas superficiais (até 50 m) (Holm-Hansen and Vernet, 1992) cria um ambiente altamente produtivo para o zooplâncton (Zhou, Niiler and Hu, 2002). Os copépodes também se beneficiam com a alta biomassa fitoplânctonica da região, sendo responsáveis por até 65% do consumo de produção primária local diária, e contribuindo com cerca de 22% do fluxo de carbono orgânico na região através de pelotas fecais (Gleiber et al, 2016). Essas características tornam o Estreito de Gerlache uma área de interesse permanente da Antártica (Cabal et al. 2002).

4.1.2 Circulação e correntes

O padrão de circulação superficial em Gerlache é descrito no sentido nordeste, onde a maior parte das águas que saem do Estreito de Gerlache entram na corrente de Bransfield fluindo próximas das Ilhas Shetland do Sul (Zhou, Niiler e Hu, 2002). Através do Estreito de Bismark e do Canal de Schollaert ocorre a entrada de águas do Mar de Bellingshausen, formando a chamada Corrente do Estreito de Gerlache (Smith et al, 1999; García et al, 2002) (Figura 8). Porém, essa circulação pode se alterar sazonalmente (Zhou, Niiler e Hu, 2002; Parra, Laurido e Sánchez, 2020), alterando a saída de água do Estreito de Gerlache para a passagem entre as ilhas Hoseason e Liege durante os meses de fevereiro a abril (Zhou, Niiler e Hu, 2002).

Devido às características batimétricas, a corrente superficial durante o verão flui mais rápido através da parte funda do canal (~30 $cm.s^{-1}$) e mais fraca próxima às margens, já as águas intermediárias e profundas permanecem confinadas na área central do estreito (Zhou, Niiler and Hu, 2002; Cunha et al, 2018). Esse padrão de fluxo também cria diferenças no tempo de residência das águas, que é curto na parte profunda (~10 dias), e longo nas áreas de baía (~70 dias), influenciando na dispersão e abundância do zooplâncton local (Zhou, Niiler and Hu, 2002).

Ainda, intrusões irregulares da CDW ocorrem no Estreito de Gerlache (García et al, 2002, Couto et al, 2017), influenciadas por modos de variabilidade climática como ENSO e SAM (Stammerjohn et al, 2008). Em fases positivas de SAM, os ventos são intensificados, aumentando a intensidade e a frequência da CDW (Ruiz-Barlett et al, 2018), enquanto que sob forte ENSO, os ventos são enfraquecidos com redução da intrusão da CDW (Stammerjohn et al, 2008).

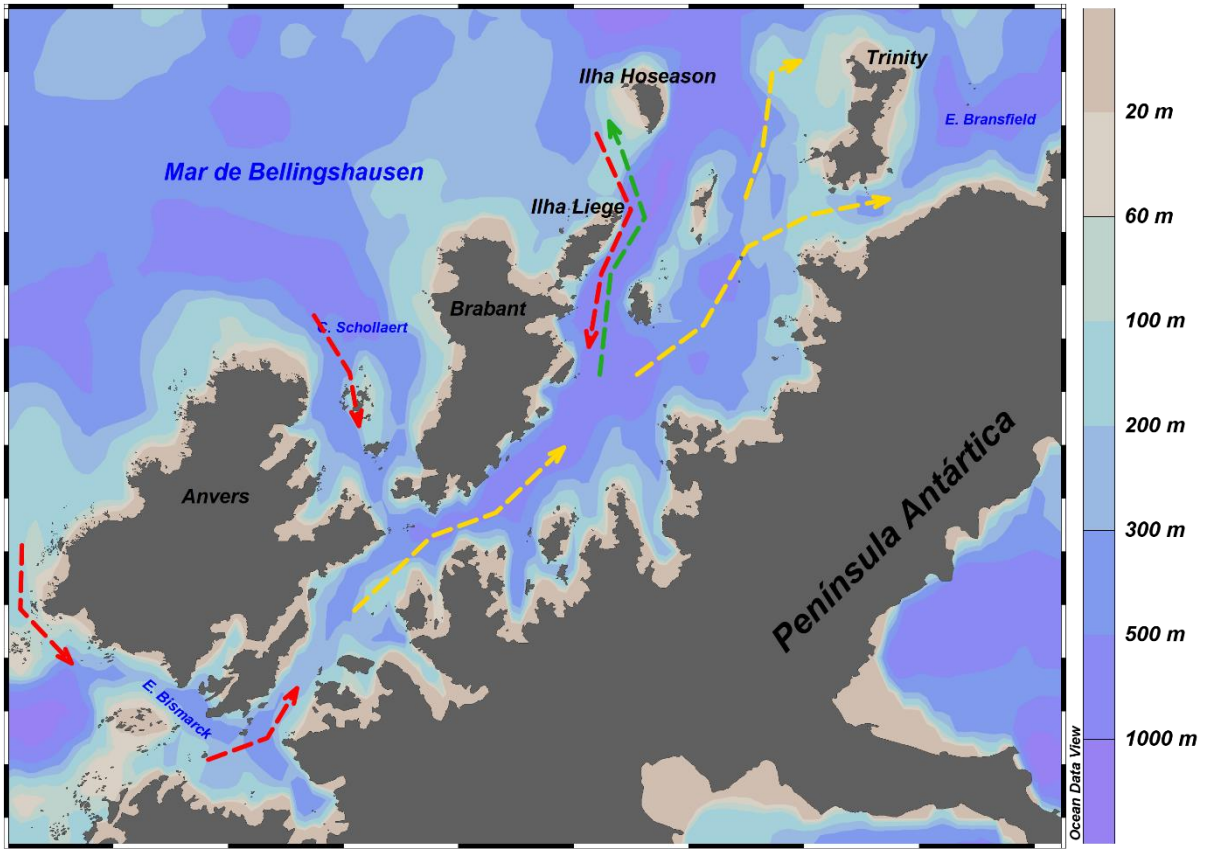


Figura 8: Circulação simplificada do Estreito de Gerlache. Setas vermelhas representam a intrusão de CDW, setas amarelas representam a Corrente de Gerlache e a seta verde representa a variação sazonal da corrente de Gerlache. Informações retiradas de Smith et al (1999), Garcia et al (2002), Zhou, Niller e Hu (2002) e Couto et al (2017).

4.1.3 Hidrografia da coluna d'água

As características hidrográficas da coluna d'agua no estreito são resultado da mistura das águas provenientes das regiões vizinhas, modificadas por interações locais associadas à topografia, atmosfera e criosfera (Amos et al., 1990; García et al., 2002; Cunha et al., 2018; Parra, Laurido e Sánchez, 2020). A coluna d'água no estreito é descrita como altamente estratificada (Castro et al, 2002; Cunha et al, 2018), separando uma camada superficial de

mistura de outra camada abaixo dos 100 metros de profundidade com águas intermediárias e profundas (Cunha et al, 2018).

Durante o verão, a camada de mistura superficial é composta principalmente pela Água Superficial Antártica (AASW) (Smith et al, 1999), que ao norte é influenciada pelas águas de superfície de Bransfield e, ao sul, pelas águas de Bellingshausen (García et al, 2002). Essa camada também é influenciada por forçantes climáticas, além de sazonalidade e aporte de água doce no sistema, que ocorre principalmente através de precipitação ou descarga glacial (Smith et al, 1999; van Wessem et al., 2017; Verona et al., 2018; Parra, Laurido e Sánchez 2020). Variações na AASW tem forte influência na estratificação da coluna d'água (Meredith et al, 2010). A assinatura da AASW é marcada por temperatura de subsuperfície abaixo de 0 ºC (García et al, 2002) e salinidade aproximada de ~34 (Hoffman et al, 1996). Durante o inverno, essa água é substituída por águas mais frias e salinas através do processo de convecção, a chamada Água de Inverno (WW), que durante o verão permanece abaixo da camada aquecida e marca o fim da AASW (Gordon e Huber, 1984). Em meados de maio, começa a formação de gelo e, no final de novembro, esse gelo começa a retrair, deixando a área sem gelo no período de janeiro a abril. (Griffith e Anderson, 1989).

Águas intermediárias e profundas (abaixo de 100 m de profundidade) ao sul são formadas pela intrusão da Água Circumpolar Profunda Superior (UCDW), que é relativamente mais quente e com baixo nível de oxigênio e salinidade, com origem no Mar de Bellinghsausen. Ao norte, são formadas pela intrusão da mais recente, fria e com alta quantidade de oxigênio e salinidade Água de Alta Salinidade da Plataforma (HSSW), de origem do Mar de Weddell que entra no estreito através de Bransfield (Smith et al., 1999; García et al., 2002; Cunha et al, 2018), formando a chamada Água Circumpolar Profunda Modificada (mCDW) (García et al., 2002).

A UCDW (mínimo de oxigênio, $\theta > 1.8°C$) é a parte superior da CDW (Parra, Laurido e Sánchez, 2020) que é transportada pela ACC proveniente de fora da plataforma (Smith et al, 1999). As áreas rasas encontradas na entrada sudoeste do estreito atuam como barreira, restringindo a passagem em larga escala do fluxo de águas circumpolar entre os Estreitos de Bismarck e Gerlache (García et al., 2002; Zhou, Niiler e Hu, 2002). Por serem relativamente quentes, essas águas podem afetar a base das geleiras atuando como uma fonte de calor e contribuindo para o derretimento (Parra, Laurido e Sánchez, 2020).

Alguns estudos relatam a existência de uma frente térmica superficial na área central do estreito, responsável por separar águas frias na área sul de águas mais quentes na área norte

(García et al, 2002; Rodríguez et al, 2002; Kerr et al, 2017; Cunha et al, 2018; Parra, Laurido e Sánchez, 2020).

4.2 Amostragem

A expedição científica ocorreu no contexto das Operações Antárticas Brasileiras (OPERANTAR) XXXII e XXXIII, com apoio do navio polar Npo. Almirante Maximiano (H41), durante o período de primaveras (novembro 2013, 2014) e verões austrais (fevereiro 2014, 2015 e março 2014, 2015) (Tabela 1) na região do Estreito de Gerlache. Amostras da coluna d'água e dados abióticos medidos *in-situ* (temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido e fluorescência) foram coletados em duas profundidades (superfície e fundo), através de um sistema Sea Bird CTD-Rossete 911 (Figura 10) acoplado com 24 garrafas Niskin de 5L. Foram selecionadas dez estações oceanográficas (G01, G03, G04, G07, G09, G10, G12, G13A, G14, G15) (Figura 9), sendo duas consideradas de monitoramento (G07 e G14) e presentes em todos os anos amostrados. Devido às diferenças nas características topográficas e hidrográficas descritas na literatura (Kerr et al, 2017; Cunha et al, 2018; Parra, Laurido e Sánchez, 2020), o Estreito de Gerlache nesse estudo foi separado em áreas norte e sul, sendo área norte composta pelas estações G09, G10, G13, G14 e G15, e a área sul composta pelas estações G01, G03, G04, G07, G12.

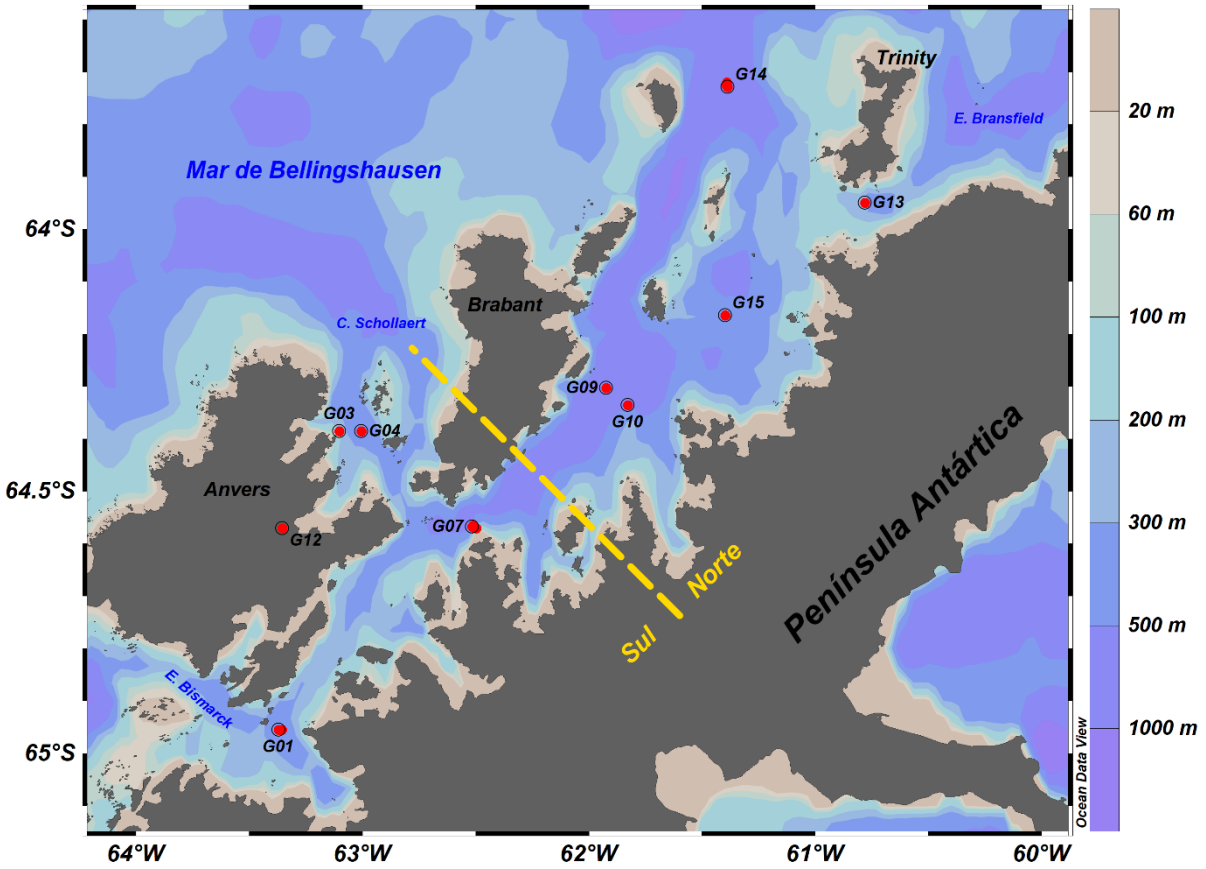


Figura 9: Estreito de Gerlache com a localização das 10 estações de coleta em vermelho. Em amarelo, a divisão do estreito em áreas norte e sul. Em azul, a localização do Estreito de Bismarck, Canal Schollaert, Mar de Bellingshausen e Estreito de Bransfield. Em preto, o nome das principais áreas terrestres. Á direita, o gradiente de cores representa as profundidades da coluna d'água.

Figura 10: Coleta de água no Estreito de Gerlache através do sistema CTD-Rossete acoplado á garrafas Niskin durante a expedição OPERANTAR XXXIII que ocorreu em 2015.

Tabela 1: Informações das estações de amostragem.

Área	Estação	Latitude	Longitude	Anos Coletados	Período
Norte	G01	64° 57' 18.648" S	63° 21' 23.101" W	2014, 2015	verão
	G03	64° 23' 7.440" S	63° 6' 12.179" W	2014	verão
	G04	64° 23' 7.368" S	63° 0' 17.100" W	2015	verão
	G07	64° 33' 53.820" S	62° 30' 46.321" W	2013, 2014 e 2015	verão e primavera
	G12	64° 34' 15.899" S	63° 21' 14.461" W	2015	verão
Sul	G09	64° 18' 10.440" S	61° 55' 24.060" W	2015	verão
	G10	64° 20' 8.941" S	61° 49' 43.799" W	2014	verão
	G13	63° 56' 58.812" S	60° 46' 50.761" W	2015	verão
	G14	63° 43' 10.812" S	61° 23' 25.199" W	2013, 2014 e 2015	verão e primavera
	G15	64° 9' 51.541" S	61° 23' 56.879" W	2014	verão

Para a coleta de microrganismos, aproximadamente 3L de água do mar foram filtradas através de membranas Sterivex de 0,2 µm de porosidade e com auxílio de uma bomba peristáltica. As amostras ficaram conservadas em ultrafreezer (-80°C) até as análises em laboratórios do IO-USP. Outros dados abióticos complementares, como os nutrientes inorgânicos (silicato, fosfato, nitrato, nitrito e amônia), foram coletados, processados e analisados pelo Grupo de Oceanografia de Altas Latitutes (GOAL) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) (Dotto et al, 2018), seguindo os protocolos do Autoanalyser (FIAstar 5000). O apêndice 1 mostra as amostras e quais dados foram obtidos com sucesso ou disponibilizados.

Os dados de Oscilação Antártica (Southern Annular Mode - SAM) foram obtidos através da página *https://legacy.bas.ac.uk/met/gjma/sam.html*. Dados do Índice Oceânico Niño (Oceanic Niño Index – ONI) para a região Niño 3.4 foram retirados de *https://origin.cpc.ncep.noaa.gov/products/analysis_monitoring/ensostuff/ONI_v5.php*.

4.3 Análises microbianas moleculares

4.3.1 Extração de DNA

A extração de DNA total foi realizada utilizando o protocolo desenvolvido por Boström et al (2004) e Manganelli et (2009) com modificações de Signori et al (2014). O

processo consistiu em lise celular, remoção de lipídios, desnaturação, remoção de proteínas e eluição do DNA.

4.3.2 Amplificação e sequenciamento do gene 16S RNAr

A amplificação da região variável V4 do gene 16S RNAr foi realizada através da reação em cadeia da polimerase (PCR) em etapa única usando o kit comercial HotStarTaq Plus Master Mix Kit (Quiagen) e o *primer* universal para Bacteria e Archaea 515F (5 ’ - GTGYCAGCMGCCGCGGTAA - 3’) - 806R (5’ - GGACTACNVGGGTWTCTAAT - 3’) (Caporaso et al, 2011). As amostras contendo 5 ng de DNA foram amplificadas sob as condições: 94°C por 3 min, percorrendo 28 ciclos de 30 s cada para desnaturação, anelamento à 53°C por 40 s para o anelamento, 72°C por 1 min para extensão e 72°C por 5 min para extensão final. O resultado da amplificação foi quantificado usando o Qubit (Life Technologies) e purificado usando Ampure beads (Agencourt Bioscience Corporation, USA).

Posteriormente, as amostras foram sequenciadas através da plataforma Illumina MiSeq (2 × 250 bp reads). As etapas de amplificação por PCR e de sequenciamento foram realizadas pela empresa Molecular Research Lab (Shallowater, Texas, USA).

4.4 Análises estatísticas e Bioinformática

As sequências resultantes do sequenciamento foram analisadas através do software *Quantitative Insights into Mirobial Ecology* - QIIME 2, versão 2021.4 (Bolyen et al, 2019). Os barcodes foram retirados através do plugin *Cutadapt* (Martin, 2011) e o arquivo foi demultiplexado através do plugin *demux summarize.*

A análise de qualidade dos reads, remoção de chimeras e clusterização em ASVs foi realizada através do DADA2 (Callahan et al, 2016), com sequências truncadas em 250 pb. Foi então realizada a filtragem das amostras para manter apenas aquelas referentes à região de Gerlache através do comando *feature-table* e criado uma árvore filogenética para as análises de diversidade através do comando *phylogeny align-to-tree-mafft-fasttree*. As sequências foram classificadas taxonomicamente como *Amplicon Sequences Variant* (ASV) através do plugin *classify-learn* (Pedregosa et al, 2011) e utilizando o banco de dados SILVA 138 SSU (Quast et al, 2013). Os arquivos gerados no QIIME foram então exportados para a continuação das análises com uso do software R (v.4.0.5) (R Core Team, 2021).

As análises de alfa-diversidade incluíram o número de ASVs observadas, os índices de riqueza de Chao1 e ACE e os índices de diversidade Shannon e Simpson. Para essas análises, foi utilizado o pacote *phyloseq* (v.1.34.0) (McMurdie e Holmes, 2013) e *vegan* (Oksanen et al, 2020) no software R. As amostras foram filtradas para conter apenas os microrganismos procarióticos e normalizadas por rarefação com o segundo menor número de sequências: 21887. Portanto, a amostra X97 foi retirada, visto que seu número de sequências (592) era muito baixo.

Através dos pacotes *permutte* (Simpson, 2019), *latice* (Sarkar, 2008) e *vegan* (Oksanen et al, 2020) foram realizadas as análises ADONIS entre categorias de agrupamento de amostras e a variância da composição das comunidades microbianas. As categorias testadas foram: áreas (norte x sul), zonas pelágicas (epipelágica x meso/batipelágica), temperatura (abaixo e acima de 0°C) e estações sazonais (primavera x verão) com 999 permutações. A beta-diversidade foi visualizada através da análise de clusterização usando distâncias métricas UNIFRAC weighted e por escalonamento multidimensional não-paramétrico (NMDS) baseado na distância de Bray-Curtis, onde os parâmetros ambientais foram plotados e avaliados através da função envfit do pacote *vegan* (Oksanen et al, 2020).

A análise do microbioma central foi realizada utilizando o pacote *vegan* (Oksanen et al, 2020). A predição de metabolismos e processos ecológicos baseada no gene 16S RNAr foi realizada através do banco de dados *Functional Annotation of Prokaryotic Taxa* (FAPROTAX) (v.1.2.3) (Louca et al., 2016). A abundância dos táxons foi visualziada utilizando o pacote *phyloseq* (v.1.34.0) (McMurdie e Holmes, 2013).

Através do software R, a média dos dados físico-químicos (temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, nutrientes) e dados de fluorescência foram plotados em boxplots para comparação entre camadas da coluna d'água (superfície x fundo), áreas (norte x sul) e estações sazonais (verão x primavera). Para comparação entre as camadas da coluna d'água, foram utilizadas apenas amostras de verão dos anos 2014 e 2015. Para análise das estações sazonais, foram utilizadas apenas amostras de superfície. Todas as comparações foram testadas através do teste-t de Student. Para análise de distribuição, todas as amostras foram plotados junto à salinidade, temperatura e oxigênio dissolvido no software Ocean Data View (v.5.6.2) (Schlitzer, 2021).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Parâmetros ambientais da coluna d'água nos pontos de amostragem

5.1.1 Temperatura, salinidade e oxigênio dissolvido com a profundidade e sazonalidade

A temperatura entre as amostras variou de -1,24 a 1,81°C, a salinidade variou de 33,3 á 34,26 psu, e o oxigênio dissolvido (OD) variou de 3,46 a 8,15 mL/L.

A temperatura média de águas superficiais (< 100 m prof.) no verão de ambos os anos (0,96± 0,46°C em 2014 e 0,88± 0,5°C em 2015) foi maior do que a temperatura média em águas profundas (> 100 m prof.) (-0,16±1,05 °C em 2014 e -0,13±1,06 °C em 2015). A diferença entre as médias de temperatura entre as duas camadas (superfície e fundo) foi de 1,12°C em 2014 e 1,01°C em 2015 (Figura 11). A média de salinidade da camada superficial durante o verão de 2014 foi similar ao mesmo período em 2015 (33,57±0,2 e 33,86±0,34 psu). Na camada profunda, a salinidade foi maior do que na superfície e apresentou a mesma média entre os dois anos (34,58 ± 0,05 psu) (Figura 12). Altas temperaturas em águas superficiais quando comparadas às águas profundas que se apresentam mais frias e salindas já foram descritas em uma região próxima ao Estreito de Gerlache por Signori et al (2014).

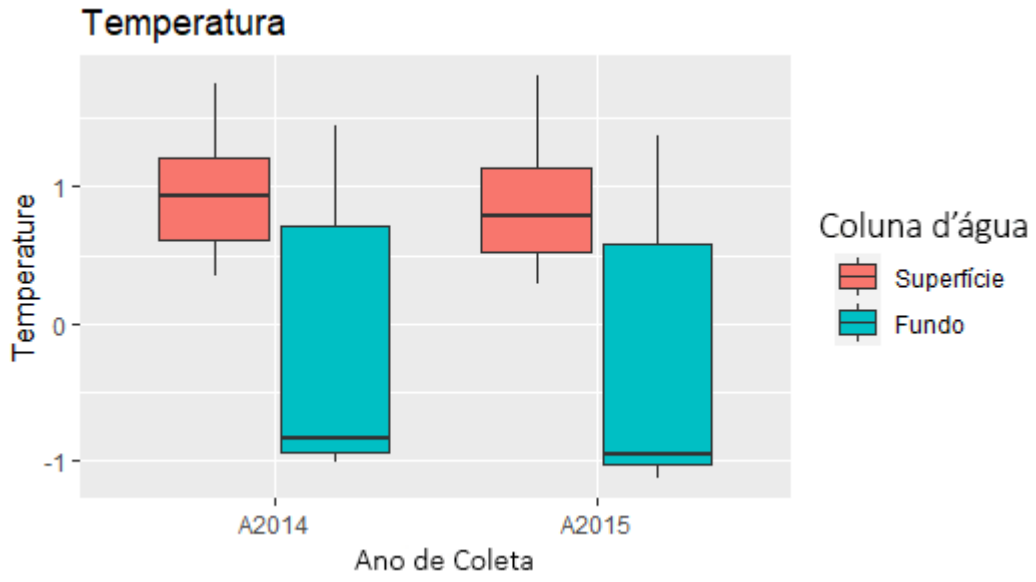


Figura 11: Boxplot da média das temperaturas (ºC) na coluna d'água entre os anos de 2014 e 2015. As cores representam as duas categorias de profundidade: rosa é superfície (< 100 m) e azul é fundo (> 100 m).

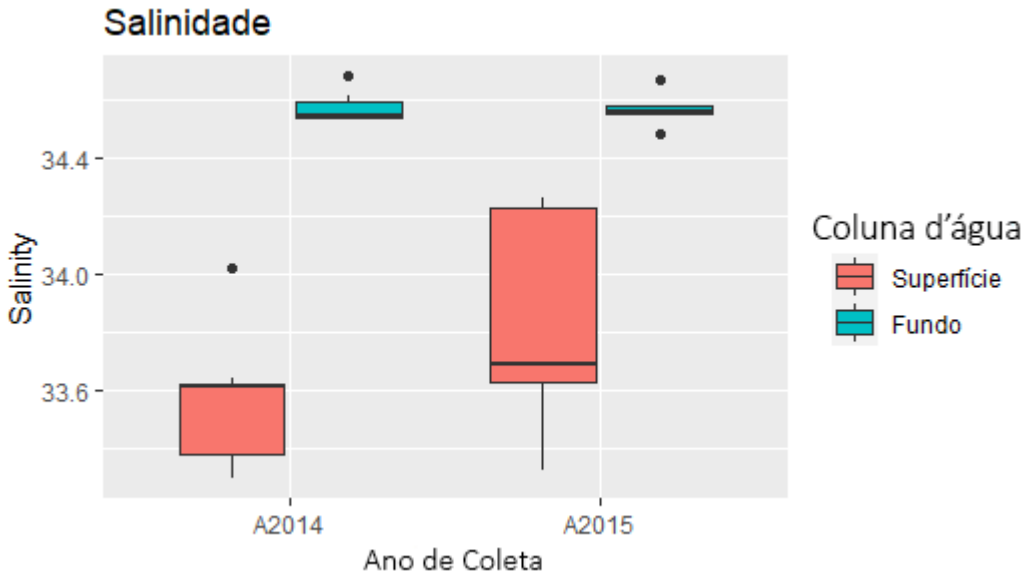


Figura 12: Boxplot da média das salinidades (psu) na coluna d'água entre os anos de 2014 e 2015. As cores representam as duas categorias de profundidade: rosa é superfície (< 100 m) e azul é fundo (> 100 m). Os pontos pretos representam os *outliers*.

Diferente da salinidade e temperatura, o OD não apresentou a mesma tendência entre as profundidades nos dois anos (Figura 13). Em 2014, a camada de superfície se apresentou mais oxigenada (5,90±1,3 mL/L) do que a camada profunda (5,06±0,9 mL/L). Já em 2015, o OD foi similar entre as duas camadas (6,91±0,2 mL/L na superfície e 6,26±1,6 mL/L no fundo), o que pode representar uma homogeneização da coluna d'água em relação ao OD nesse ano. As concentrações similares entre as zonas pelágicas em 2015 se diferenciam das altas concentrações em superfície encontradas por Signori et al (2014) em uma região próxima ao Estreito de Gerlache.

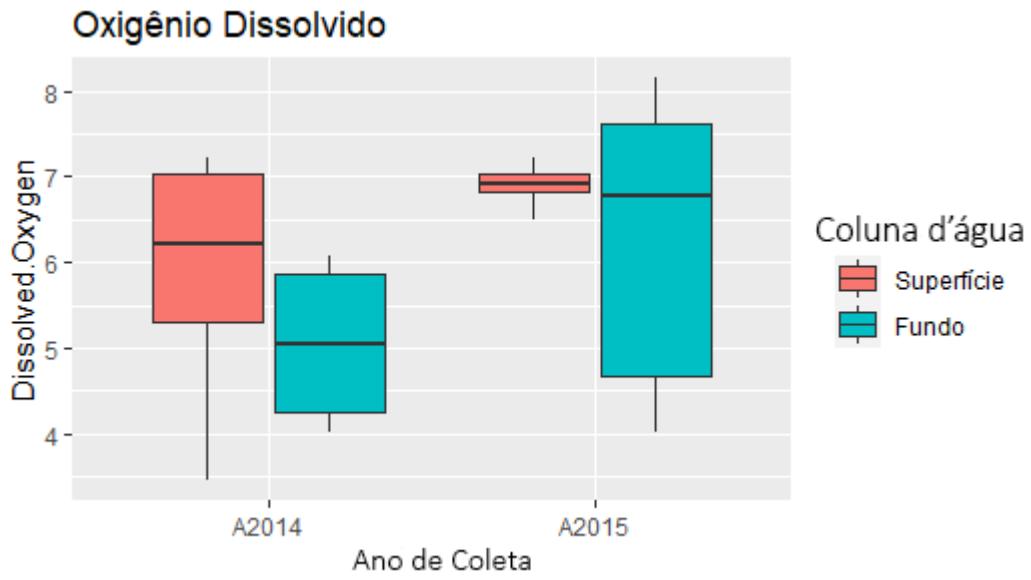


Figura 13: Boxplot da média do oxigênio dissolvido (mL/L) na coluna d'água entre os anos de 2014 e 2015. As cores representam as duas categorias de profundidade: rosa é superfície (< 100 m) e azul é fundo (> 100 m).

A existência de uma frente térmica no Estreito de Gerlache dividindo as águas superficias da região norte e sul foi descrita em 2015 por Kerr et al (2017), Cunha et al (2018) e Parra, Laurido e Sánchez (2020). Essa frente térmica definida por uma isoterma de 1ºC, separando águas ao sul do canal Schollaert (<0,85 ºC) de águas mais quentes ao norte (> 1,3 ºC) não foi visualizada apenas com as temperaturas das amostras, apresentando variação não significativa entre as áreas (p-valor > 0,05). A única variação encontrada em relação às áreas durante o verão de 2015 foi referente à salinidade. Nas zonas meso- e batipelágica não foi encontrada nenhuma diferença entre as áreas. Contudo, durante a primavera, encontrou-se diferença entre as áreas em relação à temperatura e OD no ano de 2013 e apenas com a temperatura em 2014.

Considerando a variação sazonal, o período de primavera apresentou temperaturas mais baixas e salinidade mais alta do que o período de verão (Figuras 14 e 15). O OD (Figura 16) não apresentou diferenças significativa entre as duas estações no ano de 2014. Entre primaveras, o ano de 2013 foi mais frio (-1,15± 0,07°C) e bem oxigenado (6,72± 0,16°C). A salinidade foi similar entre os dois anos. Entre o período de verão de 2014 e 2015 não foi encontrada nenhuma diferença significativa (p-valor < 0,05) entre as médias de temperatura, salinidade e OD.

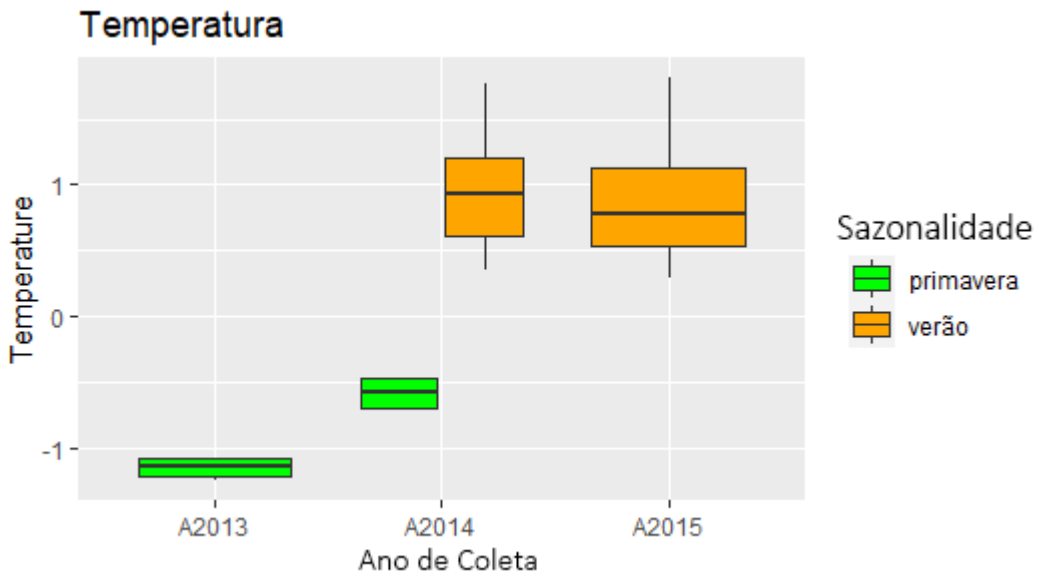


Figura 14:Boxplot da média das temperaturas superficiais (ºC) entre os anos de 2013, 2014 e 2015. As cores representam a sazonalidade: verde é primavera e laranja é verão.

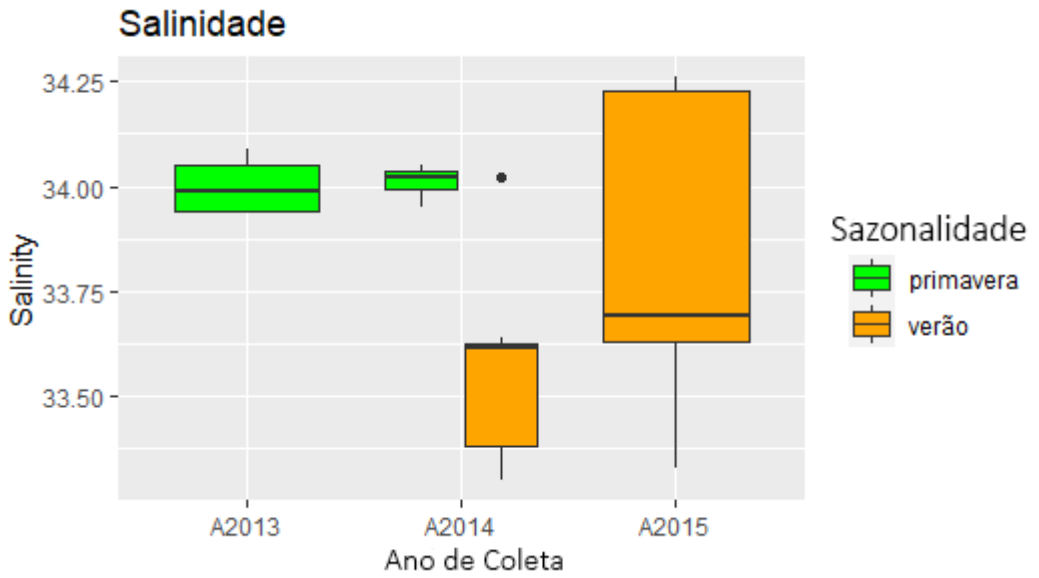


Figura 15: Boxplot da média da salinidade (psu) da camada superficial entre os anos de 2013, 2014 e 2015. As cores representam a sazonalidade: verde é primavera e laranja é verão. O ponto preto representa um *outlier*.

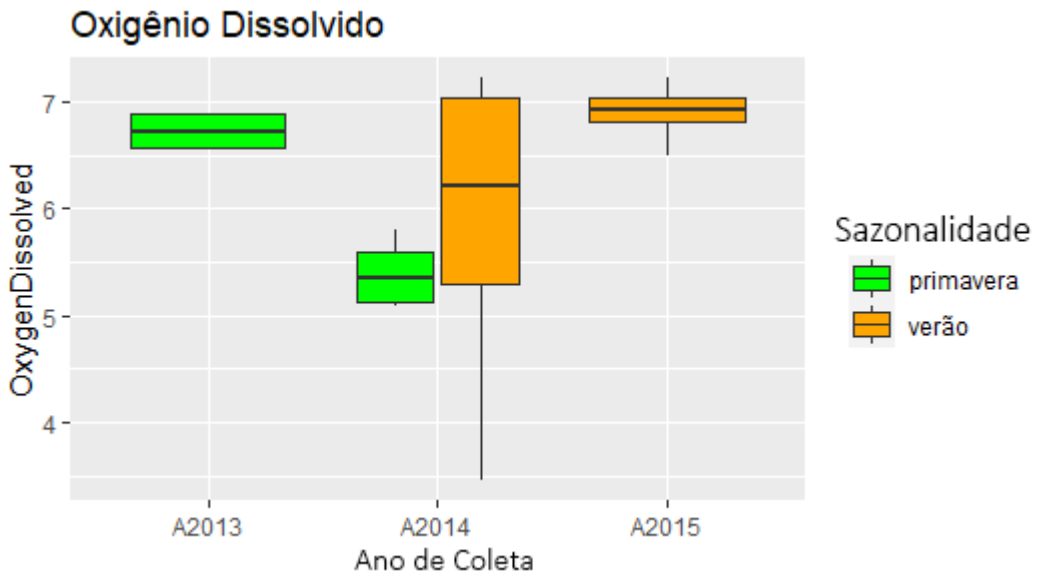


Figura 16: Boxplot da média do oxigênio dissolvido (mL/L) da camada superficial entre os anos de 2013, 2014 e 2015. As cores representam a sazonalidade: verde é primavera e laranja é verão.

Ao plotar as 38 amostras em um diagrama com os valores *in situ* de temperatura, salinidade e OD amostrados (Figura 17), foi possível identificar uma distribuição das amostras em relação às diferentes massas d'água. O primeiro grupo de amostras foi influenciado pela AASW, que é definida por um mínimo de temperatura em subsuperfície abaixo de 0ºC e salinidade aproximada de 34 psu (Hoffman et al, 1996). O segundo grupo composto de amostras do período de primavera foi influenciado pela Água de Inverno (WW), cujas características são valores por volta de -1,5ºC de temperatura e 34 psu de salinidade (Hoffman et al, 1996). O terceiro e quarto grupos foram compostos apenas por amostras profundas. O terceiro grupo foi influenciado pela mCDW, cujas características no Estreito de Gerlache são temperatura maior que 0ºC e salinidade maior que 34,5 (Parra, Laurido e Sánchez, 2020), enquanto que o quarto grupo foi influenciado pela Água de Transição com Influência de Weddel (TWW) que apresenta temperaturas abaixo de 0ºC, salinidade maior que 34,5 e alto teor de OD (Parra, Laurido e Sánchez, 2020).

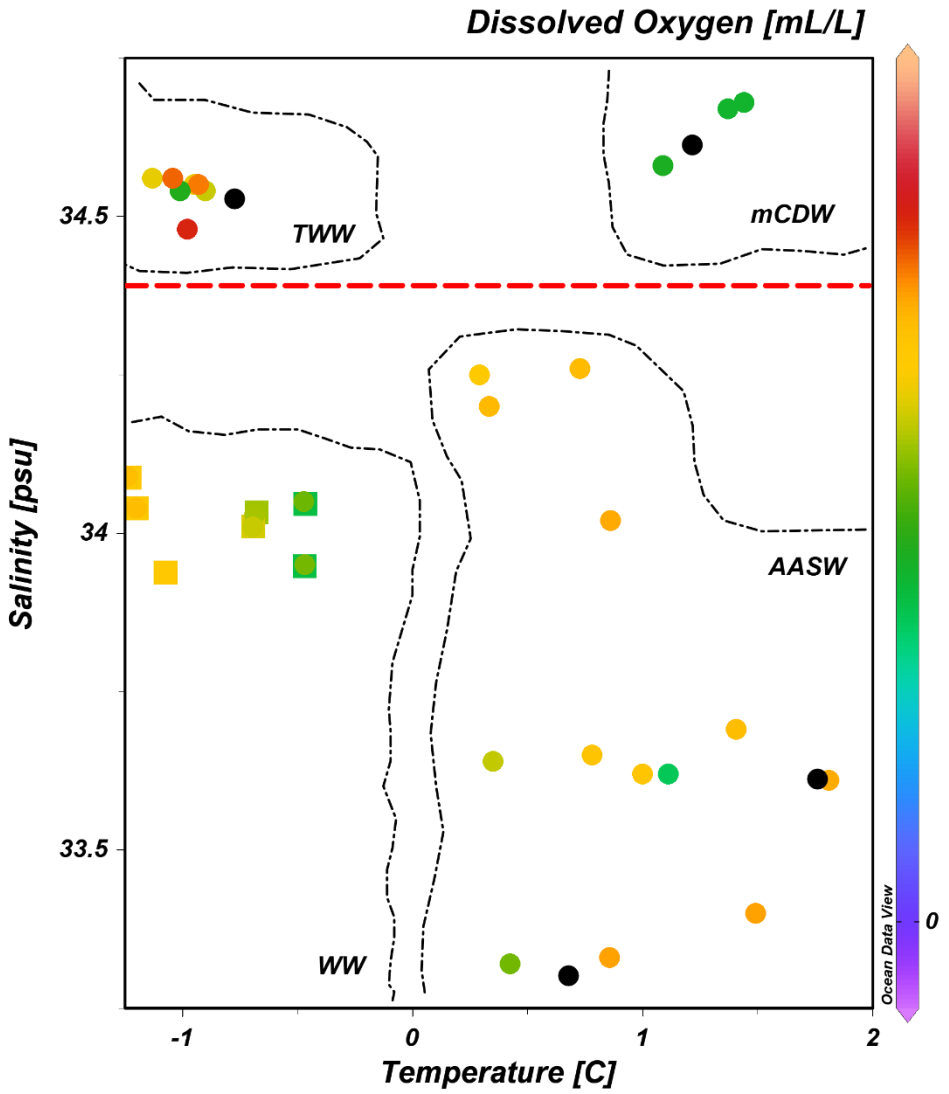


Figura 17: Distribuição das amostras de acordo com medidas in situ de temperatura (ºC), salinidade (psu) e oxigênio dissolvido (mL/L). Cada símbolo representa uma estação de amostragem, sendo que cada formato indica a sazonalidade (quadrado = primavera, círculo = verão). O gradiente de cores representa os valores de oxigênio dissolvido (mL/L), sendo que a cor preta é referente as amostras que não possuem dados de OD. A reta tracejada vermelha representa a divisão das amostras em relação à profundidade da coluna d'água, onde as amostras acima da reta são profundas (> 100 m) e as amostras abaixo da reta são de superfície (< 100 m). As linhas pretas ponto-tracejadas representam as massas d'água: Água Superficial Antártica (AASW), Água de Inverno (WW), Água Circumpolar Profunda Modificada (mCDW) e Águas em Zona de Transição com Influência do Mar de Weddell (TWW).

5.1.2 Nutrientes inorgânicos

Todos os nutrientes inorgânicos (fosfato, filicato, nitrato, nitrito e amônia) apresentaram diferença significativa (p-valor <0,05) na média de valores entre a zona epipelágica (< 100 m) e as zonas meso- e batipelágica (>100 m). Entre as áreas (norte x sul) do Estreito de Gerlache, nenhuma diferença significativa entre nutrientes foi encontrada.

As concentrações de fosfato foram baixas de modo geral (< 2 µM/L), porém com maiores valores no fundo ($\bar{x}$ = 1,5±0,1 µM/L), do que em superfície ($\bar{x}$ = 0,75±0,3 µM/L). Já as concentrações de silicato apresentaram valores altos em toda a coluna d'água (> 24 µM/L), mas seguiram a mesma tendência das concentrações de fosfato, com média maior no fundo ($\bar{x}$ = 39,3±2,4 µM/L) do que na superfície ($\bar{x}$ = 29,6±5,2 µM/L).

Fosfato e silicato apresentaram correlações negativas com temperatura (r^2 = -0,8 e -0,83) e amônia (r^2 = -0,98 e r^2 = -0,9) e correlações positivas com salinidade (r^2 = 0.85 e r^2 = 0.97) e nitrato (r^2 = 0.97 e r^2 = 0.93) em superfície (FIGURA 18). No fundo, o silicato apresentou correlações positivas com temperatura (r^2 = 0,98) e salinidade (r^2 = 0,97), e negativas com nitrito (r^2 = -0,82) e oxigênio dissolvido (r^2 = -0,88). Já o fosfato apresentou correlação positiva com nitrito (r^2 = 0,86). As correlações com salinidade e temperatura salientam a possibilidade de alteração dos nutrientes inorgânicos com variações desses parâmetros.

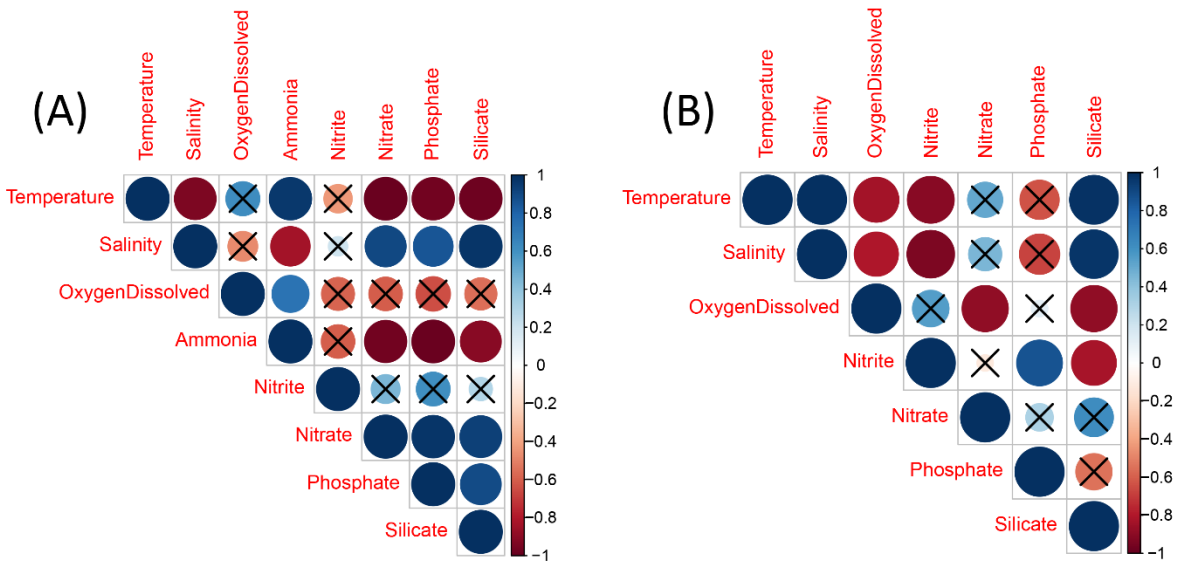


Figura 18: Correlação entre nutrientes inorgânicos e outros fatores físico-químicos de amostras de superfície (< 100 m) (A) e fundo (> 100 m) (B) em 2014. Cada círculo representa a correlação das variáveis encontradas nos eixos. O gradiente de cores e o tamanho dos círculos representam a correlação, sendo azul positiva e vermelho negativa. O X representa correlaçoes estatisticamente não significativas (p-valor > 0,05).

Os valores de nitrito e amônia foram baixos em toda a coluna d'água com concentrações menores do que 1 µM/L e 2 µM/L, respectivamente. Ambos também apresentação média maior em superfície (nitrito: $\bar{x}$ = 0,13±0,03 µM/L; amônia: $\bar{x}$ = 1,4±0,7 µM/L) do que na camada profunda (nitrito: $\bar{x}$ = 0,04±0,02 µM/L), sendo que a amônia apresentou valor nulo em todas as amostras das zonas meso- e batipelágicas. Valores similares de nitrito e o decaimento nas concentrações com o aumento da profundidade já

foram descritos nessa região no verão austral entre os anos de 1991-1992 por Dore e Karl (1992).

Os valores de nitrato, ao contrário do nitrito e amônia, foram elevados (> 11 µM/L) em toda a coluna d'água e apresentaram maiores concentrações nas zonas meso- e batipelágicas ($\bar{x}$ = 33,4±1,9 µM/L) do que em superfície ($\bar{x}$ = 18,1±2,9 µM/L). Os valores de nitrato encontrados na superfície foram condizentes com os descritos por Castro et al (2002) que realizou expedições em dezembro/95 e janeiro/96. Contudo, Castro et al (2002) demonstraram existir uma variação nos níveis de nitrato entre as regiões norte e sul do Estreito de Gerlache, que não foram encontradas no ano de 2015. Essa relação de aumento das concentrações de nitrato com a diminuição do nitrito e da amônia caracterizam o processo de nitrificação na região do Estreito de Gerlache, corroborado pela correlação negativa encontrada entre amônia e nitrato (r2 = -0,96).

Águas superficiais caracterizadas por altas concentrações de nitrito e amônia quando comparadas às águas profundas que apresentaram altas concentrações de fosfato, silicato e nitrato condiz com os dados encontrados por Signori et al (2014) em uma região próxima ao Estreito de Gerlache.

De acordo com Dortch e Whitledge (1992), para ser considerado limitante as concentrações de compostos nitrogenados (amônia, nitrito e nitrato), fosfato e silicato precisam apresentar valores menores do que 1, 0,2 e 2 µM, respectivamente. Assim, a amônia se apresentou como limitante nas amostras de fundo e na maioria das amostras de superfície, e o nitrito se apresentou como limitante em todas as amostras do Estreito de Gerlache (Tabela 2).

Tabela 2: Valores de nutrientes (amônia NH_3, nitrito NO_2^-, nitrato NO_3^-, fosfato PO_4^{3-} e silicato SiO_2) da água do mar. As amostras com asterisco (*) representam as amostras das zonas meso- e batipelágicas (> 100 m).

Estação	Código Amostra	Amônia [µM/L]	Nitrito [µM/L]	Nitrato [µM/L]	Fosfato [µM/L]	Silicato [µM/L]
G01	X97	1,38	0,07	15,7	0,41	27,33
G01*	X98*	0	0,06	32,19	1,44	44,64
G03	X95	1,96	0,16	19,6	0,6	31,29
G03*	X96*	0	0	35,23	1,44	47,16
G07	X56	0	0,18	21,48	0,7	21,76
G07	X64	0	0,1	30,97	1,05	38,42
G07	X83	1,34	0,09	17,99	0,79	30,04
G07*	X84*	0	0,05	34,04	1,61	36,38
G07	X118	0,34	0,16	18,28	1,04	33,06
G07	X127	0,36	0,12	27,11	1,14	57,36
G10	X93	1,24	0,14	18,08	0,65	28,16
G10*	X94*	0	0,05	33,84	1,62	33,84
G14	X55	0	0,15	22,48	0,66	24,67

G14	X63	0	0,09	30,61	0,98	31,18
G14	X81	1,92	0,14	22,07	0,99	30,94
G14*	X82*	0	0,02	29,73	1,37	33,77
G14	X117	0,37	0,17	20,85	1,18	24,97
G14	X126	0,35	0,13	26,99	1,2	54,23
G14	X136	0,33	0,15	19,61	1,12	57,55
G15	X91	2,35	0,12	11,99	0,31	30,67
G15*	X92*	0	0,07	35,16	1,52	40,15

Variações temporais nas concentrações de nutrientes também foram observadas. Silicato, fosfato e amônia apresentaram variações significativas (p-valor < 0,05) entre primavera e verão de 2014 e entre o período de primavera de 2013 e 2014.

As concentrações de silicato, que se apresentaram elevadas durante o verão na região de Gerlache, foram ainda maiores durante o período de primavera, atingindo médias de 29,3$\pm$6,5 µM/L em 2013 e 56,4$\pm$1,5 µM/L em 2014. Os altos valores de silicato na região do Estreito de Gerlache já foram reportados por anteriormente e, não são afetados pela atividade fitoplanctônica, pois a área é dominada por populações de Cryptomonas (Varela et al., 2002; Parra, Laurido e Sanchez 2020). A distribuição do fosfato foi similar ao silicato, com média maior durante a primavera de 2014 ($\bar{x} = 1{,}15$ µM/L) em relação ao verão ($\bar{x} = 0{,}7 \pm 0{,}3$ µM/L) e média maior na primavera de 2014 em relação ao mesmo período em 2013 ($\bar{x} = 0{,}85 \pm 0{,}2$ µM/L). Já a amônia apresentou média menor na primavera ($\bar{x} = 0{,}3 \pm 0{,}2$ µM/L) do que no verão de 2014 ($\bar{x} = 1{,}4 \pm 0{,}7$ µM/L), além de maiores médias em 2014 do que em 2013, quando os valores foram nulos em todas as amostras.

5.1.3 Fluorescência

Os valores de clorofila-a (mg/m^{-3}) não variaram significativamente (p-valor < 0,05) de maneira espacial entre as áreas norte e sul, porém tiveram uma variação significativa entre as zonas epipelágica e meso/batipelágica (com maiores valores em águas superficiais) e temporalmente, com média maior em 2014 ($\bar{x} = 1{,}94 \pm 0{,}5$ mg/m^{-3}) do que em 2015 ($\bar{x} = 1{,}18 \pm 0{,}5$ mg/m^{-3}). Os maiores valores de clorofila-a (> 2 mg/m^{-3}) foram encontrados nas amostras X91, X93 e X97, que pertencem às estações G15, G10 e G01, respectivamente (Tabela 3). Esses valores de clorofila-a são um pouco mais baixos do que os descritos por Castro et al (2002), que encontraram valores maiores do que 3 mg/m^{-3} em dezembro/95 e janeiro/96. Altas concentrações de biomassa fitoplanctônica (clorofila-a) em águas

superficiais também foram encontrados por Signori et al (2014) em uma região próxima ao Estreito de Gerlache.

Tabela 3: Valores de clorofila A (mg/m^{-3}) na superfície (< 100m) dos anos 2014 e 2015.

Estação	Ano	Código Amostra	Clorofila A ($mg.m^{-3}$)
G14	2014	X81	0,96
G07	2014	X83	1,97
G15	2014	X91	2,28
G10	2014	X93	2,34
G03	2014	X95	1,80
G01	2014	X97	2,29
G14	2015	X154	0,71
G01	2015	X170	1,57
G07	2015	X156	1,43
G13	2015	X160	1,25
G09	2015	X172	1,47
G13	2015	X206B	1,29
G04	2015	X174	0,58

5.1.4 El Niño e Oscilação Antártica

Todos os meses amostrados dos anos de 2013, 2014 e 2015 apresentaram fase positiva de SAM (Tabela 4), porém o mês de fevereiro de 2015 apresentou índice recorde (+4,92) quando comparado aos anos de 1981 a 2010 (Parra, Laurido e Sánchez, 2020). Algumas possibilidades enumeradas por esses autores que podem explicar o índice de fevereiro de 2015 incluem temperatura do ar mais fria, ventos circumpolares mais fortes e temperatura superficial do mar mais fria que a média, principalmente na região oeste da Antártica. Além disso, a fase positiva de SAM pode aumentar a intrusão da mCDW na Península Antártica, massa d'água relativamente quente que compõe a camada profunda (Ruiz-Barlett et al, 2018).

Foram encontradas diferenças significativas (p-valor < 0.05) de temperatura e salinidade entre amostras de fevereiro de 2014 e 2015, tanto em superfície, quanto em águas profundas. Em ambas as zonas pelágicas, 2015 apresentou média de temperatura mais fria e maior salinidade do que 2014. Contudo, as temperaturas mais frias encontradas em águas profundas em 2015 diferem de um possível aumento na intrusão da mCDW, que é uma massa d'água relativamente mais quente, no Estreito de Gerlache. Isso provavelmente deve-se ás características topográficas do Estreito de Gerlache que limitam a entrada da mCDW (García et al., 2002; Zhou, Niiler and Hu, 2002).

Tabela 4: Valores de SAM para os anos de 2013, 2014 e 2015. Em azul e negrito são destacados os valores dos meses abordados nesse estudo. Dados disponíveis em : *https://legacy.bas.ac.uk/met/gjma/sam.html*

	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
2013	0,71	2,84	2,31	-0,07	0,88	0,23	1,17	-3,25	-2,72	-1,39	**1,07**	0,77
2014	-0,13	**0,36**	**1,34**	1,18	-1,62	-0,21	0,68	1,97	-1,62	1,32	**0,35**	2,45
2015	1,35	**4,92**	**0,88**	2,03	0,41	2,41	2	1,86	1,91	-0,66	1,46	0,72

A primavera de 2013 e o verão seguinte de 2014 apresentaram valores negativos de ENSO (El Nino Southern Oscillation – ENSO) representando período de La Niña, enquanto que a primavera de 2014 e o verão seguinte de 2015 apresentaram valores positivos, representando um período de El Niño. O ano de 2015 apresentou forte ENSO (Tabela 5), porém seu pico ocorreu em novembro e dezembro de 2015, com valores menores nos meses de coleta das amostras. Os efeitos do El Niño na Antártica têm sido associados com anomalias na extensão, derretimento e afinamento da camada de gelo marinho (Pope et al, 2017), e da plataforma de gelo (Walker and Gardner, 2017; Deb et al, 2018; Scott et al, 2019).

Tabela 5: Valores de ENSO para os anos de 2013, 2014 e 2015. Em azul e negrito, são destacados os valores dos meses abordados nesse estudo.

	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
2013	-0,4	-0,4	-0,3	-0,3	-0,4	-0,4	-0,4	-0,3	-0,3	-0,2	**-0,2**	-0,3
2014	-0,4	**-0,5**	**-0,3**	0	0,2	0,2	0	0,1	0,2	0,5	**0,6**	0,7
2015	0,5	**0,5**	**0,5**	0,7	0,9	1,2	1,5	1,9	2,2	2,4	2,6	2,6

5.2 Riqueza e diversidade das comunidades microbianas

No total, foram observadas 1279 ASVs, com 1139 pertencentes ao domínio Bacteria e 64 ao domínio Archaea. Com a amplificação do gene 16S RNAr também foi possível a identificação de forma limitada de organismos eucarióticos fotossintetizantes, já que cloroplastos são descendentes evolucionários de bactérias e também contam com a presença desse gene (Hanshew et al, 2013). Foram encontradas 62 ASVs referentes ao domínio Eukarya, que podem ser observadas no Apêndice B. Para as próximas análises, as ASVs de cloroplastos foram filtradas, totalizando 1217 ASVs.

5.2.1 Alfa-diversidade

O número de ASVs observadas variou de 116 a 392 entre as amostras. Os índices de riqueza de espécies variaram entre 121,1 e 405,4 para Chao1, e entre 120,3 e 406,5 para ACE.

Os padrões de variação dos três índices (ASVs observadas, Chao1 e ACE) foram semelhantes em todas as análises. Os índices de diversidade variaram de 2,9 á 4,4 para Shannon e de 0,88 a 0,9 para Simpson. A amostra X97 foi retirada no processo de rarefação.

A maior riqueza (ASVs Observadas, Chao1 e ACE) foi encontrada na amostra X173 (Figura 19), amostra do período de verão de 2015 em zona batipelágica com a maior profundidade amostrada nesse estudo (1095 m). As maiores diversidades foram encontradas nas amostras X157, amostra profunda (798 m) do verão de 2015 para Shannon, e X136 de superfície e primavera de 2014 para Simpson (Figura 20). Os índices de Shannon e Simpson se diferenciam no peso que dão para táxons raros e abundantes (Marrugan, 1998), sendo portanto que a amostra X157 tem maior diversidade contando com espécies raras, enquanto que a amostra X136 tem maior diversidade ao se dar mais peso aos táxons dominantes. A menor riqueza e diversidade para todos os índices foi encontrada na amostra X95, coletada em superfície no verão de 2014. Todos os valores dos índices de riqueza e diversidade por amostra são apresentados no Apêndice C.

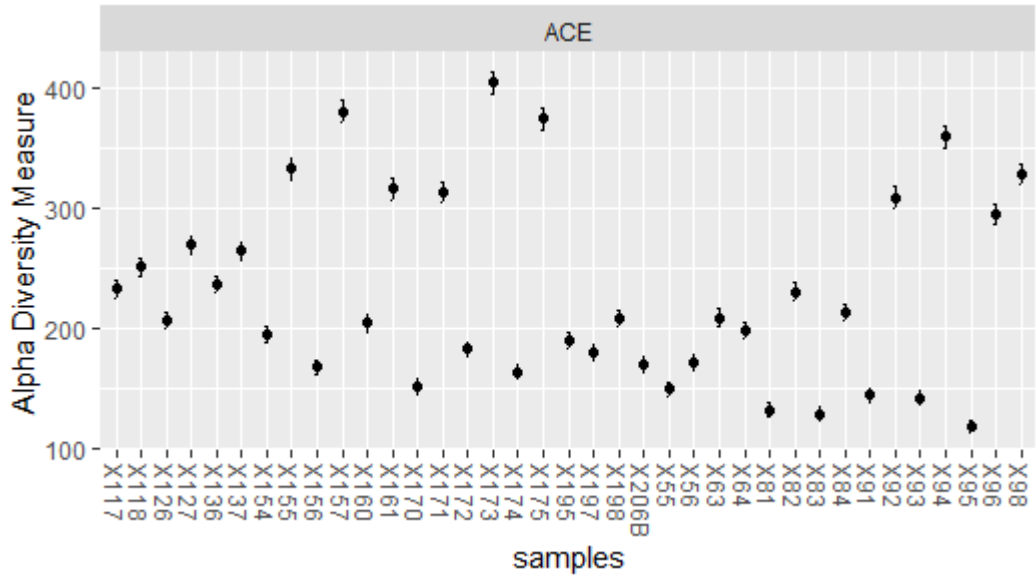


Figura 19: Índice de riqueza de ACE por amostra na região do Estreito de Gerlache.

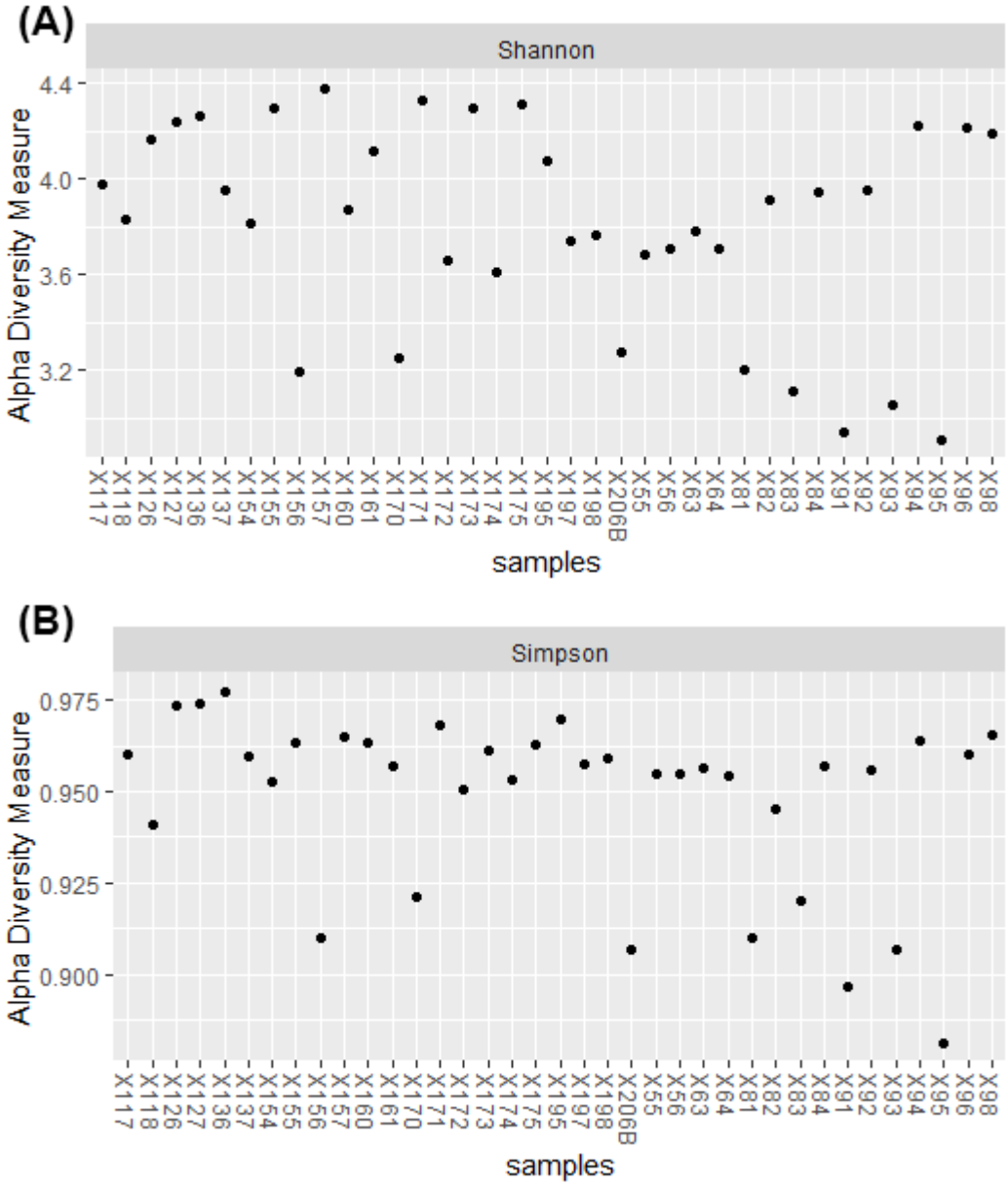


Figura 20: Índices de diversidade de Shannon (A) e Simpson (B) por amostra na região do Estreito de Gerlache

Com as amostras agrupadas por zona pelágica e sazonalidade, os índices de riqueza foram maiores nas amostras abaixo de 100 m, sendo as amostras de fundo do ano de 2015 as que apresentaram maiores valores para todos os índices de riqueza (Figura 21).

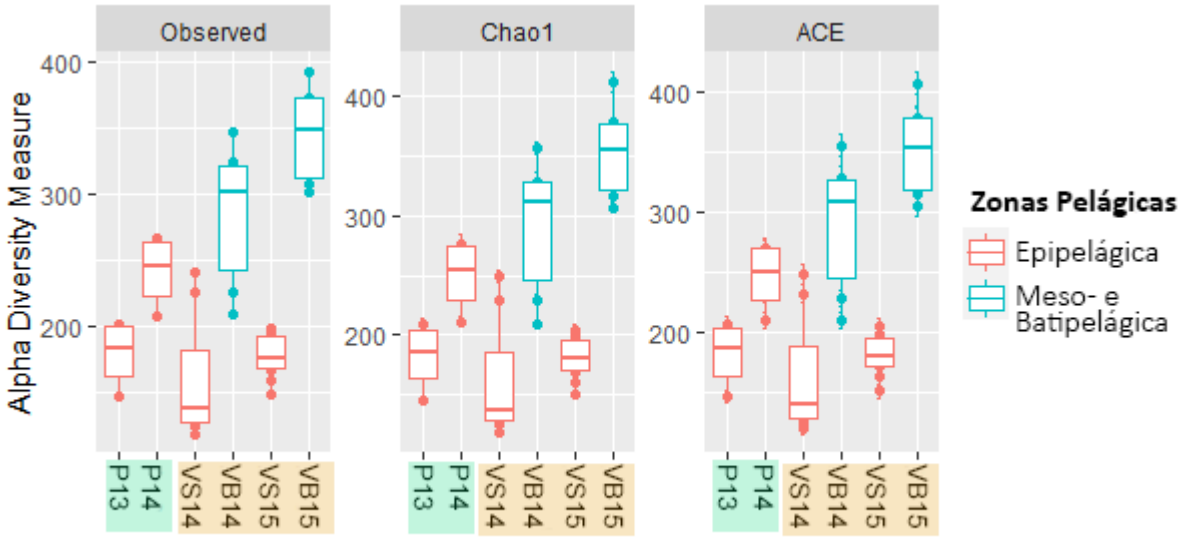


Figura 21: Índices de riquezas (ASVs Observadas, Chao1 e ACE) nas amostras agrupadas por zona pelágica (rosa = epipelágica, azul = meso/batipelágica) e estação sazonal (verde = primavera, laranja = verão) na região do Estreito de Gerlache.

Para os índices de diversidade, amostras mais profundas de 2015 também apresentaram maior índice de Shannon. Contudo, o índice de Simpson apresentou maior diversidade para amostras de superfície da primavera de 2014. Possivelmente, amostras de fundo de 2015 possuem maior diversidade de táxons raros, enquanto que as amostras de superfície da primavera de 2014 possuem maior diversidade de táxons dominantes.

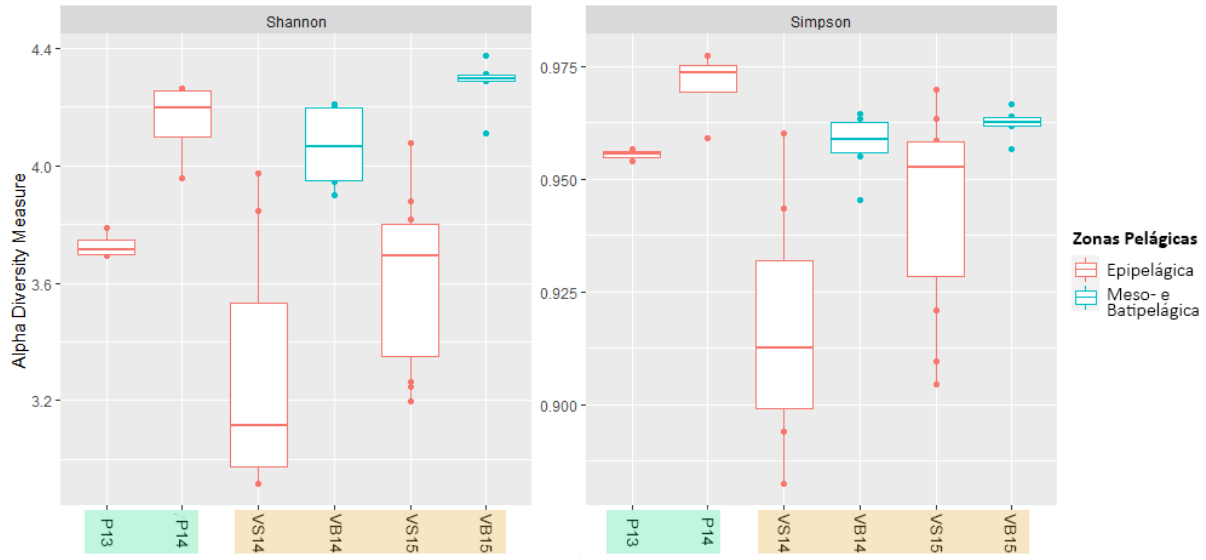


Figura 22: Índices de diversidade (Shannon e Simpson) nas amostras agrupadas por zona pelágica (rosa = epipelágica, azul = meso/batipelágica) e sazonalidade (verde = primavera, laranja = verão) na região do Estreito de Gerlache.

Sazonalmente, foram analisadas apenas as amostras de superfície. Para melhor visualização, as amostras foram agrupadas apenas entre as duas estações (Figuras 24 e 25). A primavera apresentou-se mais rica e diversa em relação às amostras de verão. Esses resultados foram similares aos encontrados por Luria et al (2016) e Signori et al (2018) em regiões próximas ao Estreito de Gerlache, que encontraram índices de alfa-diversidade mais elevados na primavera e menores no verão, principalmente associados às florações de fitoplâncton.

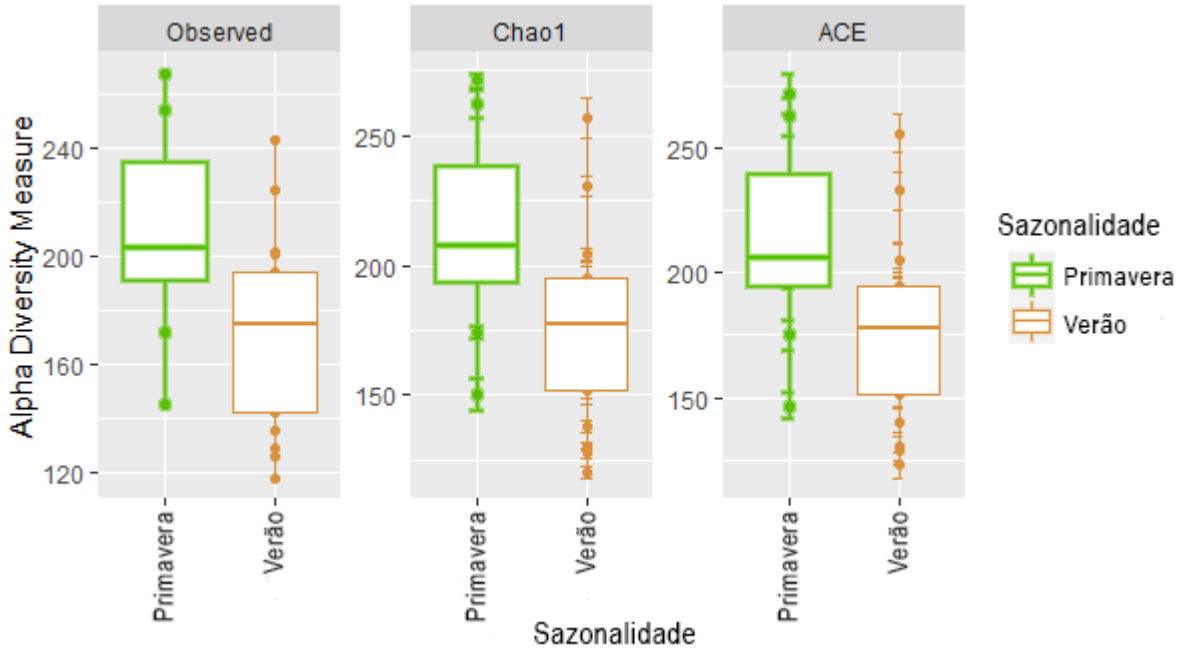


Figura 23: Índice de riqueza (ASVs Observadas, Chao1 e ACE) entre as amostras de superfície agrupadas por sazonalidade (primavera x verão).

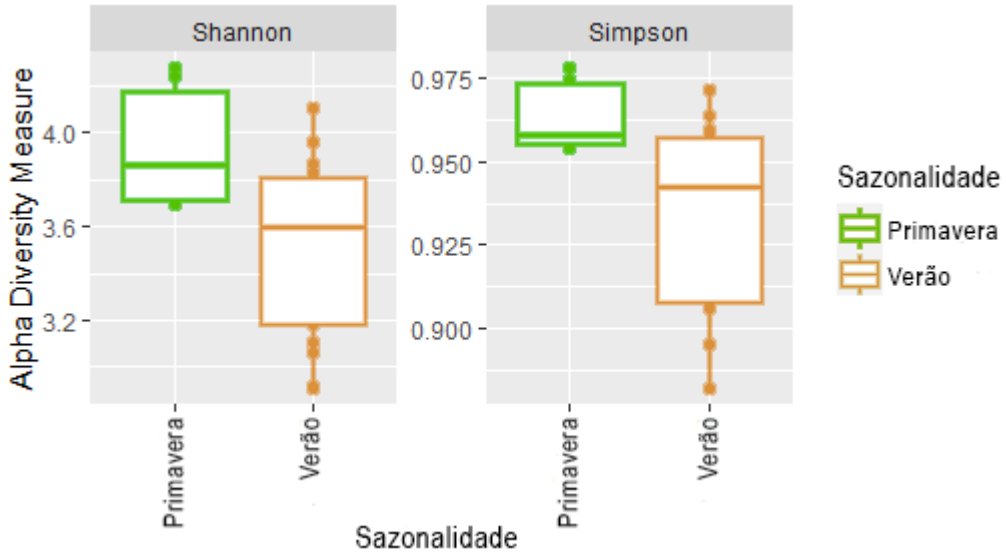


Figura 24: Índice de diversidade (Shannon e Simpson) entre as amostras de superfície agrupadas por sazonalidade (primavera x verão).

5.2.2 Beta-diversidade e correlação das comunidades microbianas com parâmetros ambientais

Ao avaliar a variância na composição das comunidades do Estreito de Gerlache, foi aplicada a análise de PERMANOVA (adonis) entre possíveis categorias de agrupamento (área, zonas pelágicas, estações sazonais, e temperatura). A estrutura da comunidade microbiana foi significativamente (p-valor < 0,05) influenciada pelas zonas pelágicas (epipelágico x meso/batipelágico), sazonalidade (primavera x verão) e temperatura (abaixo x acima de 0°C) (Apêndice D). Entre áreas (norte x sul) o teste adonis não foi significativo, revelando que esse fator espacial não é determinante para a composição das comunidades microbianas do Estreito de Gerlache.

A variação das comunidades microbianas sazonalmente e verticalmente na coluna d'água já foi descrita em locais na PAO próximos ao Estreito de Gerlache por Signori et al (2014, 2018) e Luria et al (2017). Através da expedição TARA Oceans, foi possível avaliar a estrutura e função da microbiota pelágica de diversas regiões do oceano global, onde os autores encontraram a profundidade como o principal fator que determina a estrutura de comunidades microbianas, explicando até 73% da variação da composição (Sunagawa, 2015).

A análise de clusterização através das distâncias métricas UNIFRAC weighted revelaram um agrupamento das amostras em relação à profundidade (Figura 24), agrupamento comprovado pelo teste adonis (Apêndice D). Também é possível visualizar uma pequena clusterização das amostras de primavera de 2013 e das amostras de primavera de 2014, com exceção da amostra X136 (Figura 25). A clusterização entre zonas pelágicas reflete as diferenças de comunidades existentes relacionadas as diferenças físico-químicas associadas com as massas d'água e já foi descrita em outros locais da PAO (Luria et al, 2014, Signori et al, 2014). A clusterização das amostras de primavera também refletem as diferenças físico-químicas que influenciam as comunidades microbianas, nesse caso, associadas à sazonalidade e diferenças entre os anos de 2013 e 2014. Essa diferença de comunidades associada à sazonalidade também já foi descrita nas comunidades microbianas da PAO por Grzymski et al (2012), Luria et al (2014) e Signori et al (2018). A amostra X97 aparece isolada de todas as outras amostras, o que pode estar relacionado ao baixo número de ASVs recuperadas (26) em relação as outras amostras (média 228 ASVs/amostra).

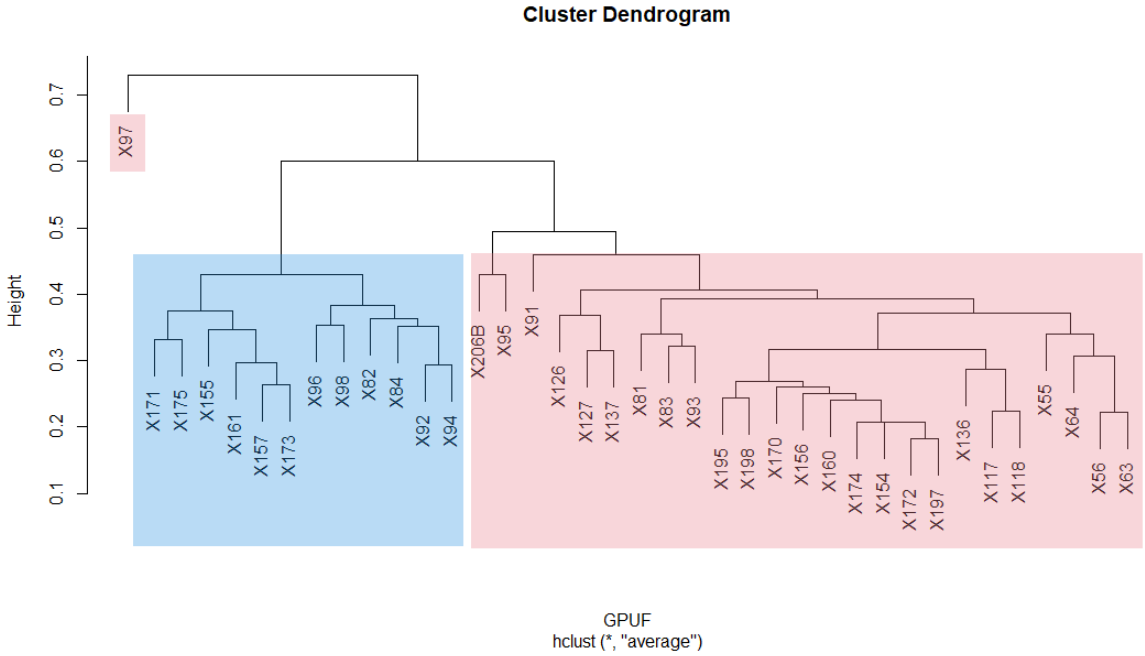


Figura 25: Dendograma gerado através do índice de Unifrac Weighted e clusterizaçãodas amostras microbianas pelo método UPGMA. Azul = Amostras profundas (> 100 m), Rosa = Superfície (< 100 m).

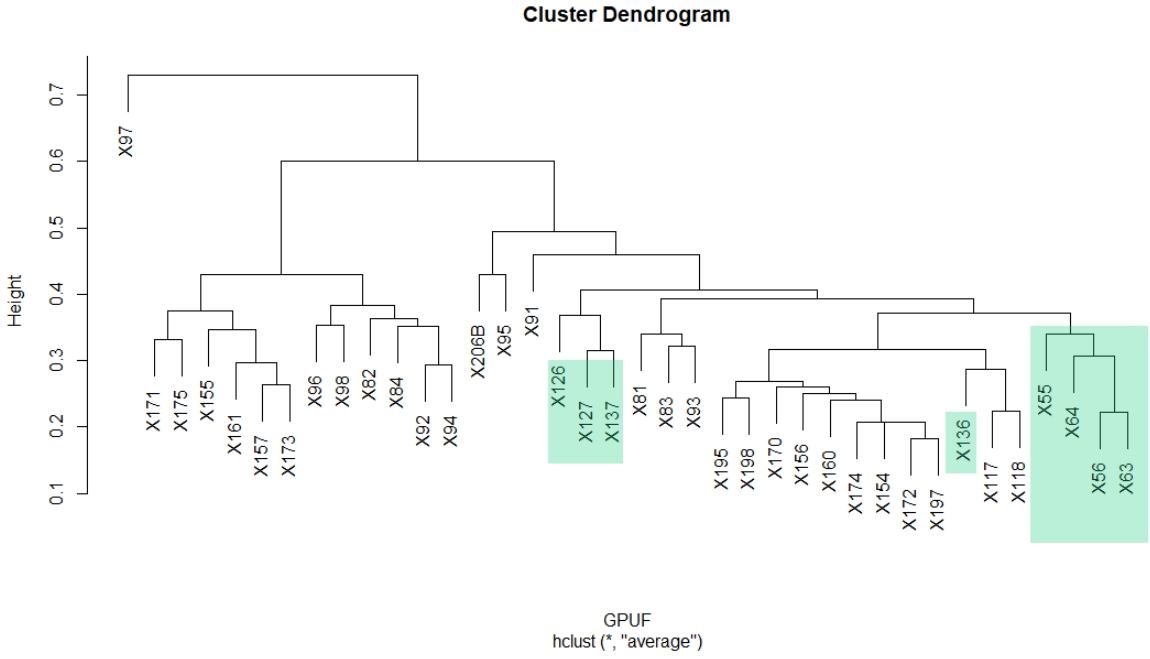


Figura 26: Dendograma gerado através do índice de Unifrac Weighted e clusterização das amostras microbianas pelo método UPGMA. Verde = Primavera 2013 e 2014; Sem marcação = Verão 2014 e 2015.

Essa análise foi corroborada pela análise de escalonamento multidimensional não-métrico (nMDS) usando matriz de dissimilaridade de Bray-Curits, que agrupou as amostras em zonas pelágicas (Figura 26). Com exceção do oxigênio dissolvido, todos os outros parâmetros ambientais plotados no nMDS foram significativos (p-valor < 0,05) em relação à

composição microbiana (Apêndice E). Diversos estudos prévios encontraram parâmetros ambientais significativos para a estrutura das comunidades microbianas em diferentes locais na PAO (Luria et al, 2014; Signori et al, 2014). Todos encontraram a salinidade como um dos principais parâmetros (Luria et al, 2014; Signori et al, 2014), porém o grau de significância dos outros parâmetros parece divergir conforme o local. Além da salinidade, Signori et al (2014) encontraram o nitrato e oxigênio dissolvido como os principais parâmetros no Estreito de Bransfield. Luria et al (2014) analisaram a área da PAO e encontraram o silicato, além da salinidade, como fatores principais. Nesse estudo, as maiores correlações e mais significativas (p-valor < 0.01) foram observadas em relação à salinidade (r^2 = 0,89), temperatura (r^2 = 0,86) e nitrito (r^2 = 0,92).

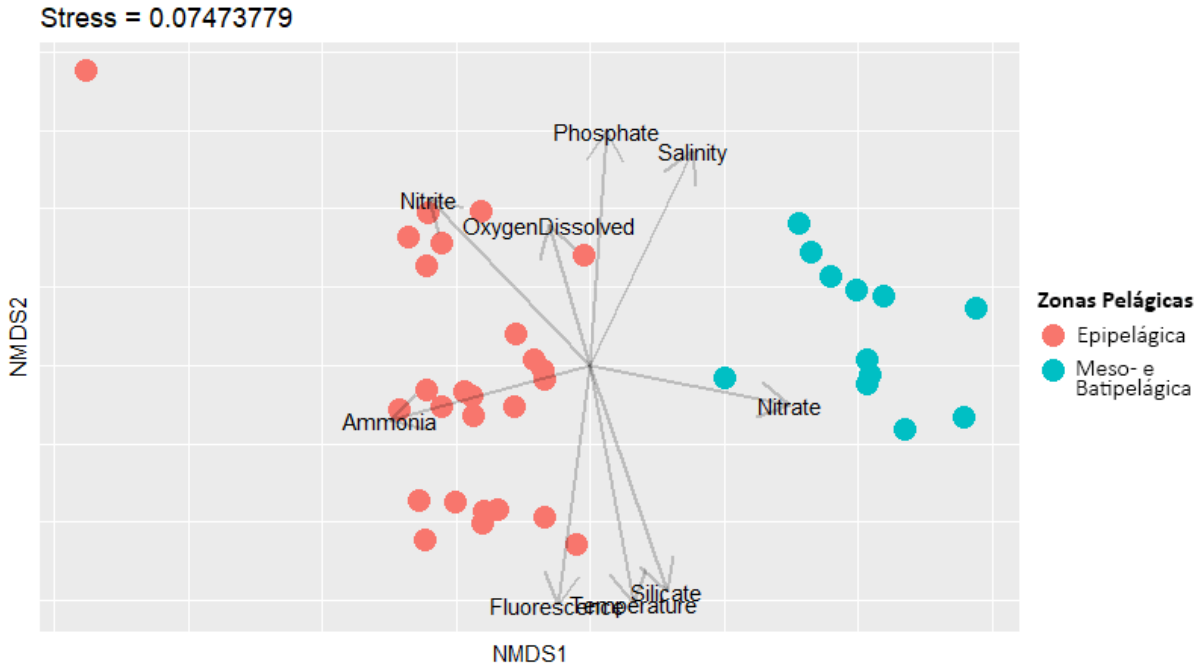


Figura 27: Escalonamento multidimensional não-métrico (NMDS) da beta-diversidade das amostras, calculada pela distância de Bray-Curtis. Círculos rosas representam amostras coletadas em superfície (< 100 m) e círculos azuis representam amostras coletadas em águas profundas (> 100 m). Cada seta representa um gradiente ambiental correlacionado á ordenação. A seta aponta para a direção do gradiente no ambiente e seu tamanho é proporcional à correlação entre ordenação e variável ambiental.

As análises de correlação entre os índices de alfa-diversidade (ASVs Observadas, Chao1, ACE, Shannon, Simpson) e os principais parâmetros ambientais (Figuras 27 e 28), selecionados a partir da análise de nMDS, resultaram em valores significativos de temperatura e tendência de diminuição de diversidade com o aumento da temperatura. Os índices de riqueza decresceram com o aumento das concentrações de nitrito. A salinidade apresentou correlações significativas com todos os índices estudados, além de uma tendência de aumento

de riqueza e diversidade com o aumento da salinidade. Os outros parâmetros que se mostraram significativos (fluorescência, amônia, nitrato, fosfato e silicato) também foram significativos para todos os índices (Apêndices F e G). Observou-se uma tendência de aumento de riqueza e diversidade com o aumento das concentrações de nitrato, fosfato e silicato, e com a diminuição de clorofila-a e amônia.

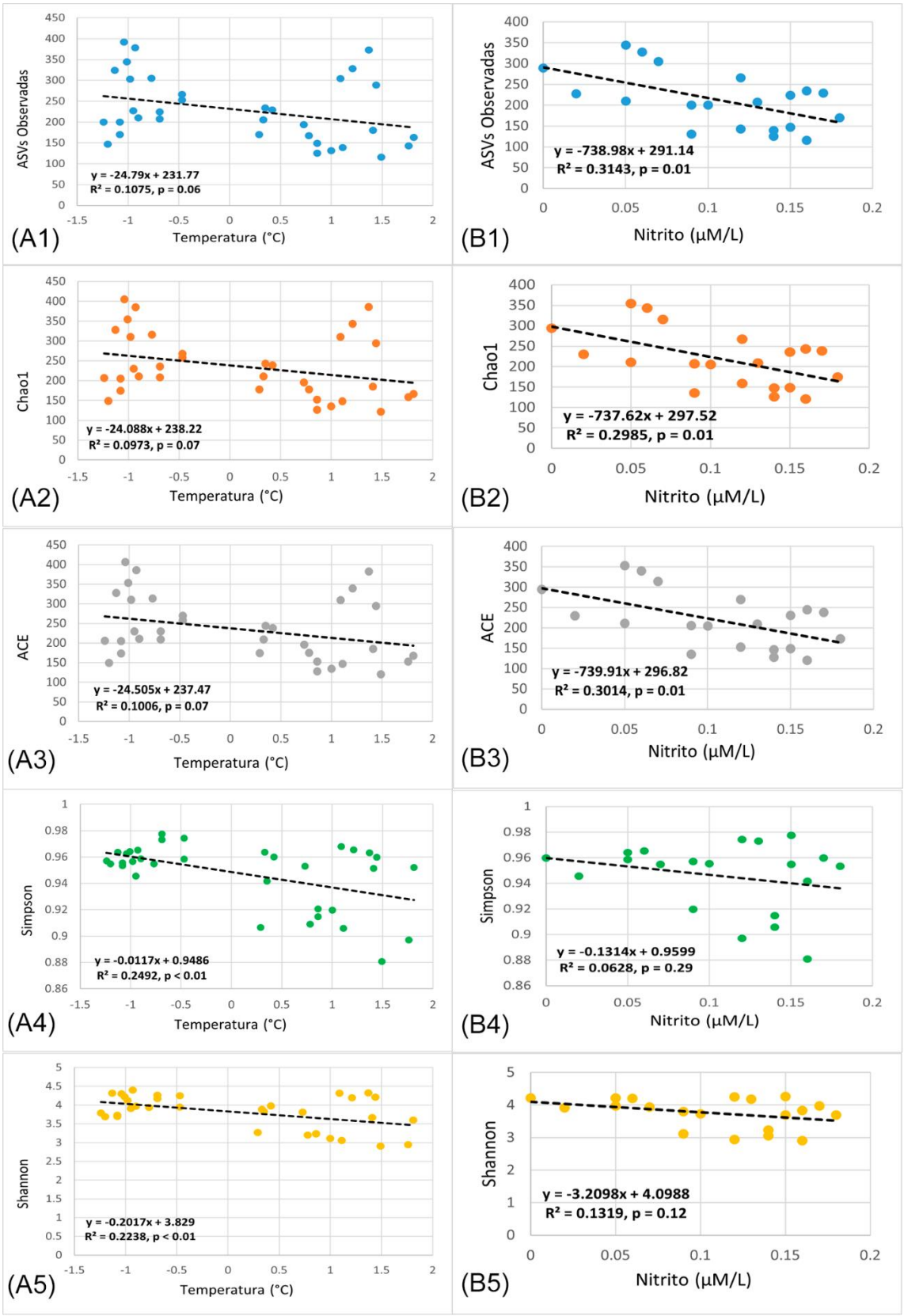


Figura 28: Análises de regressão linear entre os índices de alfa-diversidade (ASVs Observadas, ACE, Chao1, Simpson e Shannon) com temperatura (°C) (A1-A5) e nitrito (µM/L) (B1-B5). As informações estatísticas podem ser encontradas no canto inferior esquerdo.

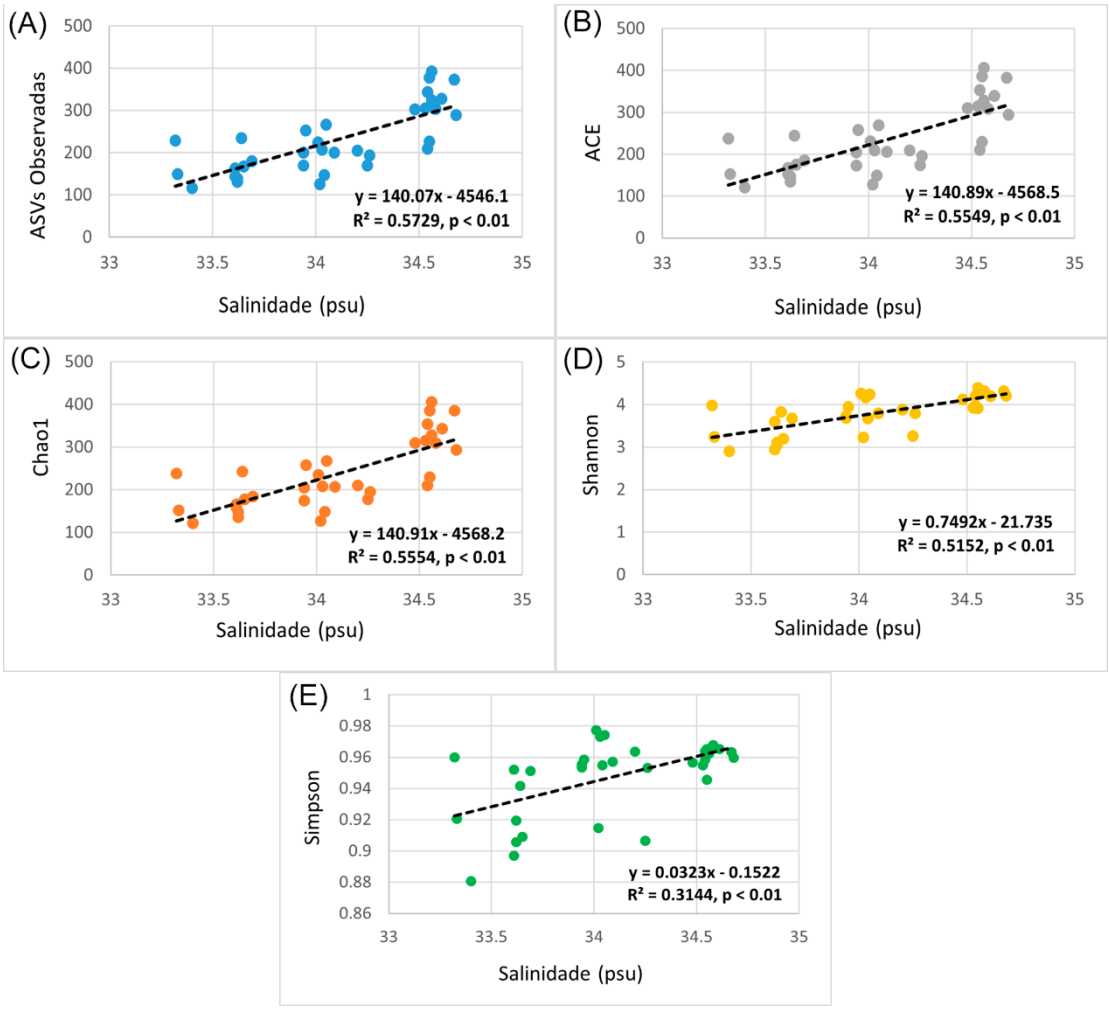


Figura 29: Análise de regressão entre salinidade (psu) e índices de alfa-diversidade ASVs Observadas (A), ACE (B), Chao1 (C), Shannon (D) e Simpson (E), com as informações estatísticas no canto inferior direito.

5.3 Composição das comunidades microbianas no Estreito de Gerlache

5.3.1 Microbioma Central

Cerca de 19 ASVs foram compartilhadas entre todas as amostras (Quadro 1), compondo o o microbioma central do Estreito de Gerlache. Todas as ASVs pertencem ao domínio Bacteria e a quatro classes: Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Bacteroidia e Cyanobacteriia.

Quadro 1: Microbioma central: táxons compartilhados entre todas as amostras do Estreito de Gerlache e classificação taxonômica em nível de gênero.

Filo	Classe	Ordem	Família	Gênero
				Sulfitobacter
				Planktomarina
		Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	*Planktomarina*
	Alphaproteobac.			*Ascidiaceihabitans*

Proteobacteria		Puniceispirillales	SAR116	*SAR116*
		Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	*Sphingomonas*
		SAR11	Clade_IV	*Clade_IV*
	Gammaproteobac.	Thiomicrospirales	Thioglobaceae	*SUP05*
		Oceanospirillales	Nitrincolaceae	*Uncultured*
				Uncultured
		Cellvibriones	Porticoccaceae	*SAR92*
		SAR86_clade	SAR86	*SAR86*
Bacteroidota	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	*Polaribacter*
				Polaribacter
				Ulvibacter
			NS9 marine group	*NS9*
			Cryomorphaceae	*Uncultured*
Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Chloroplast	Chloroplast	*Chloroplast*

Dentre 19 ASVs, cinco pertencem à família Rhodobactereaceae. Essa família de heterótrofos exclusivos é amplamente distribuída no ambiente marinho (Giovannoni e Rappé, 2000), sendo muito abundante na zona pelágica (Haggerty e Dinsdale, 2017). Possui alta diversidade ecológica, abrangendo diversos metabolismos envolvidos nos ciclos do carbono e enxofre, como oxidação de enxofre, fotossíntese anoxigênica aeróbica, oxidação de monóxido de carbono e produção de metabólitos secundários (Pujalte et, 2014). Além disso, podem viver em simbiose com organismos eucarióticos (Pujalte et al, 2014; Dogs et al, 2017).

Os táxons SAR11 (subgrupo IV), SAR116 e SAR86 são bactérias heterotróficas cosmopolitas da superfície do oceano global (Dupont et al, 2012; Giovanni, 2017; Roda-Garcia et al, 2021). SAR11 pode ser dividido em 9 subgrupos, porém todos os membros oxidam carbono e tem uma função-chave no ciclo marinho do carbono (Giovanni, 2017). Dupont et al (2012) sugeriram que membros de SAR 116 têm um papel no ciclo do enxofre no processo de metabolização de dimethylsulfoniopropionate (DMSP). O DMSP é um composto de enxofre produzido pelo fitoplâncton, que é degradado por bactérias marinhas liberando dimeltilsulfeto (DMS), peça chave no ciclo do enxofre (Yoch, 2002). SAR86 tem sua distribuição associada à temperatura e possui otimização metabólica voltada para alguns compostos de carbono diferentes dos utilizados por outros táxons cosmopolitas de superfície oceânica, como SAR11 (Roda-Garcia et al, 2021).

Membros da família Sphingomonadaceae são estritamente aeróbicos, quimioheterótrofos (Yabuuchi et al, 2005) e amplamente encontrados na natureza (Vaz-Moreira et al, 2011). Dentre os membros encontrados em ambientes marinhos, detacam-se os do gênero *Sphingomonas,* geralmente associados a outros organismos eucarióticos (Glaeser e Kämpfer, 2014). Além disso, microrganismos desse gênero têm habilidade de degradar

compostos recalcitrantes tanto de origem natural, quanto antropogênica (ex. bifenil, naftaleno, fluoreno, e variantes desses compostos) (Glaeser e Kämpfer, 2014).

A família Thioglobaceae (subgrupo SUP05) é composta por membros autótrofos e heterótrofos (Morris e Spietz, 2022). Os membros autótrofos são associados a organismos eucariotos e ambientes quimiossintéticos, como as fontes hidrotermais de mar profundo, onde realizam a oxidação de sulfeto ou metano, atuando como uma fonte de carbono (Rubin-Blum et al., 2019; Zhou et al., 2019, Georgieva et al, 2020). Os membros heterotróficos são comuns nos oceanos e usam osmólitos produzidos pelo fitoplâncton para o crescimento (Morris e Spietz, 2022).

A família Porticoccaceae é encontrada em alta abundância em áreas costeiras (Spring et al, 2015), possui genes associados à degradação de hidrocarbonetos, principalmente na degradação inicial de n-alcanos e degradação de compostos aromáticos (Ribicic et al, 2018). O grupo SAR92 dessa família possui metabolismo fotoheterotrófico (Stingl et al, 2007) e já foi associado a florações de fitoplâncton, principalmente *Phaeocystis* (Assmy et al, 2017). A família Nitrincolaceae (anteriormente Oceanospirillaceae) também é encontrada em ambientes marinhos, no sedimento, coluna d'água ou em simbiose com animais, com algumas espécies associadas à degradação de hidrocarbonetos (Satomi e Fujii, 2014).

A Classe Bacteroidia contou com representantes de três famílias. A família Flavobacteriaceae é um dos principais grupos filogenéticos do filo Bacteroidetes e conta com mais de 140 gêneros (Li et al, 2021), assim, apresenta diversas funções ecológicas e características fisiológicas (Bernardet e Nakagawa, 2006). Essa família pode ser encontrada em diversos ecossistemas marinhos ou associada com organismos eucarióticos (Abell e Bowman, 2005). É principalmente aeróbica, quimiorganotrófica e exerce um papel na degradação da matéria orgânica e ciclos de nutrientes nos oceanos (Bernardet e Nakagawa, 2006). Os principais gêneros que apareceram foram *Polaribacter* e *Ulvibacter*. O gênero *Polaribacter* é psicrófilo e comumente isolado de ambientes marinhos (Yoon, 2017). Membros desse gênero podem degradar polímeros de carboidrato e possue rodopsinas, por isso acredita-se que tenha uma importante função no equilíbrio iônico de ecossistemas marinhos (Beja et al, 2001; Yoon, 2017). O gênero *Ulvibacter* é quimioheterotrófico, aeróbico e já foi encontrado na costa da Antártica (Choi et al, 2007) e associado a algas (Nedashkovska et al, 2004).

O Grupo Marinho NS9 e outros táxons como os gêneros *Ulvibacter* e *Polaribacter* da família Flavobacteriaceae são descritos associados a blooms de fitoplâncton, onde ocorre uma sucessão de clados para o consumo progressivo da matéria orgânica provenientes de algas

(Díez-Vives, 2019). A família Cryomorphaceae é principalmente marinha, contendo alguns gêneros associados a ecossistemas de baixa salinidade (Bowman, 2014). A maioria dos membros é aeróbico ou anaeróbico facultativo, quimioorganotrófico (Bowman, 2014). Não são degradadores primários, porém contribuem de maneira secundária no processo, já sendo descritos no Oceano Austral associados à neve marinha (Bowman et al. 2014).

Por último, representantes de Cyanobacteria (gênero *Phaeocystis*) são relevantes em diferentes áreas da costa Antártica, inclusive no Estreito de Gerlache, contribuindo para a produção primária através de extensivas florações (Rodríguez et al, 2002), associados com a dinâmica de gelo marinho (Estrada e Delgado, 1990; Rodríguez et al, 2002; Selz et al, 2018).

A maioria dos táxons citados já foram descritos em regiões próximas ao Estreito de Gerlache (Luria et al, 2014; Signori et al, 2014; Vescovo et al, 2014; Signori et al, 2018; Ferreira, 2019; Liu et al, 2020; Ozturk et al, 2022). A família Porticoccaceae foi descrita apenas por Ferreira (2019), associada a geleiras, e por Sow et al (2022), principalmente no setor indiano do Oceano Austral. A família Sphingomonadaceae foi descrita apenas por Vescovo et al (2014), encontrada nas águas próximas à Potter Cove na Ilha Rei George.

A análises entre ASVs exclusivas e compartilhadas foi realizada nas categorias que se mostraram significativas estatisticamente ($p < 0,05$) no teste adonis (Apêndice D) para a variação das comunidades microbianas do Estreito de Gerlache:

Entre as zonas pelágicas, apenas duas ASVs foram exclusivas da camada superficial ou epipelágica, e 77 foram exclusivas de águas profundas ou meso/batipelágicas (Figura 29). As duas ASVs exclusivas de superfície pertencem ao domínio Bacteria, porém apenas uma foi classificada em nível taxonômico mais refinado, pertencendo à família Methylophilaceae. A família Methylophilaceae realiza metilotrofia, sendo capaz de crescer e converter de maneira aeróbica compostos como metanol, metilaminas e diclorometano (Doronina et al, 2014).

Das 77 ASVs exclusivas das zonas meso- e batipelágicas, 17 pertencem ao domínio Archaea e 60 pertencem ao domínio Bacteria. As 17 ASVs que pertencem ao domínio Archea foram divididas em duas famílias: Nitrosopumilaceae do filo Crenarchaeota e Marine Group II do filo Thermoplasmatota.

As 60 ASVs do domínio Bacteria foram divididas em 34 famílias e 11 classes: Gammaproteobacteria (SAR86, Thioglobaceae, Halieaceae, OM182, Nitrincolaceae, Methylophilaceae, Methylophagaceae, HOC36, Nitrosomonadaceae, Colwelliaceae, Alteromonadaceae, Thiotrichaceae, Psychromonadaceae, Shewanellaceae, grupo marinho UBA10353), classe Bacteroidia (Cryomorphaceae, Flavobacteriaceae, Cyclobacteriaceae),

classe Actinobacteriota (Microtrichaceae), classe Verrumicrobiae (Rubritaleaceae, grupo marinho ártico 97B-4 e Pedosphaeraceae), classe Nitrospinia (Nitrospinaceae), classe Pnactomycetes (Pirellulaceae, OM190, e Phycisphaeraceae), filo Gemmatimonadota (grupo terrestre BD2-11), classe Alphaproteobcateria (Rhodobacteraceae, Caulobacteraceae, e as ordens SAR11 e Defluviicoccales), além das famílias NB1-j, Marinimicrobia (SAR406) e o grupo marinho SAR324, onde cada participa de um filo do mesmo nome da família.

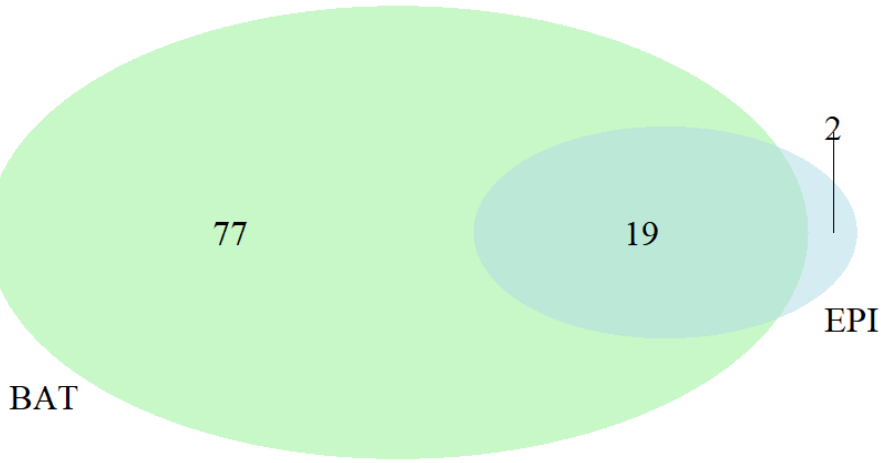


Figura 30: Diagrama de Venn com ASVs exclusivas e compartilhadas entre zonas pelágicas: águas superficiais ou epipelágica (EPI) e águas profundas ou meso/batipelágicas (BAT).

Com relação à sazonalidade (Figura 30), dentre as amostras mais superficiais dos dois períodos, foram encontradas 21 ASVs compartilhadas, que são as 19 do microbioma central e as duas exclusivas de superfície. Foram encontradas 68 ASVs exclusivas apenas no período de primavera, sendo três Archaea, 64 Bacteria e uma ASV não identificada. As três Archaea pertencem à família Nitrosopumilaceae. Das 64 ASVs de Bacteria, 9 ficaram limitadas ao domínio e as demais foram divididas em cinco classes (Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Bacteroidia, Acidimicrobiia e Cyanobacteriia).

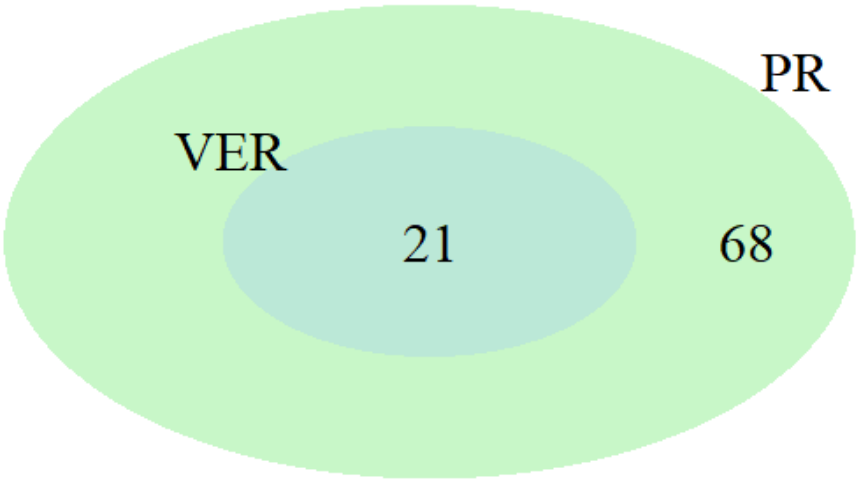


Figura 31: Diagrama de Venn com ASVs exclusivas e compartilhadas entre amostras mais superficiais de acordo com a sazonalidade: verão (VER) e primavera (PR).

Com relação à categoria de temperatura (abaixo e acima de 0°C), foram encontradas 28 ASVs exclusivas apenas na categoria temperaturas abaixo de 0°C (Figura 31). Das 28 ASVs exclusivas, três pertencem ao domínio Archaea e 25 ao domínio Bacteria. As três ASVs de Archaea pertencem à família Nitrosopumilaceae. As ASVs de Bacteria estão divididas em quatro classes e 17 famílias, são elas: Alphaproteobacteria (Rhodobacteraceae, Magnetospiraceae, Caulobacteraceae, Grupo 2 e outra família não identificada de SAR11, uma família não-cultivada da ordem Defluviicoccales e uma família não-cultivada da ordem Kordiimonadales), classe Gammaproteobacteria (Thiotrichaceae, Nitrincolaceae, HOC36, Halieaceae, Methylophilaceae, Methylophagaceae, OM182, Nitrosomonadaceae), Bacteroidia (Flavobacteriales) e classe Acidimicrobiia (Microtrichaceae).

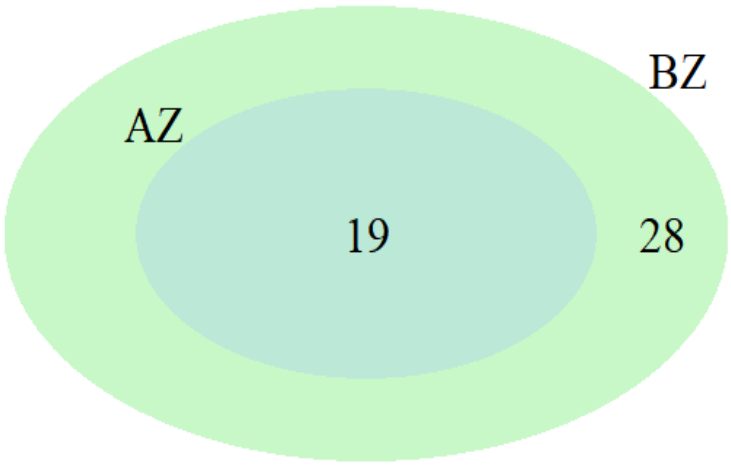


Figura 32: Diagrama de Venn com ASVs exclusivas e compartilhadas entre categorias de temperatura: Acima de 0°C (AZ) e Abaixo de 0°C (BZ).

5.3.2 Táxons mais abundantes em nível de Família

As famílias mais abundantes de Bacteria foram Flavobacteriaceae (classe Bacteroidia), Cyanobacteria, Rhodobacteraceae (classe Alphaproteobacteria), Thioglobaceae e Nitrincolaceae (classe Gammaproteobacteria). As famílias mais abundantes de Archaea foram Nitrosopumilaceae (classe Nitrososphaeria) e Marine Group II (classe Thermoplasmata). Juntas, essas famílias correspondem a 74,99% da abundância do microbiana no Estreito de Gerlache (Figura 32).

A Cyanobacteria (espécie *Phaeocystis antarctica*) foi o táxon mais abundante (17,18%), compondo mais de 10% em 19 das 38 amostras. Mendes et al (2017) analisaram as comunidades fitoplanctônicas no Estreito de Gerlache nos verões de 2013, 2014 e 2015 e encontraram *Phaeocystis* como um componente importante do fitoplâncton marinho principalmente em 2013. *Phaeocystis* também já foi descrita como dominante na região do Mar de Ross durante o período de primavera, associada a camadas superficiais de mistura mais profundas (Smith et al, 2010). A segunda família mais abudante foi Flavobacteriaceae (16,91%), seguida pelas famílias Rhodobacteraceae e Nitrincolaceae, que correspondem a 12,29% e 10,45% da composição, respectivamente. Essas quatro famílias apareceram com alta abundância relativa (>10%) preferencialmente em amostras da zona epipelágica.

As únicas amostras de zona epipelágica que não apresentaram uma grande quantidade de Cyanobacteria foram X81, X83, X91, X93, X95, X97. A amostra X206B também apresentou um perfil diferente de abundância, com maior presença de Nitrincolaceae do que de Cyanobacteria ou Flavobacteriaceae. Ainda, Rickettsiales aparece como praticamente ausente nessa amostra, além de apresentar maior quantidade de SAR86 e Thioglobaceae. Essa amostra representa o máximo de fluorescência e foi coletada aos 25 m de profundidade, o que pode explicar essa diferença das outras amostras de superfície.

A família Thioglobaceae (7,78%) apresentou maior abundância relativa em amostras da zona meso/batipelágica, participando com mais de 10% na composição de todas as amostras com mais de 100 m de profundidade. As únicas amostras de zona epipelágica em que essa família teve maior abundância relativa (> 10%) foram X206B e a X154. As duas famílias de Archaea, Nitrosopumilaceae (7,06%) e Marine Group II (3,32%) também apareceram com maior abundância relativa preferencialmente em amostras profundas. A presenças dessas famílias de arqueias especialmente em amostras profundas é condizente com outros trabalhos realizados na PAO (Grzymski et al., 2012; Luria et al, 2014; Signori et al, 2014).

Além desses táxons, outros que aparecem em maior abundância nas amostras de fundo foram: Microtrichaceae, Grupo 2 e outra família não identificada de SAR11, Marinimicrobia (SAR406) e SAR86. Além disso, as amostras mais profundas contam com maior número de grupos raros (outros < 0,5% de abundância). O Grupo Marinho B SAR34 apresentou abundância diferente nas amostras de zona meso/batipelágica entre os anos de coleta (Figura 32), com maior abundância nas amostras profundas de 2015, compondo mais de 9% das amostras X155, X157, X171, X173, X175 e mais de 5% da amostra X161.

Na primavera, a abundância relativa dos principais táxons se apresentou como uma mistura das abundância encontrada nas amostras de superfície e fundo no verão. Representantes de Cyanobacteria, encontrados em maiores proporções na superfície do verão, também foram encontradas na superfície da primavera. Contudo, representantes de Flavobacteriaceae apareceram em menores percentuais, com abundância parecida às amostras de fundo do verão. Esse padrão se repete para outros táxons, como Rickettsiales, Thioglobaceae, SAR11, Marine Group II e Marinimicrobia (SAR406), que possuem abundância similar à de superfície do verão, e Rhodobacteraceae, Porticocacceae e Cryomorphaceae, que possuem abundância similar às amostras de fundo do verão. Nitrincolaceae e Nitrosopumilaceae não seguiram uma tendência como os outros táxons e aparecerem em percentuais intermediários.

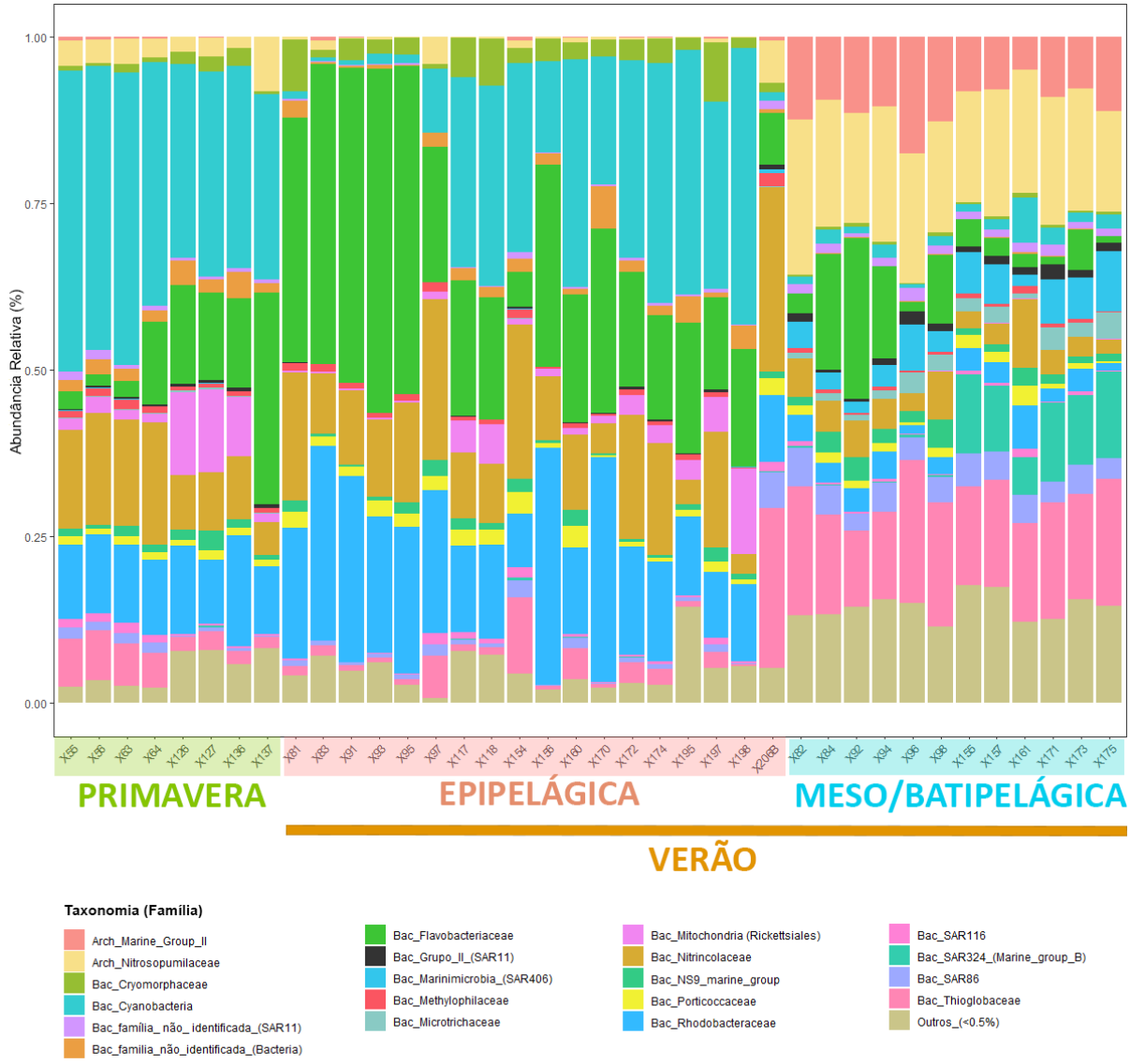


Figura 33: Abundância relativa (%) dos táxons em nível de família de todas as amostras agrupadas por zonas pelágicas (epipelágica e meso/batipelágica) e sazonalidade (primavera e verão).

Ainda foi possível notar diferenças de abundância relativa para alguns táxons entre as amostras de primavera de 2013 e 2014 (Figura 33). Em 2014, a abundância relativa de Flavobacteriaceae, Rickettsales e grupos raros (< 0,5%) aumentou, enquanto que de Cyanobacteria, Nitrincolaceae e Thioglobaceae diminuiu.

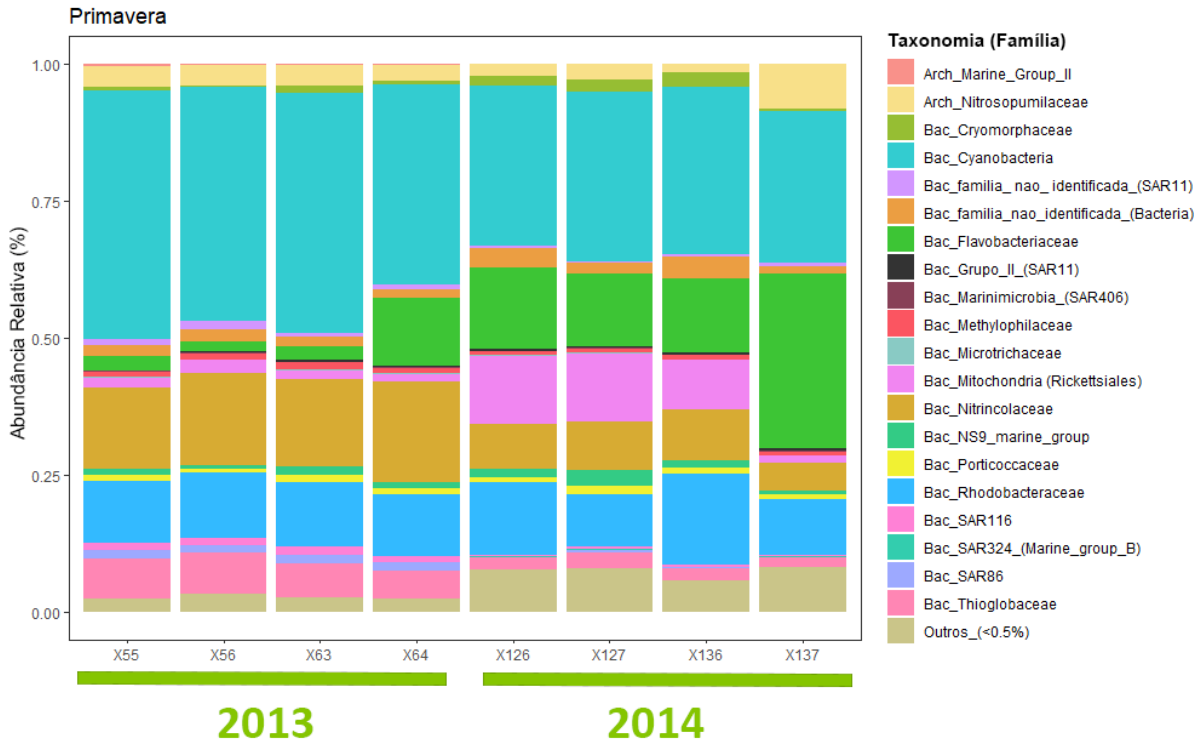


Figura 34: Abundância relativa (%) dos táxons em nível de família das amostras de superfície (> 100 m) no período de primavera, agrupadas pelos anos de coleta (2013 e 2014).

5.3.3 Inferência metabólica microbiana

A análise de FAPROTAX mostrou uma grande diversidade metabólica para as comunidades microbianas do Estreito de Gerlache (Figura 34). Foram encontrados metabolismos associados aos ciclos do nitrogênio, enxofre e carbono, além de ureólise, quitinólise, fermentação e simbiontes ou parasitas de animais.

Diversos metabolismos apareceram em pequena quantidade, mas na maioria das amostras, tando de superfície, quanto de fundo. Foi o caso de metabolismos relacionados a quimioheterotrofia, oxidação escura de compostos de enxofre e processos de oxidação de metanol e metilotrofia, provavelmente associados aos táxons Methylophilaceae e a algumas ASVs de Rhodobacteraceae. A degradação de hidrocarbonetos e a oxidação escura de hidrocarbonetos aparecem em menos amostras, porém também estão presentes tanto na superfície, quanto no fundo.

Outros metabolismos apareceram em pequena quantidade e em diversas amostras, mas seguindo um certo padrão. A oxidação aeróbica de amônia, nitrificação, oxidação escura de sulfeto, respiração de nitrato e nitrogênio e redução de nitrato aparecem majoritariamente em amostras de fundo ou de primavera (superfície). Outro metabolismo que segue essa mesma tendência, porém em menos amostras foi a oxidação aeróbica de nitrito. A fermentação

aparece em maioria apenas no fundo e a oxidação escura de sulfito e enxofre são os únicos metabolismos associados majoritariamente às amostras de superfície no período de verão.

Alguns metabolismos aparecem em grande abundância, mas em amostras pontuais. A metanotrofia aparece exclusivamente na amostra X92, a respiração por thiosulfato e por componentes de enxofre apareceram nas amostras X92 e X98. A fotoheterotrofia aparece como exclusiva da amostra X161. Essas três amostras são de zona meso/batipelágica. A amostra X92 também apresentou o metabolismo de degradação de compostos aromáticos, incluindo hidrocarbonetos, que só aparecem novamente nas amostras X198 e na amostra X127 (porém nessa amostra sem ser hidrocarbonetos). As amostras X195 e X198, ambas de superfície, apresentaram a ureólise como metabolismo predito, ainda, a amostra X195 apresenta exclusivamente a quitinólise.

A quimioheterotrofia e a fotoheterotrofia são metabolismos potencialmente competidores que utilizam os mesmos substratos orgânicos, sendo que a amostra X161 apresenta ambos os metabolismos e foi coletada em profundidade intermediária do mesopelágico (435 m). Com luz limitante, provavelmente a alta abundância de fotoheterotrofia é relacionada a células não ativas. Isso pode ser corroborado pelo fato da quimioheterotrofia apresentar nível de abundância parecido com o de outras amostras e a fotoheterotrofia apresentar abundância anormal e exclusiva dessa amostra.

As amostras X117, X118, X126 e X127 (as duas últimas do período de primavera) também mostraram um padrão diferente. As amostras X117 e X118 apresentaram maior abundância relativa de fixação de nitrogênio, oxidação escura de tiosulfato e degradação de hidrocarbonetos alifáticos (exceto metano), sendo que esses metabolismos aparecem em pouquíssimas outras amostras. As amostras X126 e X127, ambas do período de primavera, junto com a amostra X118 apresentaram a fototrofia como metabolismos predito. Porém, ao contrário da fotoheterotrofia que aparece na amostra X161, foi encontrada a fotoautotrofia anoxigênica.

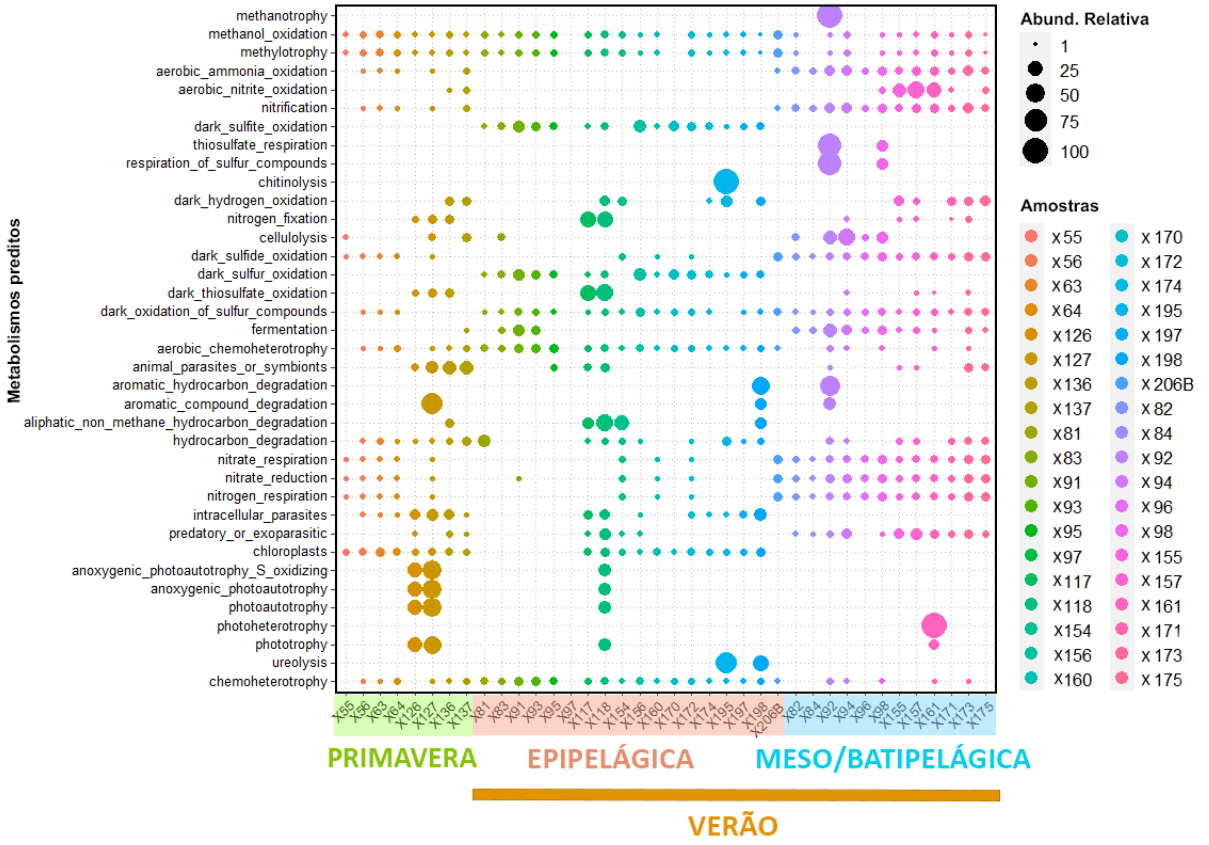


Figura 35: Predição de metabolismos microbianos de todas as amostras do Estreito de Gerlache agrupadas por zona pelágica (epipelágica e meso/batipelágica) e sazonalidade (primavera e verão).

5.4 Mudanças climáticas e alterações nas comunidades microbianas no Estreito de Gerlache

O último relatório do IPCC advertiu sobre as altas emissões de gases de efeito estufa nas últimas décadas, com consequências para a atmosfera, biosfera, oceano e criosfera. A PAO, onde está localizado o Estreito de Gerlache, é uma das regiões mais sensíveis às alterações climáticas, tendo experenciado altas taxas de aquecimento atmosférico e oceânico (Vaughan et al, 2003; Meredith et al, 2005; Turner et al, 2014; Hendry et al, 2018; Chown et al, 2022). Apesar das bactérias marinhas serem resistentes as altas concentrações de CO_2 e diminuição do pH (Oliver et al, 2014), outros fatores físico-quimicos que são alterados em consequência das mudanças climáticas, se mostraram importantes para a composição das comunidades microbianas do Estreito de Gerlache.

A temperatura, foi um dos principais parâmetros ambientais significativos para a composição e abundância de comunidades microbianas no Estreito de Gerlache. O aumento de temperatura da superfície do mar já foi descrito na região (Chown et al, 2022), e caso esse aumento continue, pode ocasionar alterações importantes relacionadas à diversidade, visto

que as análises de regressão indicaram uma diminuição da diversidade microbiana com o aumento da temperatura. Tonelli et al (2021) investigaram alterações na diversidade microbiana associada a diversos cenários climáticos e socioeconômicos de aumento da temperatura superficial do mar na região noroeste da Península Antártica e encontraram resultados semelhantes, com tendência de diminuição de diversidade e riqueza microbianas com o aumento de temperatura. Ainda, cerca de 28 ASVs compostas por bactérias e arqueias foram encontradas como exclusivas de temperaturas abaixo de 0°C, contando inclusive com presença de famílias que pertencem ao microbioma central, que podem ser afetadas no cenário de aumento de temperatura.

Um cenário de rápido aquecimento atmosférico e oceânico também impusiona o processo de degelo glacial e anomalias na dinâmica da camada de gelo marinho (Stammerjohn et al. 2008; Cook et al., 2016). Sendo o Estreito de Gerlache uma área mais confinada topograficamente (Griffith e Anderson, 1989; Isla et al, 2002; Zhou, Niiler e Hu, 2002), o aporte de água doce decorrente do degelo glacial exerce grande influência na salinidade local, um dos parâmetros, que junto da temperatura, se mostrou fortemente significativo, afetando tanto a riqueza, quanto a diversidade das comunidades microbianas da região.

Além do aumento na temperatura superficial do mar, outra consequência das altas emissões de CO_2 em áreas oceânicas está relacionada ao declínio da disponibilidade de oxigênio dissolvido (IPCC, 2022). Apesar do oxigênio dissolvido não se apresentar como um fator significativo na composição das comunidades do Estreito de Gerlache, diversos metabolismos preditos e táxons encontrados são relacionados a metabolismos aeróbicos.

A variabilidade climática na Península Antártica também é altamente influenciada por padrões climáticos como ENSO e SAM (Stammerjohn et al., 2008), que podem causar anomalias no padrão de ventos e na camada de gelo marinho (Parra, Laurido e Sánchez, 2020). A tendência atual de SAM tem sido um padrão positivo, que acredita-se ter sido influenciada pelo buraco na camada de ozônio decorrente da emissão de CO_2, apesar de atualmente essa influência ser reduzida (IPCC, 2022). A tendência de fase positiva pode ser visualizada nos meses amostrados, onde todos apresentaram fase positiva de SAM com destaque para o ano de 2015. Além da temperatura em superfície que mostrou alteração no mesmo período de verão austral entre os anos de 2014 e 2015, a variação de SAM e ENSO também podem ocasionar alterações na extensão, espessura e duração da camada de gelo marinho, parte fundamental no processo de sazonalidade da região e com influência na estratificação da coluna d’água (Saba et al, 2014).

A sazonalidade e a variação vertical da coluna d'água foram os principais fatores de ordenação das comunidades microbianas do Estreito de Gerlache. As camadas profundas do verão se mostraram mais diversas do que as de superfície, porém as duas camadas demonstraram importância para os ciclos biogeoquímicos, com metabolismos associados ao ciclo de enxofre exclusivos na superfície e alguns metabolismos associados ao ciclo do nitrogênio exclusivos das camadas profundas. Assim, as comunidades de primavera que apresentaram uma mistura de táxons e metabolismos associados as duas camadas no verão e com alto número de ASVs exclusivas, demonstraram ser uma fase importante na complexa dinâmica sazonal das comunidades microbianas do estreito, permitindo o contato de microrganismos com metabolismos do ciclo do nitrogênio da camada profunda com a atmosfera. Anomalias na dinâmica de gelo e em consequência da sazonalidade podem causar alterações, dificultando o processo de alternância das comunidades de superfície e fundo e permitindo a dominância de determinados táxons e metabolismos.

Ainda, a fase positiva de SAM está relacionada com aumento na intensidade de ventos (Clarke et al, 2007), que junto com uma diminuição da temporada de gelo marinho descrita na parte norte da PAO, e consequente menor estratificação da coluna d'água e aprofundamento da camada de mistura, resultam em uma redução da produtividade primária (Montes-Hugo et al, 2009). Contudo, os processos de degelo marinho e recuo de geleiras também podem influenciar na estratificação da coluna d'água e disponibilidade de nutrientes (Abirami et al, 2021). De qualquer forma, alterações na biomassa fitoplanctônica é outro fator que se mostrou significativo, apesar de secundário, com tendência inversa de riqueza e diversidade microbiana. O nitrito também foi um dos parâmetros ambientais significativos para a composição e abundância de comunidades microbianas no Estreito de Gerlache, e de maneira secundária o fosfato, silicato, nitrato, amônia.

Os microrganismos também influenciam no fluxo de nutrientes através dos ciclos biogeoquímicos (Arrigo, 2005). A análise de predição metabólica e o microbioma central determinaram um papel importante das comunidades do Estreito de Gerlache nos ciclos do carbono, nitrogênio e enxofre. Metabolismos como metilotrofia e oxidação de metanol, compostos de enxofre e hidrocarbonetos foram encontrados de maneira ubíqua nas zonas pelágicas.

Uma das famílias mais abundantes em águas superficiais e parte do microbioma central foi a cianobactéria (espécie *Phaeocystis*), já caracterizada como componente importante do fitoplâncton no Estreito de Gerlache (Mendes et al, 2017) e em outros locais da PAO (Smith et al, 2010). O fitoplâncton marinho tem papel fundamental no sequestro de

dióxido de carbono (Arrigo et al, 2005). Além disso, grande parte das famílias descritas no microbioma central são heterotróficas, sendo a quimioheterotrofia um dos metabolismos encontrado em ambas as zonas pelágicas. Organismos heterotróficos e quimiolitotróficos também são parte essencial dos ciclos biogeoquímicos e do funcionamento da teia trófica no ecossistema (Arrigo, 2005).

A família SAR116, parte do microbioma central é descrita como metabolizadora de DMS, passo importante no ciclo do enxofre (Dupont et al, 2012). No Oceano Austral, alterações nas concentrações de DMS estão relacionadas diretamente com alterações tróficas no ecossistema (Bopp et al, 2003). Na atmosfera, o DMS é oxidado em ácido metanosulfônico e dióxido de enxofre que pode alterar o balanço global de radiação e gerar chuva ácida (Yoch et al 2002). Ainda, segundo Bopp et al (2003), um aumento nas concentrações de CO_2 também podem aumentar a produção de DMS no Oceano Austral, afetando padrões de temperatura e precipitação regional.

Assim, o processo de mudanças climáticas e consequências relacionadas às alterações físico-químicas oceânicas da região do Estreito de Gerlache têm alta probabilidade de afetar as comunidades microbianas, principalmente relacionado à diversidade, composição do microbioma central, dinâmica sazonal dos microrganismos, com consequências para os ciclos biogeoquímicos do carbono, nitrogênio e enxofre de que as comunidades participam com protagonismo.

6 CONCLUSÕES

Esse trabalho colabora com o avanço do conhecimento da diversidade, riqueza, composição taxonômica e predição de processos ecológicos das comunidades microbianas da região do Estreito de Gerlache. Além disso, avalia possíveis alterações dessas comunidades frente ao atual cenário de mudanças climáticas através da determinação dos principais parâmetros ambientais que influenciam na estrutura da microbiota da região do estreito. Com isso, destacam-se as seguintes conclusões:

- As comunidades do Estreito de Gerlache se organizaram em relação às zonas pelágicas e apresentaram diferenças na composição conforme a sazonalidade e parâmetros ambientais.
- O microbioma central do Estreito de Gerlache é formado por 19 ASVs que pertencem a 12 famílias de 3 filos do domínio Bacteria.
- As comunidades microbianas do Estreito de Gerlache são semelhantes às encontradas em regiões próximas da PAO.
- As famílias com maior abundância relativa foram Flavobacteriaceae, Cyanobacteria, Rhodobacteraceae, Thioglobaceae e Nitrincolaceae para Bacteria, e Nitrosopumilaceae e Marine Group II (Thermoplasmata) para Archaea.
- A zona meso/batipelágica é mais rica e diversa do que a epipelágica, inclusive quando se trata de táxons raros.
- Em superfície, o período de primavera se mostrou mais rico e diverso na composição microbiana do que o verão.
- As comunidades de primavera apresentam uma composição mista de táxons e metabolismos das duas camadas encontradas no verão, sendo parte importante da dinâmica sazonal microbiana.
- As comunidades microbianas do estreito de Gerlache têm papel importante nos ciclos biogeoquímicos do carbono, nitrogênio e enxofre.
- Os principais fatores ambientais que influenciam as comunidades microbianas do Estreito de Gerlache são temperatura, salinidade e nitrito. Outros parâmetros com relevância são nitrato, fosfato, silicato, fluorescência e amônia.
- As alterações físico-químicas ambientais decorrentes de mudanças climáticas têm alta probabilidade de afetar a composição taxonômica, diversidade, riqueza e dinâmica

sazonal das comunidades microbianas do Estreito de Gerlache, com consequências para os ciclos biogeoquímicos de que essas comunidades participam.

6.1 Recomendações Futuras

Como continuação desse trabalho, sugere-se uma análise de modelagem da composição microbiana utilizando os principais parâmetros ambientais para as comunidades microbianas do Estreito de Gerlache aqui destacados e cenários de predição pautados nas informações disponíveis nos relatórios do Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (IPCC).

REFERÊNCIAS

Abell, G.C., Bowman, J.P. (2005) **Ecological and biogeographic relationships of class Flavobacteria in the Southern Ocean.** FEMS Microbiol Ecol. 51:265–277

Abirami, B., Radhakrishnan, M., Kumaran, S., Wilson,A. (2021) **Impacts of global warming on marine microbial communities**, Science of The Total Environment, V.791, 147905, ISSN 0048-9697, Doi:10.1016/j.scitotenv.2021.147905.

Alcamán-Arias, M. E., Fuentes-Alburquenque, S., Vergara-Barros, P., et al. (2021). **Coastal Bacterial Community Response to Glacier Melting in the Western Antarctic Peninsula**. Microorganisms, *9(1), 88*. Doi:10.3390/microorganisms9010088

Aldunate, M., De la Iglesia, R., Bertagnolli, A. D., & Ulloa, O. (2018). **Oxygen modulates bacterial community composition in the coastal upwelling waters off central Chile**. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography. Doi:10.1016/j.dsr2.2018.02.001

Amos, A.F., Jacobs, S.S., Hu, J.-H. (1990). **RACER: hydrography of the surface waters during the spring bloom in the Gerlache Strait.** Antarc J US 25, 131–134.

Arrigo, K. R. (2005). **Marine microorganisms and global nutrient cycles**. Nature 437, 349–355. Doi: 10.1038/nature04159

Assmy P, Fernández-Méndez M, Duarte P, Meyer A, Randelhoff A, Mundy CJ (2017) **Leads in Arctic pack ice enable early phytoplankton blooms below snow-covered sea ice**. Sci Rep. 7:40850

Azam, F. *et al.* **The ecological role of water-column microbes in the sea.** Mar. Ecol. Prog. Ser. 10, 257–263 (1983).

Azam, F. David C. Smith & James T. Hollibaugh (1991) **The role of the microbial loop in Antarctic pelagic ecosystems**, Polar Research, 10:1, 239-244, Doi: 10.3402/polar.v10i1.6742

Azam F & Malfatti F (2007) **Microbial structuring of marine ecosystems.** Natute Review Microbiology 5: 782–791

Bano, N., S. Ruffin, B. Ransom, and J.T. Hollibaugh. 2004. **Phylogenetic composition of Arctic Ocean archaeal assemblages and comparison with antarctic assemblages**. Applied and Environmental Microbiology 70:781–789.

Beja, O., Spudich, E.N., Spudich, J.L., Leclerc, M., and DeLong, E.F (2001**)** **Proteorhodopsin phototrophy in the ocean**. Nature 411, 786–789.

Bell T, Newman JA, Silverman BW, Turner SL, Lilley AK. **The contribution of species richness and composition to bacterial services**. Nature. 2005;436(7054):1157–60. pmid:16121181

Benjamin J Callahan, Paul J McMurdie, Michael J Rosen, Andrew W Han, Amy Jo A Johnson, and Susan P Holmes (2016) **Dada2: high-resolution sample inference from illumine amplicon data.** Nature methods**,** 13(7):581. Doi:10.1038/nmeth.3869.

Benninghoff, W. S. **The Antarctic Ecosystem**. Environment International, vol.13, p.9-14, 1987

Bernardet JF, Nakagawa Y (2006) **An introduction to the family Flavobacteriaceae.** In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E (eds) The prokaryotes. Springer, New York

Bolyen, E., Rideout, J.R., Dillon, M.R., Bokulich, N.A., Abnet, C.C., Al-Ghalith, G.A., Alexander, H., et al (2019). **Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2.** Nature Biotechnology, 37, 852-857. Doi: 10.1038/s41587-019-0209-9.

Bopp, L., Aumont, O., Belviso, S., & Monfray, P. (2003). **Potential impact of climate change on marine dimethyl sulfide emissions. Tellus B: Chemical and Physical Meteorology**, 55(1), 11–22. doi:10.3402/tellusb.v55i1.16359

Boström et al. (2004) **Optimization of DNA extraction for quantitative marine bacterioplankton community analysis.** Limnol. Oceanogr. Methods 2, p. 365-373. https://doi.org/10.4319/lom.2004.2.365

Bowman, J.P. (2014) **The Family Cryomorphaceae**, In: The Prokaryotes: Other Major Lineages of Bacteria and the Archaea, Springer, E. Rosenber, E.F DeLong, S. Lory, E. Stackenbrandt, F. Thompson (ed), Berlin, Germany, pp.539-550. ISBN 978-3-642-38953-5

Bray, J.R. and Curtis, J.T. (1957), **An Ordination of the Upland Forest Communities of Southern Wisconsin**. Ecological Monographs, 27: 325-349. https://doi.org/10.2307/1942268

Brown, M. S. et al. (2019) **Enhanced oceanic CO2 uptake along the rapidly changing West Antarctic Peninsula.** Nat. Clim. Chang. 9, 678–683.

Bunse, C., Pinhassi, J., (2017). **Marine bacterioplankton seasonal succession dynamics.** Trends Microbiol. 1413, 1–12. http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2016.12.013.

Cabal, J. A., F. Alvarez-Marqués, J. L. Acuña, M. et al. (2002). **Mesozooplankton distribution and grazing during the productive season in the Northwest Antarctic Peninsula (FRUELA cruises)**. Deep Sea Res. Part II: Top. Stud. Oceanogr., 49(4-5): 869-882.

Caldeira, K., Duffy, P.B., (2000) **The role of the Southern Ocean in uptake and storage of anthropogenic carbon dioxide.** Science 287, 620–622.

Callahan, B. J., McMurdie, P. J., and Holmes, S. P. (2017). **Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis**. ISME J. 11, 2639–2643. Doi: 10.1038/ismej.2017.119

Campbell, I.B, Claridge, G.G.C (1987) **Antarctica: soils, weathering processes and environment**. Amsterdam: Elsevier.

Cao, S., Zhang, W., Ding, W.,Wang, M., Fan, S., Yang, B. et al. (2020). **Structure and function of the Arctic and Antarctic marine microbiota as revealed by metagenomics.** Microbiome. 8:47, https://doi.org/10.1186/s40168-020-00826-9

Cao, S., He, J., Zhang, F., Lin, L., Gao, Y., Zhou, Q., (2019). **Diversity and community structure of bacterioplankton in surface waters off the northern tip of the Antarctic Peninsula**. Polar Res. 38, 3491. https://doi.org/10.33265/polar.v38.3491.

Cape, M. R. et al. (2019) **Circumpolar deep water impacts glacial meltwater export and coastal biogeochemical cycling along the West Antarctic Peninsula**. Front. Mar. Sci. 6, 144.

Caporaso, J.G., Lauber, C.L., Walters, W.A., Berg-Lyons, D., et al (2011). **Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample**. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 108 (Suppl.1), S4516–S4522. http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1000080107.

Case, R.J, Boucher, Y., Dahllöf, I., Holmström, C., Doolittle, W.F., Kjelleberg, S. (2007) **Use of 16S rRNA and rpoB Genes as Molecular Markers for Microbial Ecology Studies.** Applied and Environmental Microbiology, v.73, n.1, 278-288. Doi:10.1128/AEM.01177-06.

Castro, C.G, Ríos, A.F., Doval, M.D., Pérez, F.F. (2002) **Nutrient utilisation and chlorophyll distribution in the Atlantic sector of the Southern Ocean during Austral summer 1995–96**, Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, v.49, Issues 4–5, pp.623-641, Doi: https://doi.org/10.1016/S0967-0645(01)00115-1.

Cavicchioli, R. (2015) **Microbial Ecology of Antarctic aquatic systems**. Nature Reviews. v.13, 691-706. Doi:10.1038/nrmicro3549

Chao, A., & Chiu, C. (2016) **Species Richness: Estimation and Comparison**. Wiley StatsRef: Statistics Reference Online, 1-26.

Choi, T.-H., Lee, H. K., Lee, K., & Cho, J.-C. (2007). **Ulvibacter antarcticus sp. nov., isolated from Antarctic coastal seawater**. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 57(12), 2922–2925. doi:10.1099/ijs.0.65265-0

Chown, S. L., Leihy, R. I., Naish, T. R., Brooks, C. M., et al (2022). **Antarctic Climate Change and the Environment: A Decadal Synopsis and Recommendations for Action.** Faculty of Science, Medicine and Health - Papers: Part B. Retrieved from https://ro.uow.edu.au/smhpapers1/1806

Church, M.J., E.F. DeLong, H.W. Ducklow, M.B. Karner, C.M. Preston, and D.M. Karl. (2003). **Abundance and distribution of planktonic Archaea and Bacteria in the waters west of the Antarctic Peninsula.** Limnology and Oceanography 48:1,893–1,902.

Clarke, A., Murphy, E. J., Meredith, M. P., King, J. C., Peck, L. S., Barnes, D. K. A., et al. (2007). **Climate change and the marine ecosystem of the western Antarctic Peninsula**. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences, 362, 149–166.

Clem, K.R., J.A. Renwick, J. McGregor, and R.L. Fogt. (2016). **The relative influence of ENSO and SAM on Antarctic Peninsula climate.** Journal of Geophysical Research 121: 9324–9341. https://doi.org/10.1002/2016JD025305.

Codispoti, L. and Christensen, J.(1985) **Nitrification, denitrification and nitrous oxide cycling in the eastern tropical South Pacific ocean,** Mar. Chem., 16, 277–300, https://doi.org/10.1016/0304-4203(85)90051-9.

Convey, P., & Peck, L. S. (2019). **Antarctic environmental change and biological responses. Science Advances**, 5(11), eaaz0888. doi:10.1126/sciadv.aaz0888

Cook, A.J.; Holland, P.R.; Meredith, M.P.; Murray, T.; Luckman, A.; Vaughan, D.G (2016). **Ocean Forcing of Glacier Retreat in the Western Antarctic Peninsula**. Science, 353, 283–286

Couto, N., Martinson, D. G., Kohut, J. & Schofeld, O. (2017). **Distribution of upper circumpolar deep water on the warming continental shelf of the West Antarctic Peninsula**. J. Geophys. Res. Oceans 122, 5306–5315.

Cunha, L.C., Hamacher, C., Farias, C. de O., Kerr, R., et al. (2018) **Contrasting end-summer distribution of organic carbon along the Gerlache strait, northern antarctic peninsula: bio-physical interactions.** In: Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr., Oceanographic Processes and Biological Responses Around Northern Antarctic Peninsula: a 15-year Contribution of the Brazilian High Latitude Oceanography Group, vol. 149, pp. 206–217. https://doi.org/10.1016/j. dsr2.2018.03.003.

Deb, P., Orr, A., Bromwich, D.H., Nicolas, J.P., Turner, J. and Hosking, J.S., (2018). **Summer drivers of atmospheric variability affecting ice shelf thinning in the Amundsen Sea Embayment**, American Geophysical Union. West Antarctica. Geophysical Research Letters, 45 (9), pp.4124-4133. Doi: 10.1029/2018GL077092

Delille, D. (1992). **Marine bacterioplankton at the Weddell Sea ice edge, distribution of psychrophilic and psychrotrophic populations**. Polar Biology 12:205–210

Delille, D. (2004) **Abundance and function of Bacteria in the southern ocean**. Cellular and Molecular Biology, TM 50 (5), 543-55. DOI 10.1170/T544

DeLong, E.F., K.Y. Wu, B.B. Prezelin, and R.V.M. Jovine. (1994). **High abundance of Archaea in Antarctic marine picoplankton**. Nature 371:695–697

Díez-Vives, C., Nielsen, S., Sánchez, P., Palenzuela, O., Ferrera, I., Sebastián, M., et al (2019). **Delineation of ecologically distinct units of marine Bacteroidetes in the Northwestern Mediterranean Sea.** Molecular Ecology. doi:10.1111/mec.15068

Dogs, M., Wemheuer, B., Wolter, L., Bergen, N., et al. (2017). **Rhodobacteraceae on the marine brown alga Fucus spiralis are abundant and show physiological adaptation to an epiphytic lifestyle.** Systematic and Applied Microbiology, 40(6), 370–382. Doi:10.1016/j.syapm.2017.05.006

Dore, J.E., Karl, D.M. (1992) **RACER: Distribution of nitrite in the Gerlache Strait**. Antarctic Journal of the United States. v.27 (5), p.164-165.

Doronina, N., Kaparullina, E., & Trotsenko, Y. (2014). **The Family Methylophilaceae**. The Prokaryotes, 869–880. doi:10.1007/978-3-642-30197-1_243

Dortch, Q., Whitledge, T.E., (1992). **Does nitrogen or silicon limit phytoplankton production in the Mississippi River plume and nearby regions?** Cont. Shelf Res. 12, 1293–1309.

Dotto, T. S., Mata, M. M., Kerr, R., and Garcia, C. A. E.(2021) **A novel hydrographic gridded data set for the northern Antarctic Peninsula**, Earth Syst. Sci. Data, 13, 671–696, https://doi.org/10.5194/essd-13-671-2021

Ducklow, Hugh & Baker, Karen & Martinson, Douglas & Quetin, Langdon & Ross, Robin & Smith, Raymond & Stammerjohn, S. & Vernet, Maria & Fraser, William. (2007). **Marine pelagic ecosystems: The West Antarctic Peninsula**. Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences. 362. 67-94. 10.1098/rstb.2006.1955.

Dupont, C., Rusch, D., Yooseph, S. et al. (2012) **Genomic insights to SAR86, an abundant and uncultivated marine bacterial lineage**. ISME J 6, 1186–1199 https://doi.org/10.1038/ismej.2011.189

Estrada, M., Delgado, M., (1990). **Summer phytoplankton distributions in the Weddell Sea.** Polar Biology 10, 441–449.

Falkowski, P.G., Fenchel, T., Delong, E.F., (2008). **The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles**. Science 320 (5879), 1034–1039. https://doi.org/10.1126/ science.1153213

Ferreira, 2019. **Caracterização de Microbiota marinha sob influ ência do degelo glacial na Baía do Almirantado, Antártica**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo.

Frölicher, T.L., Sarmiento, J.L., Paynter, D.J., Dunne, J.P., Krasting, J.P., Winton ,M. (2015) **Dominance of the Southern Ocean in anthropogenic carbon and heat uptake in CMIP5 models**. J. Clim. 28, 862–886

Fuhrman, J., Cram, J. & Needham, D (2015). **Marine microbial community dynamics and their ecological interpretation.** Nat Rev Microbiol, 13, 133–146. https://doi.org/10.1038/nrmicro3417

Fuks, G., Elgart, M., Amir, A. et al. **Combining 16S rRNA gene variable regions enables high-resolution microbial community profiling**. Microbiome 6, 17 (2018). https://doi.org/10.1186/s40168-017-0396-x

Galbally I.E., Kirstine, W. (2002) **The production of methanol by flowering plants and the global cycle of methanol**. J Atmosph Chem 43:195–229

Galand, P.E., C. Lovejoy, and W.F. Vincent. (2006). **Remarkably diverse and contrasting archaeal communities in a large arctic river and the coastal Arctic Ocean.** Aquatic Microbial Ecology 44:115–126

García, M.A., Castro, C.G., Ríos, A.F., Doval, M.D., Rosón, G., Gomis, D., López, O. (2002). **Water masses and distribution of physico-chemical properties in the western Bransfield Strait and Gerlache strait during austral summer 1995/96. Deep sea res. Part II top. Stud. Oceanogr. FRUELA - A Carbon Flux Study in the Antarctic Peninsula Area** 49, 585–602. https://doi.org/10.1016/S0967-0645(01)00113-8.

Gasol, J.M., Kirchman, D.L. (2018) **Chapter 1: The Evolution of microbial ecology of the ocean. In: Microbial Ecology of the Oceans**, Third Edition. John Wiley & Sons, Inc. pp.1-2.

Gaston, K.J. 1996. **Biodiversity. A biology of number of difference**. Blackwell, Oxford.

Georgieva, M. N., Taboada, S., Riesgo, A., Díez-Vives, C., De Leo, F. C., Jeffreys, R. M., … Glover, A. G. (2020). **Evidence of Vent-Adaptation in Sponges Living at the Periphery of Hydrothermal Vent Environments: Ecological and Evolutionary Implications**. Frontiers in Microbiology, 11. doi:10.3389/fmicb.2020.01636

Ghiglione, J-F., Galand, P.E., Pommier, T., Pedrós-Alió, C., Maas, E.W., Bakker, K., Bertilson, S., Kirchman, D.L., Lovejoy, C., Yager, P.L., Murray, A.E. (2012) **Pole-to-pole biogeography of surface and deep marine bacterial communities**. Proc Natl Acad Sci USA, 109, 17633-17638

Giovannoni, S.J., H.J. Tripp, S. Givan, M. Podar, K.L. Vergin, D. Baptista, L. Bibbs, J. Eads, T.H. Richardson, M. Noordewier, and others. (2005). **Genome streamlining in a cosmopolitan oceanic bacterium**. Science 309:1,242–1,245.

Giovannoni, S., and Rappé, M. (2000). **Evolution, diversity, and molecular ecology of marine prokaryotes**, in Microbial Ecology of the Oceans, 1st Edn, ed. D. L. Kirchman (New York, NY: JohnWiley & Sons), 47–84.

Giovannoni, S. J. (2017). **SAR11 Bacteria: The Most Abundant Plankton in the Oceans**. Annual Review of Marine Science, 9(1), 231–255. doi:10.1146/annurev-marine-010814-015934

Glaeser, S. P., & Kämpfer, P. (2014). **The Family Sphingomonadaceae**. The Prokaryotes, 641–707. doi:10.1007/978-3-642-30197-1_302

Gleiber, M. R., D. K. Steinberg and O. M. Schofield. (2016). **Copepod summer grazing and fecal pellet production along the Western Antarctic Peninsula**. J. Plankton Res., 38(3): 732-750

Gordon A.L, Huber, B.A, (1984). **Thermohaline stratification below the Southern Ocean sea ice**. Journal of Geophysical Research, v.89, (C1), p.641-648.

Gorestein, M.R (2002) **Métodos de amostragem no levantamento da comunidade arbórea em floresta estacional semidecidua**. 104 f. Dissertação de Mestrado – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba 2002.

Griffith, T.W., Anderson, J.B., (1989). **Climatic control of sedimentation in bays and fjords of the northern Antarctic Peninsula.** Mar. Geol. 85, 181–204. https://doi.org/ 10.1016/0025-3227(89)90153-9.

Grzymski, J.J., Riesenfeld, C.S., Williams, T.J., et al (2012). **A metagenomic assessment of winter and summer bacterioplankton from Antarctica Peninsula coastal surface waters**. ISME J. 6, 1901–1915. https://doi.org/10.1038/ismej.2012.31.

Gruber, N., Landschützer, P., Lovenduski, N.S., (2019) **The variable Southern Ocean carbon sink**. Annu. Rev. Mar. Sci. 11, 159–186.

Gutt, J., Isla, E., Xavier, J.C., Adams, B.J., Ahn, I.-Y., Cheng, C.-H.C., Colesie, C., Cummings, V.J., di Prisco, G., Griffiths, H., Hawes, I., Hogg, I., McIntyre, T., Meiners, K.M., Pearce, D.A., Peck, L., Piepenburg, D., Reisinger, R.R., Saba, G.K., Schloss, I.R., Signori, C.N., Smith, C.R., Vacchi, M., Verde, C. and Wall, D.H. (2021) **Antarctic ecosystems in transition – life between stresses and opportunities**. Biol Rev, 96: 798-821. https://doi.org/10.1111/brv.12679

Haggerty, J.M. and Dinsdale, E.A. (2017), **Distinct biogeographical patterns of marine bacterial taxonomy and functional genes.** Global Ecol. Biogeogr., 26: 177-190. https://doi.org/10.1111/geb.12528

Hanshew AS, Mason CJ, Raffa KF, Currie CR. (2013). **Minimization of chloroplast contamination in 16S rRNA gene pyrosequencing of insect herbivore bacterial communities.** J Microbiol Methods. 2013 Nov;95(2):149-55. doi: 10.1016/j.mimet.2013.08.007.

Hanson, R.B. and Lowery, H.K. (1985) **Spatial distribution, structure, biomass and physiology of microbial assemblages across the Southern Ocean frontal zones during the late austral winter**. Appl.Environ. Microbiol. 1985, 49: 1029-1039.

Henley SF, Cavan EL, Fawcett SE, Kerr R, et al (2020) **Changing Biogeochemistry of the Southern Ocean and Its Ecosystem Implications**. Front. Mar. Sci. 7:581.doi: 10.3389/fmars.2020.00581

Henley, Sian F.; Schofield, Oscar M.; Hendry, Katherine R.; Schloss, Irene R. et al (2019). **Variability and change in the west Antarctic Peninsula marine system: Research priorities and opportunities**. Progress in Oceanography, 173, 208-237. Doi: 10.1016/j.pocean.2019.03.003

Hennon, G.M., Morris, J.J., Haley, S.T., Zinser, E.R., Durrant, A.R., et al (2018). **The impact of elevated CO2 on Prochlorococcus and microbial interactions with 'helper' bacterium Alteromonas.** ISME J. 12 (2), 520–531. https://doi.org/ 10.1038/ismej.2017.189.

Hernández, E.A., Piquet, A.M.T., Lopez, J.L. et al. (2015) **Marine archaeal community structure from Potter Cove, Antarctica: high temporal and spatial dominance of the phylum Thaumarchaeta**. Polar Biol. V.38, 117-130. Doi:10.1007/s00300-014-1569-8

Hofmann, E.E., Klinck, J.M., Lascara, C.M. and Smith, D.A. (1996). **Water Mass Distribution and Circulation West of the Antarctic Peninsula And Including Bransfield Strait. In Foundations for Ecological Research West of the Antarctic Peninsula**. American Geophysical Union (AGU), pp. 61–80. Doi: 10.1029/AR070p0061

Hollibaugh, J.T., N. Bano, and H.W. Ducklow. (2002). **Widespread distribution in polar oceans of a 16S rRNA gene sequence with affinity to Nitrosospiralike ammonia-oxidizing bacteria**. Applied and Environmental Microbiology 68:1,478–1,484

Hollibaugh, J.T; Lovejoy, C.; Murray, A E. (2007) **Microbiology in polar oceans**. Oceanography. P. 140-145. V 20.

Holm-Hansen, O.; Vernet, M, (1992).**RACER: Distribution, abundance and productivity of phytoplankton in the Gerlache Strait during austral summer**. Antarctic Journal of the United States, 27(5), 154-157.

Huys, G., Vanhoutte, T., Joossens, M., et al. (2008). **Coamplification of eukaryotic DNA with 16S rRNAgene-based PCR primers: possible consequences forpopulation fingerprinting of complex microbial communities,** Curr. Microbiol., 56, 553–7

IPCC, 2019: **Technical Summary** [H.-O. Pörtner, D.C. Roberts, V. Masson-Delmotte, P. Zhai, E. Poloczanska, K. Mintenbeck, M. Tignor, A. Alegría, M. Nicolai, A. Okem, J. Petzold, B. Rama, N.M. Weyer (eds.)]. In: IPCC Special Report on the Ocean and Cryosphere in a Changing Climate [H.- O. Pörtner, D.C. Roberts, V. Masson-Delmotte, P. Zhai, M. Tignor, E. Poloczanska, K. Mintenbeck, A. Alegría, M. Nicolai, A. Okem, J. Petzold, B. Rama, N.M. Weyer (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York, NY, USA, pp. 39–69. https://doi.org/10.1017/9781009157964.002

Isla, E., P. Masqué, A. Palanques, J.A. Sanchez-Cabeza, J.M. Bruach, J. Guillén and P. Puig. (2002). **Sediment accumulation rates and carbon burial in the bottom sediment in a high-productivity area: Gerlache Strait (Antarctica)**. Deep-Sea Res. Part II. Top. Stud. Oceanogr., 49(16): 3275-3287

Jin Q and Kirk MF (2018) **pH as a Primary Control in Environmental Microbiology: 1. Thermodynamic Perspective**. Front. Environ. Sci. 6:21. doi: 10.3389/fenvs.2018.00021

Kelley, C., Pakulski, J., Sandvik, S. et al. **Phytoplanktonic and Bacterial Carbon Pools and Productivities in the Gerlache Strait, Antarctica, during Early Austral Spring**. Microb Ecol 38, 296–305 (1999). https://doi.org/10.1007/PL00021037

Kim BR, Shin J, Guevarra RB, Lee JH, et al (2017) **Deciphering Diversity Indices for a Better Understanding of Microbial Communities**. J. Microbiol. Biotechnol. 27:2089-2093. https://doi.org/10.4014/jmb.1709.09027

Kim, S.; Kim, J.-H.; Lim, J.-H.; Jeong, J.-H.; Heo, J.-M.; Kim, I.-N (2020) **Distribution and Control of Bacterial Community Composition in Marian Cove Surface Waters, King George Island, Antarctica during the Summer of 2018.** Microorganisms, 8, 1115. https://doi.org/10.3390/microorganisms8081115

Landschützer, P., Gruber, N., Haumann, F.A., Rödenbeck, C., et al (2015) **The reinvigoration of the Southern Ocean carbon sink**, Science, v.349, 6253, 1221-1224, Doi:10.1126/science.aab2620.

Li, Hou, L.-Z., Xu, X.-H., Wang, X.-X., Zheng, M.-C., Zhang, Y.-J., & Liu, A. (2021). **Phylogenomic Analyses of a Clade Within the Family Flavobacteriaceae Suggest Taxonomic Reassignments of Species of the Genera Algibacter, Hyunsoonleella, Jejuia, and Flavivirga, and the Proposal of Pseudalgibacter gen. nov. and Pseudalgibacter alginicilyticus comb. nov**. Current Microbiology, 78(8), 3277–3284.

Li, Z., Cassar, N., Huang, K., Ducklow, H. & Schofield, O (2016). **Interannual variability in net community production at the Western Antarctic Peninsula region (1997–2014).** J. Geophys. Res. Ocean. **121**, 4748–4762.

Liu,Y., Blain, S., Crispi, O., Rembauville, M., Obernosterer, I. (2020) **Seasonal dynamics of prokaryotes and their associations with diatoms in the Southern Ocean as revealed by an autonomous sampler.** Environmental Microbiology, Society for Applied Microbiology and Wiley-Blackwell, In press, Doi:10.1111/1462-2920.15184

López-Garcia, P., C. Brochier, D. Moreira, and F. Rodríguez-Valera. (2004). **Comparative analysis of a genome fragment of an uncultivated mesopelagic crenarchaeote reveals multiple horizontal gene transfers.** Environmental Microbiology 6:19-34

Louca, S.; Parfrey, L.W.; Doebeli, M. (2016). **Decoupling Function and Taxonomy in the Global Ocean Microbiome**. Science, 353, 1272–1277

Louca, S., Polz, M.F., Mazel, F. et al. **Function and functional redundancy in microbial systems**. Nat Ecol Evol 2, 936–943 (2018). https://doi.org/10.1038/s41559-018-0519-1

Lozupone, C., Knight, R. (2005) **UniFrac: a New Phylogenetic Method for Comparing Microbial Communities. Applied and Environmental Microbiology**. v.71, n.12, pp.8228-8235 Doi:10.1128/AEM.71.12.8228-8235.2005.

Luria, C.M., Amaral-Zettler, L.A., Ducklow, H.W., Rich, J.J., (2016). **Seasonal succession of free-living bacterial communities in coastal waters of the Western Antarctic Peninsula**. Front. Microbiol. 7, 1731. http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.01731

Luria, C. M., Ducklow, H. W., & Amaral-Zettler, L. A. (2014**). Marine bacterial, archaeal and eukaryotic diversity and community structure on the continental shelf of the western Antarctic Peninsula**. Aquatic Microbial Ecology, 73, 107–121. http:doi.org/10.3354/ ame01703.

Magurran, A. E. **Ecological Diversity and Its Measurement**. Royal Society, University Research Fellow, p. 179, 1988.

Manganelli, M., Malfatti, F., Samo, T.J., Mitchell, B.G., Wang, H., Azam, F. (2009). **Major role of microbes in carbon fluxes during Austral Winter in the Southern Drake Passage**. Plos One 4 (9), 1–11. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0006941.

Margesin R & Miteva V (2011) **Diversity and ecology of psychrophilic microorganisms**. Res Microbiol 162: 346–361.

Martin, M. **Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads.** EMBnet. journal**,** 17(1):pp–10, 2011. Doi:10.14806/ej.17.1.200

Martiny, J.B.H., Martiny, A.C., Weihe, C., Lu, Y., Berlemont, R., Brodie, et al (2017). **Microbial legacies alter decomposition in response to simulated global change**. ISME J. 11, 490–499. http://dx.doi.org/10.1038/ismej.2016.122

Massana, R., L.T. Taylor, A.E. Murray, K.Y. Wu, W.H. Jeffrey, and E.F. DeLong. (1998). **Distribution of marine planktonic archaea in the Gerlache strait, Antarctic Peninsula, during early spring**. Limnology and Oceanography 43:607–617

McMurdie, P.J., Holmes, S. (2013) **phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data**. PLoS ONE 8(4):e61217

Mendes, C.R.B., Tavano, V.M., Dotto, T.S., Kerr, R., Souza, M.S., Garcia, C.A.E., Secchi, E.R. (2017) **New insights on the dominance of cryptophytes in Antarctic coastal waters: A case study in Gerlache Strait,** Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, V.149, p.161-170,Doi: 10.1016/j.dsr2.2017.02.010.

Meredith, M.P., King, J.C. (2005) **Rapid climate change in the ocean west of Antarctic Peninsula during the second half of the 20th century**. *Geophys. Res. Lett*. **32**, L19604.

Meredith, M.P., Wallace, M.I., Stammerjohn, S.E., Renfrew, I.A., Clarke, A., et al (2010). **Changes in the freshwater composition of the upper ocean west of the Antarctic Peninsula during the first decade of the 21st century.** Prog. Oceanogr., 3rd GLOBEC OSM: From ecosystem function to ecosystem prediction 87, 127–143. https://doi.org/10.1016/j. pocean.2010.09.019.

Miller, R.V., Whyte, L.G. (2012) **Polar Microbiology: Life in a Deep Freeze**. ASM Press

Moffat, C., and M. Meredith. (2018). **Shelf-ocean exchange and hydrography west of the Antarctic Peninsula: A review**. Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences 376: 20170164. https://doi. org/10.1098/rsta.2017.0164

Montes-Hugo M, Doney SC, Ducklow HW, et al (2009) **Recent changes in phytoplankton communities associated with rapid regional climate change along the western Antarctic Peninsula**. Science 323, 1470–1473.

Moreno-Pino, M., De la Iglesia, R., Valdivia, N., Henríquez-Castilo, C., Gal´an, A., Díez, B., Trefault, N., (2016). **Variation in coastal Antarctic microbial community composition at sub-mesoscale: spatial distance or environmental filtering?** FEMS Microbiol. Ecol. V.92, fiw088. https://doi.org/10.1093/femsec/fiw088

Morris, R.M. ; Spietz, R.L. (2022) **The Physiology and Biogeochemistry of SUP05**, Annual Review of Marine Science, v14, n1, pp.261-275}, Doi:10.1146/annurev-marine-010419-010814.

Murray, A.E., and J.J. Grzymski. (2007). **Genomics and diversity of Antarctic marine microorganisms**. Philosophical Transactions of the Royal Society B. 362, doi: 10.1098/rstb.2006.1944

Murray, A.E., C.M. Preston, R. et al. (1998). **Seasonal and spatial variability of bacterial and archaeal assemblages in the coastal waters off Anvers Island, Antarctica.** Applied and Environmental Microbiology 64:2,585–2,595.

Nedashkovskaya O. I., Kim S. B., et al. (2004) **Ulvibacter litoralis gen. nov., sp. nov., a novel member of the family Flavobacteriaceae isolated from the green alga *Ulva fenestrata*** . Int J Syst Evol Microbiol 54:119–123

Oliver, A.E., Newbold, L.K., Whiteley, A.S., Van Der Gast, C.J. (2014). **Marine bacterial communities are resistant to elevated carbon dioxide levels.** Environmental Microbiology Reports, 6(6), 574–582. doi:10.1111/1758-2229.12159

Oksanen, J., Blanchet, F.G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P.R., et al (2020). **Vegan: Community Ecology Package**. R package version 2.5-7. https://CRAN.R-project.org/package=vegan

Ozturk, C., Feyzioglu, A.M., Altinok, I. (2022), **Prokaryotic community and diversity in coastal surface waters along the Western Antarctic Peninsula**, Polar Science, V.31, 2022, 100764, ISSN 1873-9652, Doi: 10.1016/j.polar.2021.100764.

Pan, X.L., Li, B.F. & Watanabe, Y.W (2022). **Intense ocean freshening from melting glacier around the Antarctica during early twenty-first century**. Sci Rep 12, 383. https://doi.org/10.1038/s41598-021-04231-6

Parra, R.R.T., Laurido, A.L.C., Sánchez, J.D.I. (2020) **Hydrographic conditions during two austral summer situations (2015 and 2017) in the Gerlache and Bismarck straits, northern Antarctic Peninsula**. Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers, v.161, doi: https://doi.org/10.1016/j.dsr.2020.103278

Pearce, D.A (2008) **Climate Change and the microbiology of the Antarctic Peninsula region. Science Progress,** 91(2), 203-217. Doi: 10.3184/003685008X332534

Pedregosa, F., Varoquaux, G., Gramfort, A., Michel, V., Thirion, B., Grisel, O., Blondel, M., Prettenhofer P., et al. (2011). **Scikit-learn: Machine learning in Python. Journal of machine learning research**, 12, 2825-2830. http://jmlr.org/papers/v12/pedregosa11a.html

Pope, J.O., Holland, P.R., Orr, A., Marshall, G.J. and Phillips, T., (2017). **The impacts of El Niño on the observed sea ice budget of West Antarctica**. Geophysical Research Letters, 44(12), pp.6200-6208. doi: 10.1002/2017GL073414

Pujalte, M. J., Lucena, T., Ruvira, M. A., Arahal, D. R., and Macián, M. C. (2014). **The family Rhodobacteraceae**, in The Prokaryotes: Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria, 4th Edn, eds E. Rosenberg, E. F. DeLong, S. Lory, E. Stackebrandt, and F. L. Thompson (Berlin: Springer), 439–512.

Quail, M.A., Smith, M., Coupland, P. et al. (2012). **A tale of three next generation sequencing platforms: comparison of Ion Torrent, Pacific Biosciences and Illumina MiSeq sequencers**. *BMC Genomics* **13,** 341. https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-341

Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO (2013) **The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools**. *Nucl. Acids Res. 41 (D1): D590-D596.*

R Core Team (2021). **R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. URL: https://www.R-project.org/.

Rafter, P.A., Bagnell, A., Marconi, D., DeVries, T. (2019) **Global trends in marine nitrate N isotopes from observations and a neural network-based climatology**. Biogeosciences, 16, 2617–2633, 2019. https://doi.org/10.5194/bg-16-2617-2019

Ribicic, D., Netzer, R., Winkler, A., & Brakstad, O. G. (2018). **Microbial communities in seawater from an Arctic and a temperate Norwegian fjord and their potentials for biodegradation of chemically dispersed oil at low seawater temperatures**. Marine Pollution Bulletin, 129(1), 308-317. Doi:10.1016/j.marpolbul.2018.02.024

Roda-Garcia J.J., Haro-Moreno J.M., Huschet L.A., Rodriguez-Valera F., López-Pérez M., Rappe M.S. (2021) **Phylogenomics of SAR116 Clade Reveals Two Subclades with Different Evolutionary Trajectories and an Important Role in the Ocean Sulfur Cycle**. American Society for Microbiology. Doi: 10.1128/mSystems.00944-21

Rodríguez, J., Jiménez-Gómez, F., Blanco, J. M., & Figueroa, F. L. (2002). **Physical gradients and spatial variability of the size structure and composition of phytoplankton in the Gerlache Strait (Antarctica)**. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 49(4-5), 693-706. Doi: 10.1016/s0967-0645(01)00119-9

Roger et al, (2020). **Antarctic Futures: An Assessment of Climate-Driven Changes in Ecosystem Structure, Function, and Service Provisioning in the Southern Ocean**. Annu. Rev. Mar. Sci. 12:7.1–7.34

Roh SW, Abell GC, Kim KH, Nam YD, Bae JW. **Comparing microarrays and next-generation sequencing technologies for microbial ecology research**. Trends Biotechnol. 2010 Jun;28(6):291-9. doi: 10.1016/j.tibtech.2010.03.001. Epub 2010 Apr 8. PMID: 20381183.

Rubin-Blum, M., Antony, C. P., Sayavedra, L., Martínez-Pérez, C., Birgel, D., Peckmann, J., et al. (2019). **Fueled by methane: deep-sea sponges from asphalt seeps gain their nutrition from methane-oxidizing symbionts**. ISME J. 13, 1209–1225

Rudi, K., Zimonja, M., Trosvik, P., Næs, T. (2007) **Use of multivariate statistics for 16S rRNA gene analysis of microbial communities.** International Journal of Food Microbiology, v.120, 95-99, Doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.06.004.

Ruiz-Barlett, E.M., Tosonotto, G.V., Piola, A.R., Sierra, M.E., Mata, M.M., (2018). **On the temporal variability of intermediate and deep waters in the Western Basin of the**

Bransfield Strait. Deep sea res. Part II top. Stud. Oceanogr., oceanographic processes and biological responses around northern antarctic peninsula: a 15-year contribution of the Brazilian. High Latitude Oceanography Group 149, 31–46. https://doi.org/ 10.1016/j.dsr2.2017.12.010.

Saba, G. K. et al. (2014) **Winter and spring controls on the summer food web of the coastal West Antarctic Peninsula.** Nat. Commun. 5, 4318.

Sallée, J.-B. (2018) **Southern Ocean warming.** Oceanography 31(2):52–62, https://doi.org/10.5670/ oceanog.2018.215

Sansupa, C.; Wahdan, S.F.M.; Hossen, S.; et al (2021) **Can We Use Functional Annotation of Prokaryotic Taxa (FAPROTAX) to Assign the Ecological Functions of Soil Bacteria?.** Appl. Sci., 11, 688. https://doi.org/10.3390/ app11020688

Sarkar, D. (2008) **Lattice: Multivariate Data Visualization with R**. Springer, New York. ISBN 978-0-387-75968-5

Satomi, Masataka & Fujii, Tateo. (2013). **The Family Oceanospirillaceae.** The Prokaryotes: Gammaproteobacteria. 491-527. 10.1007/978-3-642-38922-1_286.

Schlitzer, R. (2021) **Ocean Data View**. Disponível em: https://odv.awi.de

Schofield O, Brown M, Kohut J, Nardelli S, Saba G, Waite N, Ducklow H (2018) **Changes in the upper ocean mixed layer and phytoplankton productivity along the West Antarctic Peninsula**.Phil. Trans. R. Soc. A 376: 20170173. Doi:10.1098/rsta.2017.0173

Scott, R.C., Nicolas, J.P., Bromwich, D.H., Norris, J.R. and Lubin, D., (2019). **Meteorological drivers and large-scale climate forcing of West Antarctic surface melt**. Journal of Climate, 32 (3), pp.665-684. doi: 10.1175/JCLI-D-18-0233.1

Selz V, Lowry KE, Lewis KM, Joy-Warren HL and others (2018) **Distribution of *Phaeocystis antarctica*-dominated sea ice algal communities and their potential to seed phytoplankton across the western Antarctic Peninsula in spring**. Mar Ecol Prog Ser 586:91-112. https://doi.org/10.3354/meps12367

Shade, A. and Handelsman, J. (2012), **Beyond the Venn diagram: the hunt for a core microbiome.** Environmental Microbiology, 14: 4-12. https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02585.x

Shade, A., Peter, H., Allison, S.D., Baho, D.L., Berga, M., Bürgmann, H., Huber, D.H., Langenheder, S., Lennon, J.T., et al (2012). **Fundamentals of microbial community resistance and resilience.** Front Microbiol. 3, 417

Sharp, C. E., Brady, A. L., Sharp, G. H., Grasby, S. E., Stott, M. B., & Dunfield, P. F. (2014). **Humboldt's spa: Microbial diversity is controlled by temperature in geothermal environments**. The ISME Journal, 8, 1166–1174.

Shepherd, A., Ivins, E., Rignot, E. et al (2018) **Mass balance of the Antarctic Ice Sheet from 1992 to 2017**. Nature, 558 . pp. 219-222. ISSN 0028-0836

Shu, W.S., Huang, L.N. (2022) **Microbial diversity in extreme environments.** Nat Rev Microbiol 20, 219–235. https://doi.org/10.1038/s41579-021-00648-y

Signori, C.N., Pellizari, V.H., Enrich-Prast, A., Sievert, S.M. (2018) **Spatiotemporal dynamics of marine bacterial and archaeal communities in surface waters off the northern Antarctic Peninsula,** Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, V.149, pp.150-160, Doi: 10.1016/j.dsr2.2017.12.017.

Signori, C.N., Thomas, F., Enrich-Prast, A., Pollery, R.C.G., Sievert, S.M., 2014. **Microbial diversity and community structure across environmental gradients in Bransfield Strait, Western Antarctic Peninsula** (article 647). Front. Microbiol. 5. http://dx.doi. org/10.3389/fmicb.2014.00647

Simpson, G.L. (2019). **permute: Functions for Generating Restricted Permutations of Data**. R package version 0.9-5. https://CRAN.R-project.org/package=permute

Smith, D.A., Hofmann, E.E., Klinck, J.M., Lascara, C.M. (1999). **Hydrography and circulation of the west antarctic peninsula continental shelf.** Deep-Sea Res. Part A Oceanogr. Res. Pap. 46, 925–949. https://doi.org/10.1016/S0967-0637(98)00103- 4.

Smith Jr., W.O., Dinniman, M.S., Tozzi, S., DiTullio, M.S., Mangoni, O., Modigh, M., Saggiomo, V. (2010). **Phytoplankton photosynthetic pigments in the Ross Sea: patterns and relationships among functional groups**. J. Mar. Syst. 82, 177–185.

Spring S, Scheuner C, Göker M and Klenk H-P (2015) **A taxonomic framework for emerging groups of ecologically important marine gammaproteobacteria based on the reconstruction of evolutionary relationships using genome-scale data**. Front. Microbiol. 6:281. doi: 10.3389/fmicb.2015.00281

Stammerjohn, S., Martinson, D., Smith, R., Yuan, X., Rind, D. (2008) **Trends in Antarctic annual sea ice retreat and advance and their relation to El Niño-Southern Oscillation and Southern Annular Mode variability**, v.113, Journal of Geophysical Research: Oceans.

Stammerjohn, S., Massom, R., Rind, D., Martinson, D. (2012) **Regions of rapid sea ice change: an inter-hemispheric seasonal comparison**. Geophys. Res. Lett. 39, L06501.

Stingl U, Desiderio RA, Cho JC, Vergin KL, Giovannoni SJ. 2007. **The SAR92 clade: an abundant coastal clade of culturable marine bacteria possessing proteorhodopsin**. Appl Environ Microbiol. 73:2290-6.

Straub, D., Blackwell, N., Langarica-Fuentes, A., Peltzer, A., Nahnsen, S., Kleindienst, S. (2020) **Interpretations of Environmental Microbial Community Studies Are Biased by the Selected 16S rRNA (Gene) Amplicon Sequencing Pipeline**. Front. Microbiol. 11:550420. doi: 10.3389/fmicb.2020.550420

Strock, J. S. (2008). **Ammonification**. In Encyclopedia of Ecology, Five-Volume Set (pp. 162-165). Elsevier Inc.. https://doi.org/10.1016/B978-008045405-4.00256-1

Sunagawa S, et al (2015). **Structure and function of the global ocean microbiome**. Science, 348:1261359.

Talley, L.D (2002) **Salinity Patterns in the Ocean**, In: Volume 1 da Encyclopedia of Global Environmental Change. Editores MacCracken, M.C, Perry, J.S., Munn, T., John Wiley & Sons Ltd. ISBN 0471977969.

Thukral, A. K. (2017) **A review on measurement of Alpha diversity in biology**. Agricultural Research Journal, 2017, 54(1), 1.

Tilman, D., Isbell, F., Cowles, J.M. (2014) **Biodiversity and Ecosystem Functioning. Annual Review of Ecology**, Evolution, and Systematics. 45:1, 471-493, 10.1146/annurev-ecolsys-120213-091917

Turner, J., Bindschadler, R., Convey, P., di Prisco, G., Fahrbach, E., Gutt, J., et al. (2009). **Antarctic climate change and the environment**. Antarctic Science, 21, 541–563

Turner, J. et al. **Antarctic climate change and the environment: an update**. (2014) Polar Rec. 50, 237–259.

Varela, M., Fernandez, E., Serret, P., 2002. **Size-fractionated phytoplankton biomass and primary production in the Gerlache and south Bransfield Straits (Antarctic Peninsula) in the Austral summer 1995–1996**. Deep-Sea Research Part II 49, 749–768.

Vaughan, D.G., Marshall, G.J., Connolley, W.M., Parkinson, C., et al (2003). **Recent rapid regional climate warming on the Antarctic peninsula**. Clim. Chang. 60, 243–274.

Vaz-Moreira, I, Nunes,O.C., Manaia, C.M. (2011) **Diversity and Antibiotic Resistance Patterns of Sphingomonadaceae Isolates from Drinking Water.** Applied and Environmental Microbiology. V.77, n16, 5697-5706. Doi: 10.1128/AEM.00579-11

Venables, H. J., Andrew, C., and Meredith, M. P. (2013). **Wintertime controls on summer stratification and productivity at the western Antarctic Peninsula.** *Limnol. Oceanogr*. 58, 1035–1047. doi: 10.4319/lo.2013.58.3.1035

Verde, C., Giordano, D., Bellas, C.M., di Prisco, G., Anesio, A.M., (2016) **Chapter Four: Polar Marine Microorganisms and Climate Change.** Editor(s): Robert K. Poole, Advances in Microbial Physiology, Academic Press, v69, 187-215, ISSN 0065-2911, ISBN 9780128048221, https://doi.org/10.1016/bs.ampbs.2016.07.002.

Vescovo, I.A.L, Golemba, M.D., Di Lello, F.A., et al (2014) **Rich bacterial assemblages from Maritime Antarctica (Potter Cove, South Shetlands) reveal several kinds of endemic and undescribed phylotypes**, Revista Argentina de Microbiología, V.46, Issue 3, pp.218-230, Doi:10.1016/S0325-7541(14)70076-8

Vincent, W. (1988) **Microbial Ecosystems of Antarctica**. London: Cambridge University Press

Walczyńska, A., & Sobczyk, Ł. (2017). **The underestimated role of temperature-oxygen relationship in large-scale studies on size-to-temperature response.** Ecology and Evolution, 7(18), 7434–7441. doi:10.1002/ece3.3263

Walker, C.C. and Gardner, A.S., (2017) **Rapid drawdown of Antarctica's Wordie Ice Shelf glaciers in response to ENSO/Southern Annular Mode-driven warming in the Southern Ocean.** Earth and Planetary Science Letters, 476, pp.100-110. doi: 10.1016/j.epsl.2017.08.005

Wang, Z., Tsementzi, D.,Williams, T.C., Juarez, D.L., Blinebry, S.K., et al., (2021). **Environmental stability impacts the differential sensitivity of marine microbiomes to increases in temperature and acidity**. ISME J. 15 (1), 19–28.https://doi.org/10.1038/s41396-020-00748-2

Whittaker, R. H. (1972). **Evolution and measurement of species diversity**. TAXON, 21, 213-251. Doi:10.2307/1218190.

Wilkins, D. et al. (2012). **Key microbial drivers in Antarctic aquatic environments.** *FEMS Microl. Rev.* 37, 303–335.

Wilkins, D., Lauro, F.M., Williams, T.J., Demaere, M.Z., Brown, M.V., et al (2013). **Biogeographic partitioning of Southern Ocean microorganisms revealed by metagenomics**. Environmental Microbiology, 15, 1318–1333

Woese CR, Fox GE. **Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms**. Proc Natl Acad Sci U S A. 1977 Nov;74(11):5088-90. doi: 10.1073/pnas.74.11.5088. PMID: 270744; PMCID: PMC432104.

Yabuuchi, E. (2005). **Family I. Sphingomonadaceae.** in: Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT, Garrity GM (eds). Bergey's manual of systematic bacteriology. 2nd ed. The Proteobacteria, part C: The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilon proteobacteria. New York: Springer, 233-86.

Yoch, D.C (2002) **Dimethylsulfoniopropionate: Its Sources, Role in the Marine Food Web, and Biological Degradation to Dimethylsulfide**. Applied and Environmental Microbiology, 68(12), 5804-5815. Doi: 10.1128/aem.68.12.5804-5815.2002

Yoon, K., Song, J. Y., Kwak, M.-J., Kwon, S.-K., & Kim, J. F. (2017). **Genome characteristics of the proteorhodopsin-containing marine flavobacterium Polaribacter dokdonensis DSW-5**. Journal of Microbiology, 55(7), 561–567. doi:10.1007/s12275-017-6427-2

Zhou, K., Zhang, R., Sun, J., Zhang, W., Tian, R.-M., Chen, C., et al. (2019). **Potential SUP05-phage interactions in hydrothermal vent sponges**. Appl. Environ. Microbiol. 85:e992-19

Zhou, M., Niiler, P. P., & Hu, J.-H. (2002). **Surface currents in the Bransfield and Gerlache Straits, Antarctica.** Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers, 49(2), 267–280. doi:10.1016/s0967-0637(01)00062-0

APÊNDICE A – Amostras e dados obtidos ou disponibilizados

Tabela S1: Dados de parâmetros ambientais obtidos ou disponibilizados para cada amostra. Nutrientes correspondem a silicato, fosfato, nitrito, nitrato e amônia. O símbolo verde indica dados adquiridos com sucesso e o símbolo vermelho indica dados faltantes.

Código Amostra	Temperatura	Salinidade	Oxigênio Dissolvido	Nutrientes	Fluorescência	pH
X55	✓	✓	✓	✓	×	
X56	✓	✓	✓	✓	×	
X63	✓	✓	✓	✓	×	
X64	✓	✓	✓	✓	×	
X81	✓	✓	✓	✓	✓	
X82	✓	✓	✓	✓	✓	
X83	✓	✓	✓	✓	✓	
X84	✓	✓	✓	✓	✓	
X91	✓	✓	×	✓	✓	
X92	✓	✓	×	✓	✓	
X93	✓	✓	✓	✓	✓	
X94	✓	✓	✓	✓	✓	
X95	✓	✓	✓	✓	✓	
X96	✓	✓	✓	✓	✓	
X97	✓	✓	×	✓	✓	
X98	✓	✓	×	✓	✓	
X117	✓	✓	✓	✓	×	
X118	✓	✓	✓	✓	×	
X126	✓	✓	✓	✓	×	
X127	✓	✓	✓	✓	×	
X136	✓	✓	✓	✓	×	
X137	✓	✓	✓	×	×	
X154	✓	✓	✓	×	✓	
X155	✓	✓	✓	×	✓	
X156	✓	✓	✓	×	✓	
X157	✓	✓	✓	×	✓	
X160	✓	✓	✓	×	✓	
X161	✓	✓	✓	×	✓	
X170	✓	✓	✓	×	✓	
X171	✓	✓	✓	×	✓	
X172	✓	✓	✓	×	✓	
X173	✓	✓	✓	×	✓	
X174	✓	✓	✓	×	✓	
X175	✓	✓	✓	×	✓	
X195	×	×	×	×	×	
X197	×	×	×	×	×	
X198	×	×	×	×	×	
X206B	✓	✓	✓	×	✓	

APÊNDICE B – ASVs de Eucariotos

Tabela S2: Classificação taxonômica em nível de gênero das 62 ASVs do domínio Eukarya amplificadas na análise de 16S RNAr..

Filo	Classe	Ordem	Família	Gênero
Diatomea				
Diatomea	Mediophyceae	Mediophyceae	Mediophyceae	
Diatomea	Bacillariophyceae	Bacillariophyceae	Bacillariophyceae	*Bacillariophyceae*
Diatomea	Coscinodiscophytina	Coscinodiscophytina	Corethrids	*Corethron*
Diatomea	Mediophyceae	Mediophyceae	Mediophyceae	*Mediophyceae*
Diatomea	Mediophyceae	Mediophyceae	Mediophyceae	*Thalassiosira*
Diatomea	Mediophyceae	Mediophyceae	Mediophyceae	*Chaetoceros*
Diatomea	Mediophyceae	Mediophyceae	Mediophyceae	*Mediophyceae*
Diatomea				
Diatomea	Coscinodiscophytina	Coscinodiscophytina	Corethrids	*Corethron*
MAST-1	MAST-1C	MAST-1C	MAST-1C	*MAST-1C*
MAST-1	MAST-1B	MAST-1B	MAST-1B	*MAST-1B*
MAST-1	MAST-1C	MAST-1C	MAST-1C	*MAST-1C*
MAST-1	MAST-1C	MAST-1C	MAST-1C	*MAST-1C*
MAST-1	MAST-1A	MAST-1A	MAST-1A	*MAST-1A*
MAST-1	MAST-1A	MAST-1A	MAST-1A	*MAST-1A*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales Grupo II	*Syndiniales Grupo II*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales Grupo II	*Syndiniales Grupo II*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales Grupo II	*Syndiniales Grupo II*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales Grupo II	*Syndiniales Grupo II*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales		
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales	*uncultured*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales Grupo II	*Syndiniales Grupo II*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales Grupo II	*Syndiniales Grupo II*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales Grupo II	*Syndiniales Grupo II*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales Grupo II	*Syndiniales Grupo II*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales		
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales Grupo II	*Syndiniales Grupo II*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales	*Amoebophrya*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales Grupo II	*Syndiniales Grupo II*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales	*Amoebophrya*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales Grupo II	*Syndiniales Grupo II*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales	*Amoebophrya*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales Grupo II	*Syndiniales Grupo II*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales Grupo II	*Syndiniales Grupo II*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales Grupo II	*Syndiniales Grupo II*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales		
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales	*Amoebophrya*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales Grupo II	*Syndiniales Grupo II*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales Grupo II	*Syndiniales Grupo II*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales Grupo II	*Syndiniales Grupo II*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales Grupo II	*Syndiniales Grupo II*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales Grupo II	*Syndiniales Grupo II*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales	*Amoebophrya*
Protalveolata	Syndiniales	Syndiniales	Syndiniales Grupo II	*Syndiniales Grupo II*
MAST-3	MAST-3B	MAST-3B	MAST-3B	*MAST-3B*
MAST-3	MAST-3E	MAST-3E	MAST-3E	*MAST-3E*
MAST-3	MAST-3E	MAST-3E	MAST-3E	*MAST-3E*
MAST-3	MAST-3D	MAST-3D	MAST-3D	*MAST-3D*
MAST-3	MAST-3D	MAST-3D	MAST-3D	*MAST-3D*
MAST-3	MAST-3L	MAST-3L	MAST-3L	*MAST-3L*
MAST-7	MAST-7A	MAST-7A	MAST-7A	*MAST-7A*
MAST-7	MAST-7A	MAST-7A	MAST-7A	*MAST-7A*
Ciliophora	Intramacronucleata	Conthreep	Phyllopharyngea	*Pithites*

Ochrophyta	Pelagophyceae			
Ochrophyta	Ochrophyta	Ochrophyta	Ochrophyta	*Bolidomonas*
Ochrophyta	Ochrophyta	Ochrophyta	Ochrophyta	*Bolidomonas*
Chlorophyta	Ulvophyceae	Ulvophyceae	Ulvophyceae	*Ulvophyceae*
Cryptophyceae	Cryptophyceae	Cryptomonadales	Cryptomonadales	*Cryptomonadales*
Não identificado				
Não identificado				

APÊNDICE C – Índices Riqueza e Diversidade Geral

Tabela S3: Índices de ASVs observadas, riqueza (Chao1 e ACE) e diversidade (Shannon e Simpson) geral das amostras.

Código Amostra	ASVs Observadas	Chao1	Ace	Shannon	Simpson
X55	147	148,67	148,93	3,69	0,955
X56	170	174,5	173,43	3,70	0,953
X63	200	207	205,82	3,79	0,957
X64	200	205,08	204,84	3,72	0,955
X81	125	126,67	127,51	3,23	0,915
X82	227	229,8	229,79	3,91	0,946
X83	131	135,5	134,55	3,11	0,920
X84	210	210,33	210,70	3,97	0,959
X91	143	158,3	152,53	2,94	0,897
X92	305	315,5	313,87	3,94	0,955
X93	139	147,67	146,37	3,06	0,906
X94	344	354,12	353,18	4,21	0,954
X95	116	121,14	120,38	2,90	0,881
X96	289	293,79	294,36	4,21	0,960
X98	328	343,48	339,46	4,20	0,966
X117	229	238,56	237,90	3,98	0,960
X118	234	243	243,94	3,83	0,942
X126	207	208,36	208,75	4,17	0,973
X127	266	267,64	269,16	4,24	0,974
X136	224	235,38	230,10	4,26	0,978
X137	253	257,79	258,28	3,95	0,959
X154	194	195,36	195,66	3,81	0,953
X155	324	327,88	327,82	4,31	0,954
X156	167	177,91	175,21	3,20	0,909
X157	378	385,31	385,38	4,40	0,965
X160	205	210,5	208,92	3,88	0,964
X161	303	309,95	310,43	4,12	0,957
X170	149	152,27	152,48	3,24	0,921
X171	304	310,07	309,23	4,31	0,968
X172	180	184,58	185,11	3,67	0,951
X173	392	405,41	406,53	4,30	0,963
X174	163	166,27	167,41	3,60	0,952
X175	373	385,65	382,01	4,32	0,963
X195	191	195,5	194,48	4,10	0,971
X197	175	180	179,46	3,76	0,958
X198	199	202,3	204,11	3,74	0,958
X206B	170	177,5	173,90	3,27	0,907

APÊNDICE D – Teste Adonis

Tabela S4: Teste de PERMANOVA (Adonis) entre as categorias Área, Zonas Pelágicas (WaterColumn), Temperatura (TempCat) e Sazonalidade (Season).

Call: adonis (formula = totu ~ Area + WaterColumn + TempCat + Season, data = my_factors, permutations = 999, method = "bray", strata = NULL)

Permutation: free
Number of permutations: 999

Terms added sequentially (first to last)

	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	R2	Pr(>F)
Area	1	0.2533	0.25327	2.0959	0.02887	0.060 .
WaterColumn	1	3.0442	3.04423	25.1929	0.34704	0.001 ***
TempCat	2	0.8504	0.42520	3.5188	0.09695	0.002 **
Season	2	0.8781	0.43905	3.6334	0.10010	0.001 ***
Residuals	31	3.7460	0.12084	0.42704		
Total	37	8.7719	1.00000			

Signif. codes: 0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1
>

APÊNDICE E – Teste Adonis NMDS

Tabela S5: Teste de PERMANOVA (Adonis) entre as categorias Área, Zonas Pelágicas (WaterColumn), Temperatura (TempCat) e Estações Sazonais (Season) e a variância na composição das comunidades microbianas

***VECTORS

	NMDS1	NMDS2	r2	Pr(>r)
Temperature	0.20882	-0.97795	0.8643	0.0026 **
Salinity	0.49196	0.87062	0.8871	0.0095 **
OxygenDissolved	-0.32106	0.94706	0.3263	0.3461
Fluorescence	-0.15545	-0.98784	0.8640	0.0112 *
Ammonia	-0.97410	-0.22611	0.8393	0.0290 *
Nitrite	-0.74843	0.66321	0.9249	0.0021 **
Nitrate	0.98548	-0.16979	0.8276	0.0298 *
Phosphate	0.08495	0.99639	0.8161	0.0250 *
Silicate	0.36739	-0.93007	0.8682	0.0220 *

Signif. codes: 0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1

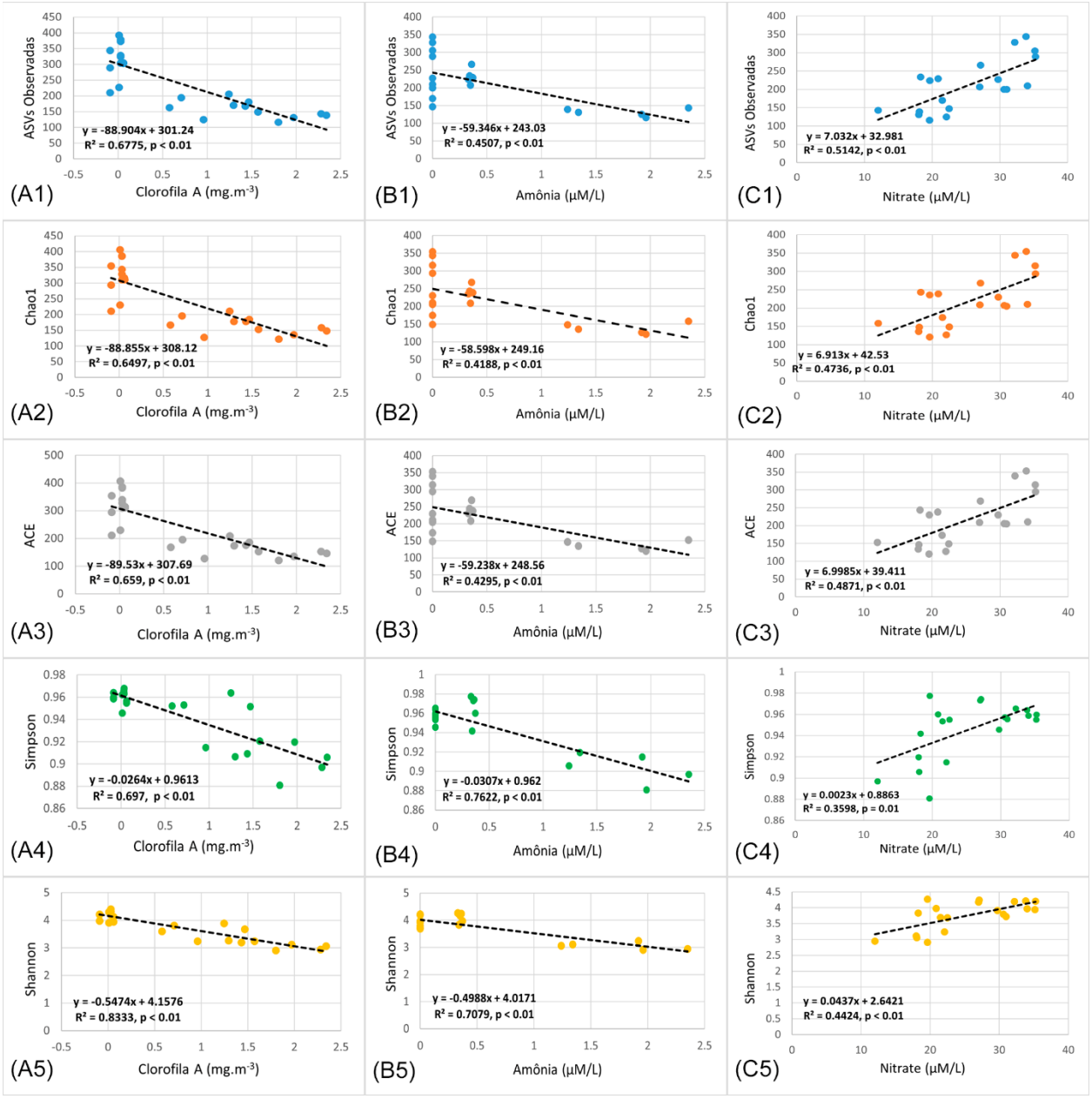
Permutation: free

Number of permutations: 9999

30 observations deleted due to missingness

APÊNDICE F – Regressão (Clorifla, Amônia e Nitrato)

Figura S1: Análises de regressão linear entre os índices de alfa-diversidade (ASVs Observadas, Chao1, ACE, Simpson, Shannon) e os parâmetros ambientais: clorofila-a (A1-A5), amônia (B1-B5) e nitrato (C1-C5). Informações estatísticas estão presentes no canto inferior esquerdo.



APÊNDICE G – Regressão (Silicato e Fosfato)

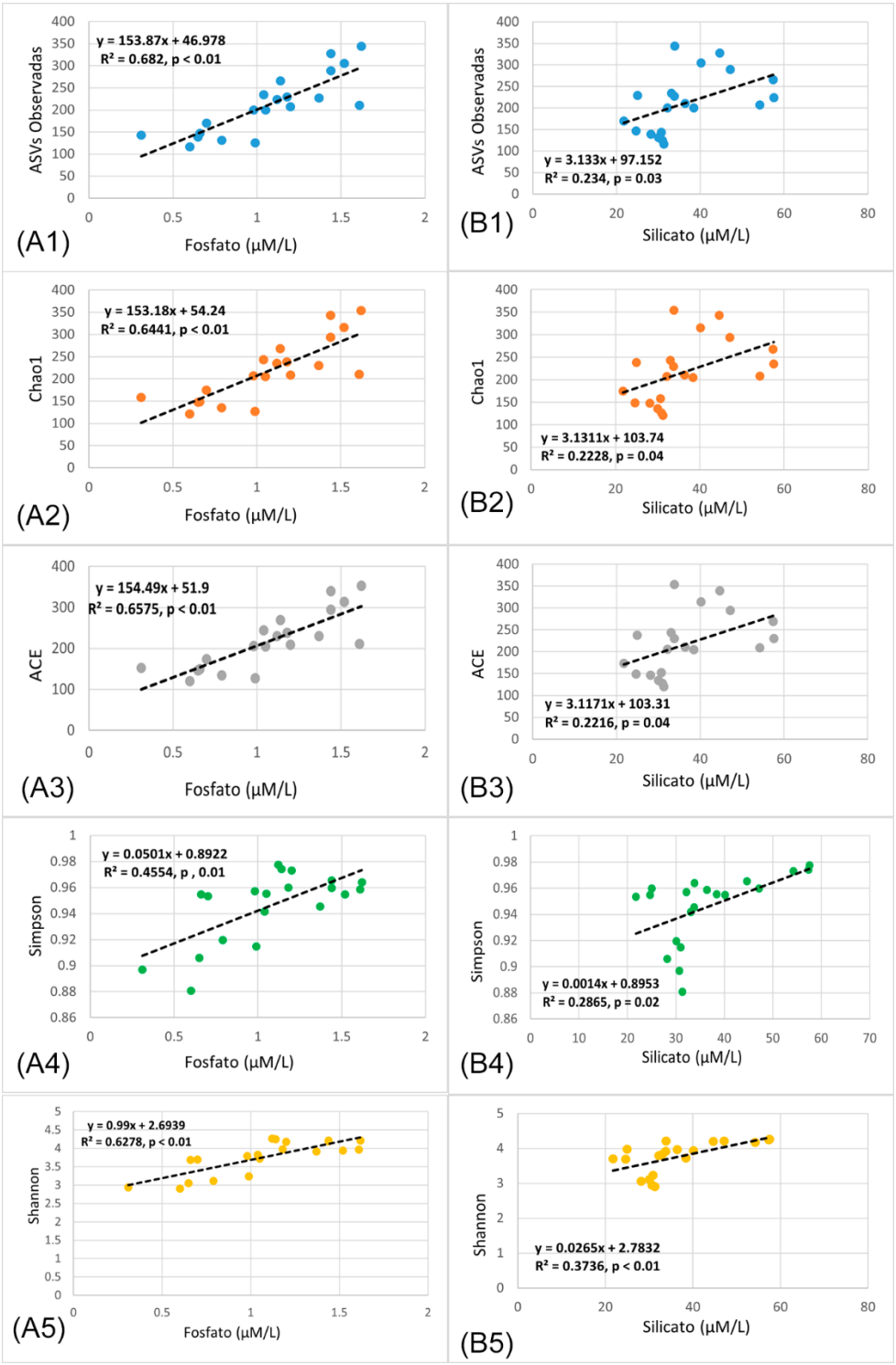



Figura S2: Análises de regressão linear entre os índices de alfa-diversidade (ASVs Observadas, Chao1, ACE, Simpson e Shannon) e os parâmetros ambientais: fosfato (A1-A5) e silicato (B1-B5). Informações estatísticas estão presentes no canto superior esquerdo para fosfato, e no canto inferior esquerdo para silicato.