



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR

**OBTENÇÃO DE GENOMAS BACTERIANOS A PARTIR DE DADOS
METAGENÔMICOS DA USINA HIDRELÉTRICA DE TUCURUÍ**

MARCOS DANIEL MENDES PADILHA

Belém-Pará
Agosto-2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR

**OBTENÇÃO DE GENOMAS BACTERIANOS A PARTIR DE DADOS
METAGENÔMICOS DA USINA HIDRELÉTRICA DE TUCURUÍ**

MARCOS DANIEL MENDES PADILHA

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará como requisito final para obtenção do grau de mestre em Genética e Biologia Molecular

Orientador (a): Prof. Dr. Diego Assis das Graças

Belém-Pará
Agosto-2023

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

P123o Padilha, Marcos Daniel Mendes.
Obtenção de genomas bacterianos a partir de dados metagenômicos da UHE de Tucuruí / Marcos Daniel Mendes Padilha. — 2023.
xv, 101 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Diego Assis das Graças
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará,
Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em
Genética e Biologia Molecular, Belém, 2023.

1. Adaptação microbiana. 2. Metagenoma de lago. 3. Bactérias de lagos de água doce. 4. Bioquímica e metabolismo microbiano. I. Título.

CDD 576.5

MARCOS DANIEL MENDES PADILHA

**OBTENÇÃO DE GENOMAS BACTERIANOS A PARTIR DE DADOS
METAGENÔMICOS DA USINA HIDRELÉTRICA DE TUCURUÍ**

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará como requisito final para obtenção do grau de mestre em Genética e Biologia Molecular

Orientador: Pr. Dr. Diego Assis das Graças
Instituto de Ciências Biológicas - UFPA

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Rafael Azevedo Baraúna (Avaliador)
Instituto de Ciências Biológicas - UFPA

Prof. Dr. Artur Luiz da Costa da Silva (Avaliador)
Instituto de Ciências Biológicas - UFPA

Prof^a. Dr^a. Danielle Murici Brasiliense Seligmann (Avaliadora)
Instituto Evandro Chagas - IEC

Prof. Dr. Adonney Allan de Oliveira Veras (Suplente)
Instituto de Ciências Biológicas - UFPA

Belém-Pará

Agosto-2023

INSTITUIÇÕES E FONTES FINANCIADORAS

Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular - PPGBM

Laboratório de Engenharia Biológica - ENGEBIO da Universidade Federal do Pará

Centro de Genômica e Biologia de Sistemas - CGBS da Universidade Federal do Pará

Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq

Instituto de Ciências Biológicas - ICB

Concessionária do serviço público de energia elétrica Eletrobras Eletronorte do Pará

*“Treine a si mesmo a deixar partir tudo que teme
perder”*

(Yoda)

DEDICATÓRIA

A minha querida orientadora doutora Rosimar Neris Martins Feitosa que me motiva e me inspira a seguir nas pesquisas de biologia parasitária, especialmente a Virologia e ser um futuro virologista.

Ao meu orientador Dr. Gustavo Moraes Holanda que tem me guiado e contribuído muito para minha formação ao longo da minha graduação e mesmo depois da graduação como Biólogo.

A família Ribeiro que tem me dado suporte desde a época da graduação e contribuíram imensamente para minha formação.

A minha querida e gentil amiga Maria das Graças Veiga da Silva Ribeiro que sempre me deu suporte durante minha graduação e contribuiu bastante para muitas coisas acontecerem na minha vida profissional.

Aos alunos do curso de Biomedicina da UFPA que sempre me apoiam, elogiam e me motivam a continuar como professor e pesquisador.

A meus professores, colegas, familiares e todos que contribuíram direta e indiretamente para minha formação.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Orientador Dr. Diego Assis das Graças que me concedeu a oportunidade de desenvolver esse projeto de pesquisa no laboratório de Engenharia Biológica e tem direcionado da melhor forma a minha pesquisa, sou imensamente grato.

Agradeço imensamente a Deus por ter me guiado e dado forças para continuar nessa caminhada de pós-graduação que não tem sido fácil mas árdua.

Ao colega de laboratório Sávio de Souza Costa por me auxiliar e se comprometer em ajudar nas minhas análises de bioinformática.

Ao Doutor Adonney Allan de Oliveira Veras por me auxiliar e se comprometer a ajudar nas minhas análises de bioinformática.

Ao colega de laboratório Johnes Pinto Sanches por me auxiliar e se comprometer em ajudar com a formatação gráfica desse documento.

Ao laboratório de Engenharia Biológica - EngBio por subsidiar as ferramentas adequadas para execução desse projeto de pesquisa.

Ao Centro de Genômica e Biologia de Sistemas - CGBS por fornecer estrutura e suporte a pesquisa realizada.

A Universidade Federal do Pará - UFPA pelo suporte e fornecer tudo que preciso para desenvolver essa pesquisa.

Ao CNPq pela bolsa de pesquisa.

Sumário

Lista de abreviaturas e Siglas	10
Lista de figuras	12
Resumo	15
Abstract	16
1 INTRODUÇÃO	17
1. 1 Características gerais das bactérias	17
1. 1. 1 Bioquímica e metabolismo de bactérias de lagos da Amazônia	20
2 USINA HIDRELÉTRICA DE TUCURUÍ	24
2. 1 Caracterização e definições gerais	24
2. 1. 1 Importância econômica	27
2. 1. 2 Aspectos socioambientais	28
2. 1. 3 Perspectiva humana e regional	30
2. 2 Microbioma de Tucuruí	30
3 METAGENÔMICA	33
3. 1 Histórico da metagenômica	33
3. 2 Bioinformática	35
3. 2. 1 Genomas montados em metagenoma	37
4 OBJETIVOS	40
4. 1 Objetivo geral	40
4. 2 Objetivos específicos	40
5 MATERIAL E MÉTODOS	41
5. 1 Obtenção de amostras e dados	41
5. 2 Análise de dados	42
5. 3 Análise dos MAGs	42
6 RESULTADOS	44
6. 1 Análise do sequenciamento	44
6. 2 Análise Taxonômica e de diversidade das amostras	47
6.3 Descrição dos principais MAGs encontrados	51
6. 4 Perfil funcional dos MAGs	57
7 DISCUSSÃO	60
8 CONCLUSÃO	67
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
SEÇÃO DE RECURSOS DA INTERNET	92
APÊNDICES	93
APÊNDICE A - Características das estações do lago da UHE de Tucuruí e suas profundidades máximas	94
APÊNDICE B - Completude de sequenciamento em percentual dos 80 MAGs	95
ANEXOS	98
ANEXO A - Localização da UHE de Tucuruí e suas estações	99

ANEXO B - Mapa do lago de Tucuruí com o ponto de coleta das amostras	100
ANEXO C - Maquinaria de fosforilação oxidativa	101
ANEXO D - Maquinaria de fotossíntese em cianobactérias no lago de Tucuruí	102

Lista de abreviaturas e Siglas

C - Carbono
pH - Potencial hidrogeniônico
N - Nitrogênio
P - Fósforo
K - Potássio
DNA - Ácido desoxirribonucleico
LPS - Lipopolissacarídeos
MAGs - Genomas montados em metagenomas
CO₂ - Dióxido de carbono
CBB - Ciclo Calvin Benson Bassham
H - Hidrogênio
H₂S - Sulfeto de hidrogênio
S₂O₃²⁻ - Tiosulfato
S - Enxofre
Fe - Ferro
Pi - Fósforo inorgânico
ATP - Adenosina trifosfato
SO₄²⁻ - Sulfato
NO₃ - Nitrato
CH₃COO- - Acetato
CH₄ - Metano
NH₃ - Amônia
NO₂⁻ - Nitrito
MCR - metil-coenzima M redutase
Óxido nitroso - N₂O
SsC - Sistemas de dois componentes
UHE - Usina Hidrelétrica
MW - Megawatts
Hg - mercúrio
MeHg - Metilmercúrio

µg/g - Micrograma/grama

ARGs - Genes de resistência a antibióticos

WGS - *Whole Genome Sequence*

rRNA - Ácido ribonucleico ribossomal

pb - Par de bases/Pares de bases

Lista de figuras

Figura 1 - As interações entre os microrganismos no microbioma mudam ao longo do tempo e espaço	19
Figura 2 - Metabolismo anaeróbios e microaeróbios na comunidade bentônica de Laguna Negra	22
Figura 3 - Via de biossíntese de peptidoglicano em <i>E. coli</i>	23
Figura 4 - Envelope celular de bactéria Gram-negativa e o transporte de LPS	24
Figura 5 - Localização da UHE de Tucuruí na bacia do rio Tocantins	25
Figura 6 - Extensão do reservatório da UHE de Tucuruí e os 7 municípios atingidos pela barragem do Rio Tocantins	26
Figura 7 - Representação das principais etapas do processo fermentativo pelas bactérias do lago da UHE de Tucuruí	31
Figura 8 - Os mecanismos celulares que conferem resistência ao mercúrio nas bactérias envolvem, bioacumulação, transformação enzimática, volatilização, sequestro intercelular por metalotioneínas e sequestro extracelular por EPS	33
Figura 9 - Construção de bibliotecas e estratégia de <i>pooling</i>	34
Figura 10 - Geração de <i>binnings</i> e gráfico de montagem onde é possível analisar a extração de leituras e remontagem de MAGs calculando a distância entre os <i>binnings</i> nos vértices compartilhados	36
Figura 11 - Filogenia, taxonomia e tamanho do genoma de genomas montados em metagenomas (MAGs) reconstruídos	38
Figura 12 - Estatística resumida e características de MAGs com curadoria que foram gerados em 4 abordagens (coassembly de metaSPAdes e CONCOCT [cinza], coassembly de metaSPAdes e DAS Tool [laranja], coassembly de metaSPAdes MetaBAT2 [azul], e metaSPAdes reagrupados time-montagem discreta e CONCOCT [verde])	39
Figura 13 - Localização da UHE de Tucuruí e suas estações	99
Figura 14 - Mapa do lago de Tucuruí com o ponto de coleta das amostras	100
Figura 15 - Gráfico com média de qualidade de leitura por pb do sequenciamento <i>Ion ProtonTM</i>	44
Figura 16 - Distribuição das frequências e significâncias por contagem de leitura de conteúdo GC em percentual	45

Figura 17 - Gráfico do comprimento total de leituras mapeadas em pb de acordo com a distribuição de todas as sequências	46
Figura 18 - Qualidade e distribuição de todas as sequências pelo valor de significância de qualidade de <i>Phreds</i>	47
Figura 19 - Classificação taxonômica em nível de Filo Fornecida pelo <i>KBASE</i>	49
Figura 20 - Classificação taxonômica em nível de Família Fornecida pelo <i>KBASE</i>	50
Figura 21 - Gráfico em percentual fornecido pelo BUSCO	52
Figura 22 - Gráfico do perfil funcional dos 80 MAGs com o valor em porcentagem	57
Figura 23 - Gráfico do perfil funcional do MAG 64 com valor em porcentagem	58
Figura 24 - Gráfico do perfil funcional do MAG 72 com valor em porcentagem	58
Figura 25 - Gráfico do perfil funcional do MAG 73 com valor em porcentagem	59
Figura 26 - Maquinaria de fosforilação oxidativa	101
Figura 27 - Maquinaria de fotossíntese em cianobactérias no lago de Tucuruí	102

Resumo

Tucuruí é a segunda maior Usina Hidrelétrica brasileira, o lago artificial no município de Tucuruí alterou o ecossistema da região. Muitos microrganismos de vida livre responsáveis pela degradação de biomassa, decomposição de matéria orgânica, ciclos biogeoquímicos, alguns de interesse clínico, estão adaptados para viver no reservatório do lago. Esta pesquisa tem por objetivo a obtenção de genomas bacterianos por dados metagenômicos e identificar perfis funcionais e metabolismos microbianos no lago. Amostras de água e sedimento foram coletadas no lago da Usina Hidrelétrica de Tucuruí nas camadas fótica, afótica e sedimentar da estação do montante do novo repartimento. Após a filtração em membrana de nitrocelulose as amostras de DNA foram extraídas. O sequenciamento de metagenoma total foi realizado na plataforma Ion Proton™. Utilizou-se o Megahit para a montagem dos metagenomas. ORFs foram previstas usando Prodigal e foi usado o BUSCO para as quantificações de métricas de completude para avaliação comparativa de ortólogos universais de cópia única. Os genomas montados em metagenomas foram classificados nos banco de dados. Os filós foram definidos em nível de gênero e espécie, onde foi encontrado uma microbiota diversa e extremamente conservada. O perfil funcional dos metagenomas encontrados corroborou com outros estudos de metagenomas de lagos oligotróficos, demonstrando alta atividade bioquímica, conservada e diversa, sendo um estudo pioneiro ao montar os primeiros metagenomas de amostras da Usina Hidrelétrica de Tucuruí.

Palavras-chave: Adaptação microbiana, Metagenoma de lago, Bactérias de lagos de água doce, Bioquímica e metabolismo microbiano

Abstract

Tucuruí is the second largest Brazilian Hydroelectric Power Plant, the artificial lake in the municipality of Tucuruí has altered the ecosystem of the region. Many free-living microorganisms responsible for biomass degradation, organic matter decomposition, biogeochemical cycles, some of clinical interest, are adapted to live in the lake reservoir. This research aims to obtain bacterial genomes by metagenomic data and identify functional profiles and microbial metabolisms in the lake. Water and sediment samples were collected in the lake of the Tucuruí Hydroelectric Power Plant in the photic, aphotic and sedimentary layers of the station upstream of the new division. After filtering through a nitrocellulose membrane, the DNA samples were extracted. Total metagenome sequencing was performed on the Ion Proton™ platform. Megahit was used to assemble the metagenomes. ORFs were predicted using Prodigal and BUSCO was used for the quantification of completeness metrics for comparative evaluation of single-copy universal orthologues. Genomes assembled into metagenomes were classified in the databases. The phyla were defined at the genus and species level, where a diverse and extremely conserved microbiota was found. The functional profile of the metagenomes found corroborated with other studies of metagenomes of oligotrophic lakes, demonstrating high biochemical, conserved and diverse activity, being a pioneering study when assembling the first metagenomes of samples from the Tucuruí Hydroelectric Power Plant.

Keywords: Microbial adaptation, Lake metagenome, Freshwater lake bacteria, Biochemistry and microbial metabolism

1 INTRODUÇÃO

1.1 Características gerais das bactérias

A biodiversidade do ecossistema tornou-se objeto de estudo intensivo, e uma gama de informações vem sendo reunida sobre a distribuição de microrganismos ao redor do mundo. Além disso, há um interesse crescente no papel dos microrganismos em processos biogeoquímicos, biotecnologia, poluição e saúde (Poli *et al.*, 2017).

Para Wagg *et al.* (2021), as composições das comunidades microbianas são altamente dinâmicas, e as mudanças na composição levam a alterações nas funções dos ecossistemas. Zheng *et al.* (2019) afirmam que bactérias, arqueias e fungos contribuem para decomposição de matéria orgânica, dinâmica do carbono (C) e ciclagem de nutrientes. De acordo com Jiao *et al.* (2021), algumas espécies de bactérias podem sintetizar antibióticos afetando a competição interespecífica por recursos, como compostos voláteis, para inibir a germinação de esporos fúngicos, crescimento, atividade enzimática e expressão gênica.

Características microbianas intrínsecas como crescimento heterotrófico, autotrófico, potencial vegetativo, genes de esporulação, sistemas de toxina e antitoxina, fatores promotores de reativação, bioquímica, fisiologia e reações redox, têm sido associadas a uma capacidade aprimorada de funções mediadas por micróbios em diversos habitats (Bardgett and Caruso, 2020).

Para Maestre *et al.* (2015), os fatores intrínsecos podem ser definidos como a resiliência e resistência microbiológica em resposta a uma perturbação, bem como a capacidade de se recuperar. Membros do filo *Actinobacteria* predominantes em solo seco mostraram-se altamente resistentes devido à alta tolerância à dessecação. Em contraste, membros do filo *Acidobacteria* são menos resistentes, porém mais resilientes, mostrando notável recuperação devido à sua estratégia de crescimento rápido (Barnard *et al.*, 2013).

Jin and Kirk (2018) afirmam que o pH das bactérias, é outro condicionante intrínseco podendo afetar muitos fatores como a química de metabólitos, enzimas e permeabilidade da membrana celular. Os micróbios normalmente vivem em uma faixa de 3 a 4 unidades de pH e são descritos como acidófilos aqueles que crescem em $\text{pH} < 5$, neutrófilos entre 5 e 9 e alcalifílicos > 9 .

Borowik *et al.* (2021) definem fatores extrínsecos como todos aqueles baseados em condicionantes ambientais externos, como indicadores físicos relacionados a textura,

agregação, porosidade e umidade do substrato; bem como fatores químicos, incluindo os teores de Carbono orgânico, nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) disponíveis.

Nguyen *et al.* (2021) argumentam que atividades microbianas, que ocorrem em diferentes ambientes químicos e físicos são altamente dinâmicas e experimentadas pelas bactérias como diferenças ambientais no microbioma, em condições de temperatura controlada, luz e fluidos, bactérias tendem a mudar à medida que há variações desses parâmetros no ambiente.

De acordo com Seel *et al.* (2016) em bactérias a temperatura condiciona importantes enzimas para mediar adaptação metabólica a ambientes extremos como no caso de termofílicas e mesofílicas. Zhao *et al.* (2013) definem a temperatura como fator-chave, seu impacto acelera a cinética da reação no crescimento microbiano e funções fisiológicas, que permitem às bactérias adaptações a faixas de temperatura específicas em diversos ambientes.

Variações ambientais são onipresentes, diversas e moldam o comportamento microbiano, sua ecologia e evolução. A fração de mutações benéficas aumenta conforme as mudanças nos gradientes ambientais, podendo criar ambientes nos quais as bactérias evoluem rapidamente. Os micróbios desenvolveram características especializadas para sobreviver em ambientes diversos entre várias condições (Nguyen *et al.*, 2021a).

Para Nguyen *et al.* (2021b) and Pribis *et al.* (2022), a estabilidade fisiológica confere vantagem de crescimento. A existência de mecanismos de mutagênese induzida é regulada positivamente em resposta à estressores. Isso implica que a taxa de mutação aumenta quando as células estão mal adaptadas ao seu ambiente, o que torna as bactérias microrganismos mais bem adaptadas.

Stuart and Franklin (2008) argumentam que outros mecanismos contribuem para a heterogeneidade adaptativa. A expressão gênica estocástica, também influencia essa heterogeneidade, no contraste de mudanças nas sequências de DNA, subpopulações microbianas expressam genes diferentes da população maior de maneira estocástica, em vez de uma determinada variante ambiental (Figura 1).

Di Lorenzo *et al.* (2020) afirmam que os Lipopolissacarídeos (LPS) na membrana externa de bactérias gram-negativas, são macromoléculas anfífilas indispensáveis para a viabilidade e sobrevivência. Sobre condições adversas, as bactérias podem modificar sua

estrutura primária de LPS para reforçar o envelope celular, fornecendo proteção adicional e facilitar a adaptação.

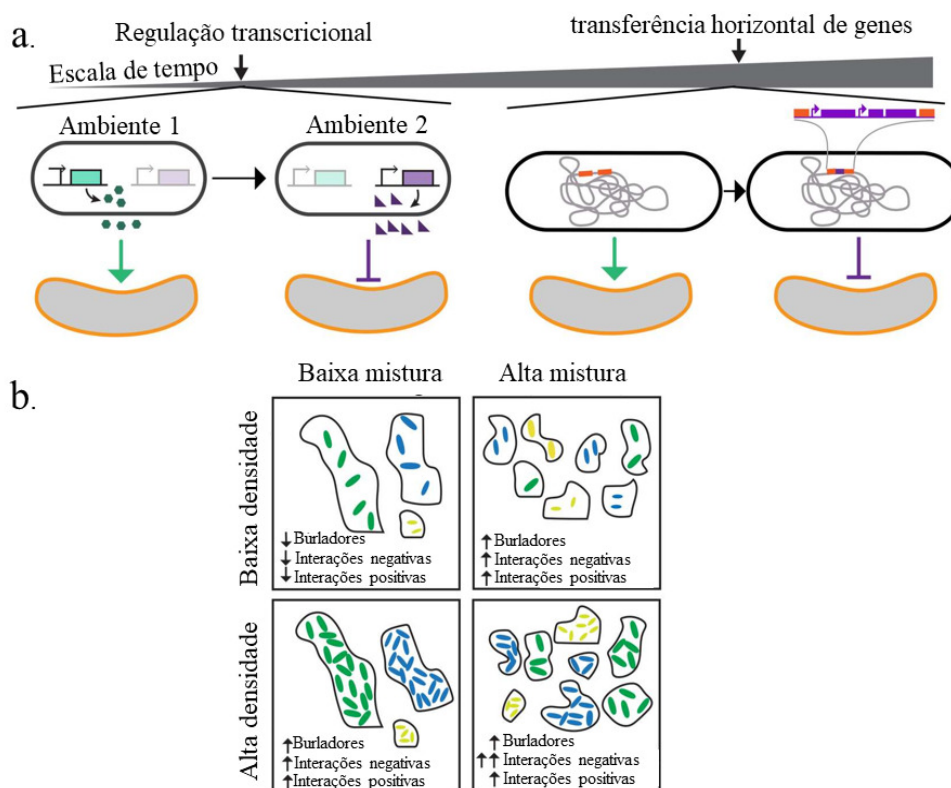


Figura 1 - As interações entre os microrganismos no microbioma mudam ao longo do tempo e espaço. **(a)** alterações nas atividades da rede intracelular ou no genótipo por mutação aleatória ou transferência horizontal de genes podem levar a alterações nas interações microbianas; em um ambiente um micróbio pode produzir moléculas que levam a um impacto positivo em um segundo micróbio (círculos verdes e seta verde), enquanto no segundo ambiente o mesmo micróbio pode produzir moléculas que levam a um impacto negativo em um segundo micróbio (triângulos roxos e seta roxa) devido a mudanças na atividade transcricional; Direita: Em escalas de tempo longo, alterações genéticas devido a transferência horizontal de genes podem alterar as redes intracelulares, o DNA pode ser captado por outra bactéria receptora e integrado ao cromossomo por meio de recombinação homóloga, quando isso ocorre as atividades funcionais de um micróbio podem mudar. **(b)** Esquema destacando uma hipótese sobre como uma mistura espacial (*eixo x*) e densidade populacional (*eixo y*) pode alterar a frequência em que o benefício da cooperação é desproporcional a contribuição para a cooperação e as distribuições de interações positivas/negativas em uma comunidade microbiana. As setas para baixo indicam uma frequência baixa e as setas para cima uma frequência alta. Fonte (Adaptado de Cao *et al.*, 2018).

Os micróbios são os microrganismos mais abundantes do planeta. A composição da comunidade microbiana alterna de acordo com gradientes ambientais, como distância geográfica, salinidade, temperatura, condições climáticas e de nutrientes (Thompson *et al.*, 2017). Interrompem a produção de poços de petróleo e gás, contaminam o abastecimento de água potável, no meio clínico causam múltiplas infecções, mas também podem ser benéficos como no tratamento de águas residuais, biodisponibilidade de nutrientes no solo ou bioremediação de derramamentos de óleo (Pandit *et al.*, 2020; Hemdan *et al.*, 2021).

Lortou *et al.* (2022) afirmam que, apesar dos avanços tecnológicos e das pesquisas identificarem novos táxons todos os anos, ainda existe uma grande diversidade de espécies

microbianas que não foram descritas. A biologia desses microrganismos ainda permanece inexplorada e com elevada diversidade.

A diversidade funcional e genômica dos micróbios é essencial para os padrões e funcionamento dos ecossistemas, a metagenômica nesse contexto se tornou uma ferramenta poderosa das ômicas independente de meios de cultura para compreensão dos padrões evolutivos, bioquímica e perfil funcional (Escalas *et al.*, 2019).

Um grande número de ferramentas de bioinformática para análise microbiana foram desenvolvidas, isso é importante, pois agora é muito comum incluir genomas isolados não caracterizados e genomas montados por metagenomas (MAGs) na análise e identificação de táxons em nível de filo, gênero ou espécie (Li and Yin, 2022). Assim, os MAGs específicos de microrganismos levam a descobertas de táxons microbianos não caracterizados anteriormente e aprofundam a compreensão da fisiologia e ecologia microbiana (Hickl *et al.*, 2022).

1. 1. 1 Bioquímica e metabolismo de bactérias de lagos da Amazônia

Transformações bioquímicas são realizadas por redes biomoleculares distribuídas, os produtos são utilizados como fonte de energia pelas bactérias acetogênicas, metanogênicas, redutoras de sulfato e nitrificantes (Cao *et al.*, 2019). De acordo com Santos-Júnior *et al.* (2020), a bacia do rio Amazonas compreende quase 38% da América do Sul continental, e sua descarga é responsável por 18% das entradas de águas interiores do mundo para os oceanos. Apesar de sua relevância para processos em escala global, há uma compreensão limitada do microbioma da região do Amazonas.

Reis *et al.* (2019) destacam que as planícies de inundação amazônicas formam redes hidrológicas complexas, desempenhando papéis relevantes nos ciclos biogeoquímicos globais, a degradação bacteriana de matéria orgânica nesses sistemas por processos bioquímicos é fundamental para o balanço do C regional. Nesses ecossistemas aquáticos as comunidades microbianas podem ser encontradas de acordo com seu estilo de vida.

Alfreider *et al.* (2018) argumentam que, em diferentes gêneros de bactérias, a enzima responsável pela fixação de dióxido de carbono (CO₂) no ciclo Calvin Benson Bassham (CBB) é a RubisCO. Essa enzima é conhecida por sua afinidade catalítica para CO₂ e mecanismos de concentração de C, que apoiam melhor crescimento em baixas concentrações de CO₂ em lagos de água doce.

Segundo Nezio *et al.* (2021), as bactérias sulfurosas fototróficas anoxigênicas em ambientes anóxicos são os principais microrganismos produtores primários de carbono inorgânico. Essas bactérias podem foto-oxidar elétrons como hidrogênio (H), sulfeto de hidrogênio (H₂S), tiosulfato (S₂O₃²⁻), enxofre (S) e ferro (Fe). Elas prosperam em ambientes onde tanto a luz quanto sulfetos estão presentes, incluindo sedimentos, fontes termais e lagos de água doce.

Para Fecskeová *et al.* (2019), as bactérias fototróficas anoxigênicas usam centros de reação contendo bacterioclorofila (*BChl*). Os centros de reação fotossintética conduzem o tipo I baseados em FeS (sulfeto de ferro) sendo encontrados em Chlorobi, Firmicutes, Acidobacteria já o tipo II, feotina-quinona são encontrados em Proteobacteria, Chloroflexi e Gemmatimonadetes.

A maioria dos fototróficos mencionados depende de um centro de reação heterodimérico tipo 2 com os genes *pufL* e *pufM*. Dessa forma, todas as bactérias fototróficas oxigênicas e anoxigênicas usam o complexo enzimático protoclorofilida oxiredutase, codificado pelos genes *chlLNB* e *bchLNB* (Tahon *et al.*, 2016).

Em lagos oligotróficos de água doce, a limitação de P é comum, bactérias podem se adaptar a deficiência de P, sensores de fósforo inorgânico (Pi) e proteínas de respostas atuam como ativadores transcricionais do regulon *Pho*, que codifica genes de clivagem e incorporação de compostos de fósforo orgânico dissolvido. O ATP é clivado por hidrolases e os resíduos de Pi liberados são absorvidos pelas células (Rofner *et al.*, 2016).

Picazo *et al.* (2021) afirmam que a influência dos sedimentos do fundo dos lagos, pode explicar a ocorrência de microrganismos com potencial metabolismo anaeróbio, como a respiração dissimilatória de sulfato (SO₄²⁻) e nitrato (NO₃⁻), bem como a presença de oxidantes de metano.

A respiração dissimilatória de SO₄²⁻, por bactérias de lagos, como representantes do filo Deltaproteobacteria, envolve oxidases terminais para respirar oxigênio, genes que codificam para SO₄²⁻ como *sat*, *aps* e *dsr* são constitutivamente transcritos. *Disulfotignum* também expressa monóxido de carbono desidrogenase e acetil-CoA sintetase para a oxidação de acetato (CH₃COO⁻) ou fixação de CO₂ (Saad *et al.*, 2017).

No estudo de Graças *et al.* (2011) foi identificado que zonas anóxicas de água doce são de grande interesse microbiano para arqueias e bactérias metanogênicas, presentes

nesses ambientes, que capturam C e metabolizam em CO₂ ou CH₃COO⁻ em vários estágios resultando em metano (CH₄) como produto final.

Milucka *et al.* (2015) afirmam que a via bioquímica para oxidação do CH₄ por bactérias envolve enzimas monooxigenases solúveis, também utilizada por *Methylomirabilis oxyfera* que pode acoplar oxidação aeróbica do CH₄ à redução de nitrito (NO₂⁻) a nitrogênio (N₂). Em contraste, em algumas arqueias, a via de oxidação anaeróbica a metil-coenzima M redutase (MCR) é a principal enzima ativadora do CH₄.

A nitrificação é uma etapa fundamental no ciclo do N, a oxidação de amônia (NH₃) a NO₂⁻ por micróbios é a primeira reação do processo de nitrificação, a segunda reação é a oxidação de NO₂⁻ a NO₃⁻ (Figura 2). O NO₃⁻ pode ser o aceptor de elétrons em outros metabolismos, como oxidação de compostos de S, moléculas orgânicas, ou pode ser reduzido a N₂ (Figura 2) por espécies de bactérias como *Colwellia* (Parro *et al.*, 2019).

De acordo Pan *et al.* (2023) genes nitrificantes funcionais específicos *nirK*, *nirS* e *nirZ* do processo de desnitrificação codificam redutases associadas a cada via de redução de NO₃⁻. A redução de óxido nitroso (N₂O) é a última etapa da via de desnitrificação sendo catalisada pela redutase do N₂O codificada pelo gene *nosZ* (Kandeler *et al.*, 2006).

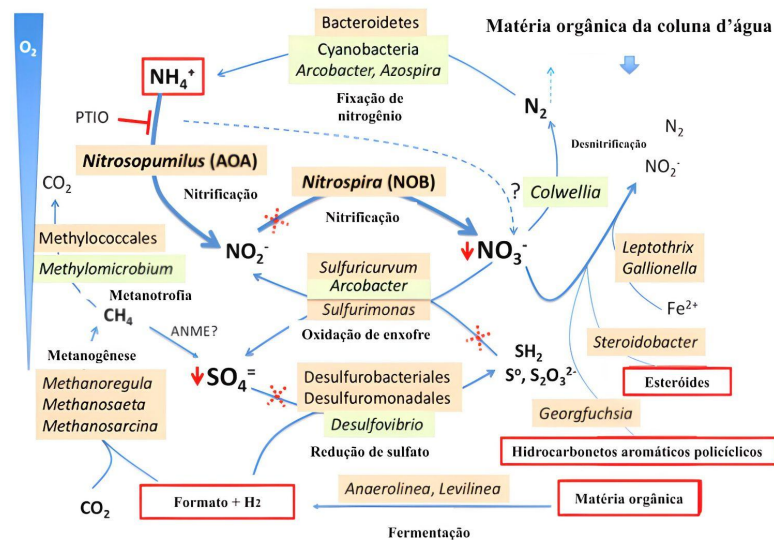


Figura 2 - Metabolismo anaeróbios e microaeróbios na comunidade bentônica de Laguna Negra. Sob condições microaeróbicas, o amônio da matéria orgânica em decomposição alimenta as arqueias oxidantes de amônia tipo *Nitrosopumilus* (AOA) acopladas a bactérias oxidantes de nitrito (NOB) (nitrificantes) do gênero *Nitrospira* para produzir nitrato. Por sua vez, o nitrato é um bom aceptor de elétrons na maioria dos nichos anaeróbios para a oxidação de compostos de enxofre por bactérias oxidantes de enxofre (SOB) ou compostos esteróides da microfauna bentônica. PAHs (hidrocarbonetos aromáticos policíclicos). Alternativamente o nitrato pode seguir um processo de desnitrificação completo para N₂ que, por sua vez, e considerando a oligotrofia das águas, pode ser fixado novamente por Cyanobacteria, *Azospira* ou espécie *Arcobacter*, fechando todo o ciclo do N₂. A fermentação da matéria orgânica produz pequenos ácidos orgânicos que são utilizados como redutor para metanogênese ou redução de sulfato nos nichos anaeróbios. Fonte (Adaptado de Parro *et al.*, 2019).

Sistemas de dois componentes (SsC), são vias de transdução de sinal que permitem bactérias detectar e vincular respostas genéticas bioquímicas para adaptação e sobrevivência. Os SsC contém uma histidina quinase que se autofosforila após a percepção do estímulo, transfere o grupo fosforil para um regulador de resposta cognato, que então é capaz de executar funções na modulação da expressão gênica (Lemmer *et al.*, 2020).

Para Lakey *et al.* (2022) encontraram numerosos membros das Alfa/Betaproteobacteria de água doce, o regulador de resposta cognato do SsC controla a transcrição de genes alvos, cujos produtos são proteases de envelope, chaperonas periplasmáticas ou fosfotransferência por *CenK* e *CenR* e reticulações no peptidoglicano para manter a integridade da parede celular.

Para Romaniuk and Cegelski (2015), diferentes estruturas da parede celular que envolvem as bactérias atuam como uma matriz heterogênea de transporte, o principal componente e arcabouço estrutural da parede celular é o peptidoglicano (Figura 3). Ácidos teicóicos também são ligados covalentemente ao peptidoglicano para gerar uma parede celular completa que protege a célula da pressão de turgor e estresse externo.

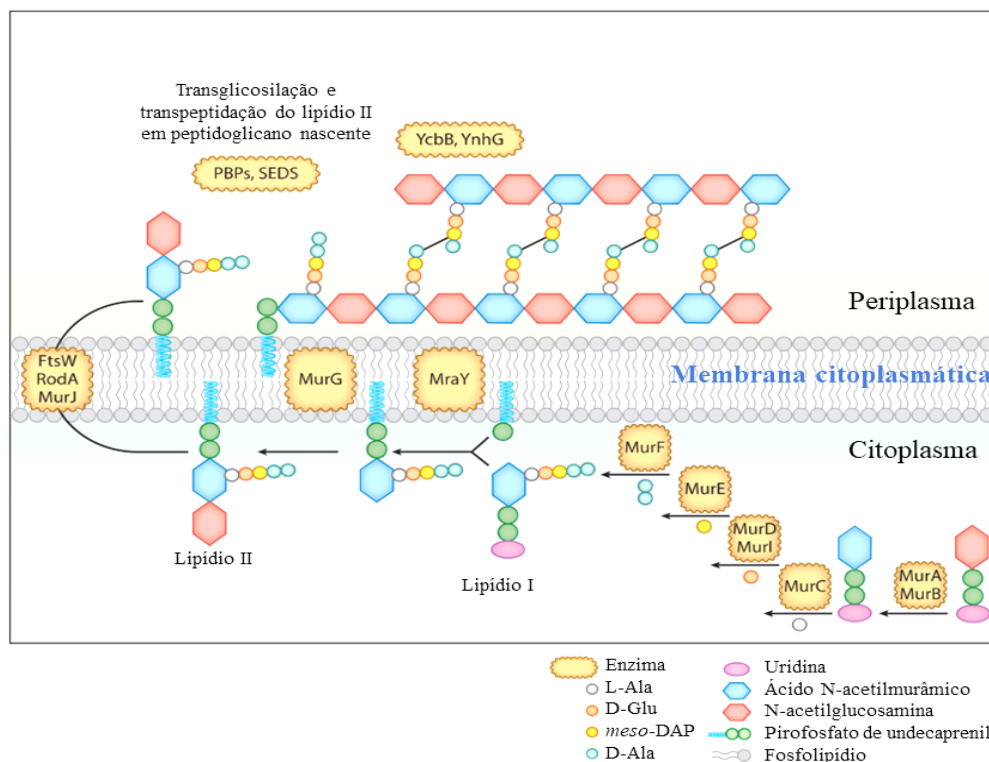


Figura 3 - Via de biossíntese de peptidoglicano em *E. coli*. Alguns componentes da parede celular não são mostrados na figura (por exemplo, a membrana externa) para simplificação. A via de biossíntese começa com a formação do nucleotídeo de Park no citoplasma, seguido pela ligação a um componente lipídico para produzir o lipídio II. Finalmente, o lipídio II é translocado através da membrana citoplasmática e então inserido no peptidoglicano existente por meio de reações de transglicosilação e transpeptidação. Abreviações: PBS, proteínas de ligação à penicilina; PG, peptidoglicano; SEDS, família de enzimas de forma, alongamento, divisão e esporulação. Fonte (Adaptado de Radkov *et al.*, 2018).

As proteínas Lpt formam um complexo que se estende desde o citoplasma até a membrana externa. O transportador LptB2FGC utiliza a ligação e hidrólise de ATP para extrair LPS com função estrutural de proteção da membrana interna. Após a extração do LPS pela associação das dobras β -jellyroll presentes (Figura 4), LptF, LptC, LptA, LptD, protegem as cadeias acil de LPS e o periplasma aquoso (Wilson and Ruiz, 2021).

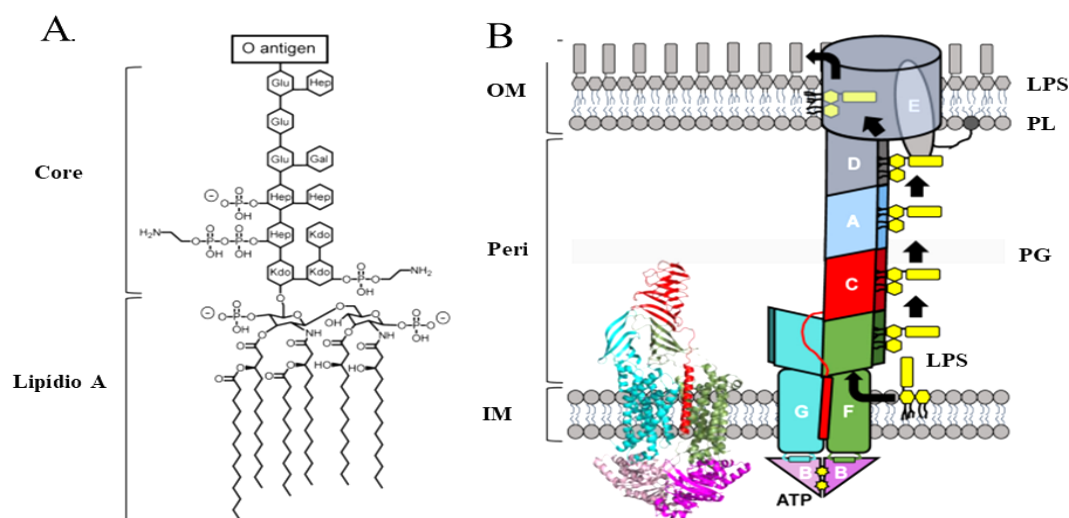


Figura 4 - Envelope celular de bactéria Gram-negativa e o transporte de LPS. **(a)** Estrutura do LPS de *E. coli* K-12. **(b)** Utilização de ATP por LptB2FGC conduz o transporte de LPS recém sintetizado (amarelo) através do compartimento periplasmático. LptB2FGC é representado tanto como uma estrutura cristalina (PDB ID: 6MJJ) a esquerda quanto um desenho animado a direita. A estrutura cristalina carrega a variante LptB/E163Q cataliticamente inativa. LPS (lipopolissacarídeo), PL (fosfolípido), PG (peptidoglicano), OM (membrana externa), IM (membrana interna), Peri (periplasma), Kdo (ceto-desoxioctulose), Hep (heptose), Glu (glicose), Gal (galactose). Fonte (Adaptado de Wilson and Ruiz, 2021).

De acordo com Stautz *et al.* (2021), a homeostase de íons também desempenha papel na osmorregulação, pH, síntese proteica, ativação enzimática, ajuste do potencial de membrana e sinalização elétrica. A partição de íons é mediada por uma série de proteínas de membrana para manter o gradiente eletrolítico. As ações dessas proteínas cooperam para manter a fisiologia da membrana em bactérias de lagos de água doce.

2 USINA HIDRELÉTRICA DE TUCURUÍ

2. 1 Caracterização e definições gerais

A Usina Hidrelétrica (UHE) de Tucuruí, situada no rio Tocantins, município de Tucuruí, sudeste do Pará, possui uma extensão total de 3.007km, separada por aproximadamente 310km de Belém (Figura 5), capital do estado do Pará, o projeto para

sua implantação teve início no ano de 1973, em plena ditadura militar, mas o projeto só foi entregue em 1984, durante o governo militar de João Figueiredo (Pompeu *et al.*, 2019).

A fase I da UHE de Tucuruí foi concluída em 1984, e compreende a barragem da usina, vertedouro, subestação e casa de força, juntamente com doze unidades acionadas por turbinas Francis de 350 megawatts (MW) nomeadas como unidade 1 para unidade 12. A fase II começou em Junho de 1998, sendo convocado a construção de uma nova casa de força com onze turbinas Francis de 375 MW acionadas, da unidade nº 13 há nº 23 (Bortoni *et al.*, 2019).

Com seus 3870 MW de potência instalada final atingidos em 2006 trata-se da maior hidrelétrica plenamente brasileira, estando atrás somente da usina de Itaipu que é binacional brasileiro-paraguaia. A obra foi conduzida pela Eletronorte, subsidiária da Eletrobrás, criada em 1973 e formada prioritariamente para conduzir o projeto de Tucuruí (Campos, 2019).



Figura 5 - Localização da UHE de Tucuruí na bacia do rio Tocantins. Fonte: Adaptado de Tripadvisor (Usina Hidrelétrica de Tucuruí 2023) e Google Maps (2023) (Acessados em 03/02/2023).

Segundo Silva *et al.* (2017) o rio Tocantins possui uma bacia hidrográfica de 767.000km, desde o planalto central até o estuário do Amazonas, a sua confluência com seu principal afluente, o rio araguaia, dá início ao trecho onde se encontra o reservatório da UHE de Tucuruí. De acordo com Almeida (2019), a configuração Tocantins-Araguaia é no sentido latitudinal alongada, abrangendo áreas dos estados de Goiás, Mato Grosso, Pará,

Maranhão, Distrito Federal e ainda fazendo limites com as bacias do Paraná, Paraguai, Xingu, São Francisco e Parnaíba.

A área do lago está localizada entre as latitudes 03° 24' e 05° 28' S e 48° 22' e 50° 59' W, corresponde a uma parte da região Tocantins-Araguaia (Figura 6), cobrindo todos os municípios atingidos pelo reservatório de Tucuruí, sendo eles: Tucuruí, Breu Branco, Goianésia do Pará, Itupiranga, Jacundá, Nova Ipixuna, Novo Repartimento, além da represa de Tucuruí formada pela barragem do Rio Tocantins no Pará (Montoya, 2018).

A usina foi construída para fornecer energia para a produção de alumínio (Al), estimular a indústria regional, articular os vínculos e produzir energia para abastecer o país no nível de escala nacional, o represamento levou a formação do lago da UHE de Tucuruí com cerca de 200km de extensão e uma área de aproximadamente 2875 km² (Silva, 2018). Merona (1995) and Ribeiro *et al.* (1995) argumentam que devido a grande extensão existe uma densa riqueza de espécies conhecidas e espécies não catalogadas nessa bacia, várias conexões possibilitam a dispersão dos peixes, aumentando a área de distribuição de algumas espécies.

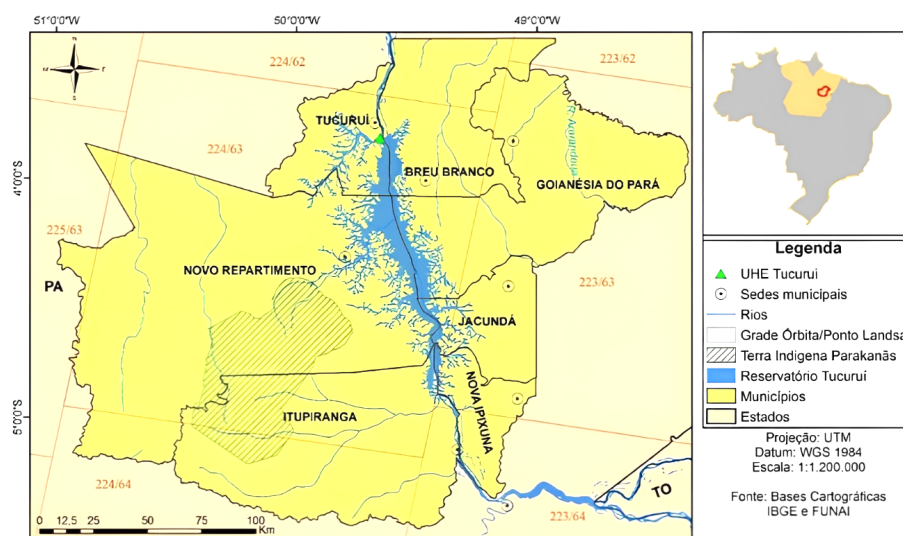


Figura 6 - Extensão do reservatório da UHE de Tucuruí e os 7 municípios atingidos pela barragem do Rio Tocantins. Fonte (Adaptado de Montoya, 2018).

O represamento de um rio ocasiona consideráveis modificações nas populações humanas e comunidades de organismos aquáticos quanto terrestres, alterando a distribuição longitudinal da fauna, e conseqüentemente, dentro e a montante do reservatório (Flexa *et al.*, 2016).

Para Yoshino (2017), a população afetada por Tucuruí não é limitada as pessoas reassentadas da área de inundação, mas inclui outras que são atraídas à área por causa de suas estradas, mercados, oportunidades de emprego fora da agricultura, sendo fatores nos efeitos sociais previstos na construção de hidrelétricas que acabam sendo subdimensionados, devido ao equívoco na definição de população afetada.

2. 1. 1 Importância econômica

De acordo com Baú *et al.* (2019), o aumento no uso de equipamentos elétricos, eleva o consumo de energia, demandando continuidade na construção de fontes hidrelétricas como a de Tucuruí, devido suas inúmeras vantagens, entre elas a flexibilidade para atender as demandas de pico, manter os níveis de tensão dos sistemas e restabelecer prontamente o fornecimento após um blecaute.

Para Caus and Michels (2014), no contexto econômico, o sistema elétrico brasileiro opera de forma coordenada, para minimizar custos globais de produção de energia. O governo em conjunto com institutos de pesquisa e desenvolvimento vem investindo na automação de usinas hidrelétricas com o objetivo de minimizar os custos, aperfeiçoar a produção, melhorar a produtividade, qualidade e segurança.

Nos primeiros anos de operação comercial, a geração de energia na região da UHE de Tucuruí acumulada foi de 1.300 milhões de kw/h, equivalentes a 3,3 milhões de barris de petróleo. A previsão era de que no futuro com a geração de 8 milhões de KW, os diversos sistemas de transmissão ligados à UHE de Tucuruí viessem a possibilitar uma economia equivalente a 400 mil barris por dia, imensamente benéfico para a economia no país (Moraes *et al.*, 1999).

Segundo Fearnside (1999), entre esses atributos a geração de energia é a fonte primária de benefícios sociais de barragens hidrelétricas, já que as quantidades de emprego e bens produzidos geralmente são proporcionais a eletricidade gerada. Para Rocha and Neves (2018), a decisão de gerar energia por meio de uma hidrelétrica como matriz energética econômica no Brasil, justifica-se devido ao grande potencial de recursos hídricos disponíveis no Brasil, tendo um potencial hídrico de 260 mil MW, sendo que na amazônia esse potencial é de 132 mil MW (51%) e demais regiões 125 mil MW (49%).

A usina de Tucuruí responde por 70% da energia elétrica produzida na região Norte e 6% do Brasil (Queiroz and Motta-Veiga, 2012). Em comparação a outras fontes de energias renováveis como eólica e solar, o principal benefício é a continuidade no abastecimento de

uso, além do custo relativamente baixo de geração de eletricidade usando água corrente, em vez de combustíveis fósseis (Nautiyal and Goel, 2020).

Para Ogino *et al.* (2019) essas diferenças no setor de energia se refletiram no desenvolvimento econômico do País, pois existe correlação entre uso nacional de energia e crescimento econômico, isso fornece uma avaliação de uma produtividade e os padrões de vida do país, as exportações de energia hidrelétrica ajudam no constante crescimento econômico e também a aumentar seu produto interno bruto (PIB).

Nautiyal and Goel (2020) argumentam que as hidrelétricas, no caso de Tucuruí, representam uma tecnologia versátil com benefícios sociais, com múltiplos objetivos como irrigação, controle de enchentes, pesca, turismo, além de ser benéfico para uma nação competir no mercado do comércio de carbono e obter créditos de carbono, e posteriormente, atingir suas metas de redução de emissões.

Bilgili *et al.* (2018) argumenta que esse desenvolvimento da barragem de Tucuruí indica claramente que o mercado de energia tende a se concentrar em fontes de energia renováveis nas últimas décadas, comparando com outras fontes renováveis, a hidroeletricidade é quase três vezes mais eficiente.

2. 1. 2 Aspectos socioambientais

Para Randell (2016), o Brasil possui uma longa história de implementação de projetos de desenvolvimento na região amazônica, embora muitos desses projetos tenham alcançado objetivos de nível nacional centrados na utilização do potencial de recursos naturais da região, vários estudos documentaram seus impactos negativos sobre populações locais, como pequenos agricultores, pescadores, comunidades indígenas e famílias deslocadas.

A UHE de Tucuruí alterou o fluxo, frequência, duração, tempo e taxa de mudança de fluxo do rio Tocantins, além de modificar o transporte de sedimentos fluviais, nutrientes e biota. A criação do reservatório mudou o ambiente de lótico para lântico, afetando a qualidade da água e potencialmente o fluxo atmosférico de gases de efeito estufa provenientes da decomposição de matéria orgânica (Timpe and Kaplan, 2017).

De acordo com Cintra *et al.* (2013), é inevitável que em qualquer represamento ocorra impactos sobre a fauna ou ictiofauna aquática, resultando em alterações na composição e abundância das espécies, com elevada proliferação, redução ou eliminação

de outras em sua área de influência, causando mudanças na estrutura da comunidade dentro e a montante do reservatório.

Segundo Rodrigues (2017), os mosquitos hematófagos são os principais vetores de doenças humanas, com a alteração do ecossistema algumas espécies do gênero *Anopheles* tendem a ter alto grau de antropofilia, podendo adaptar-se melhor a ambientes afetados, levando a mudanças no contato hospedeiro vetor com pessoas suscetíveis e aumento na incidência dos casos de malária registrados em Tucuruí pela alteração do ecossistema.

Sousa (2022) afirma que o empreendimento causou diversos danos ao ambiente e a população da região, implicando na proliferação de graves epidemias, que poderiam ser mitigadas se a empresa tivesse considerado as condições endêmicas específicas da região.

Outro aspecto socioambiental, de acordo Santos (2021), com áreas inundadas, parte ou total da floresta é perdida, um processo irreversível, habitantes são obrigados a desocupar a região e animais são mortos pela emissão de gases do efeito estufa.

A barragem inundou grande parte da área indígena Parakanã, nenhuma avaliação foi feita em relação aos impactos causados pela barragem, somente dois meses após sua construção, a Eletronorte contratou um consultor para verificar os desastres que ocasionaram pela decorrência da barragem (Fearnside, 2015). O consultor fez a avaliação em um mês e concluiu que de um a dois terços das famílias deslocadas não teriam nenhum direito à compensação por falta de títulos de terra ou equivalente aceitável (Santos, 2021).

Muitos nativos e populações locais tiveram que mudar do campo para a cidade, necessitando viver em casas pequenas e trabalhar como autônomos. 93% da área de influência do reservatório foram socializadas no meio urbano e apenas 7% em zona rural, pelo exposto, a partir daquele momento o destino dado aquela população rural, seria como população urbana desqualificada e numericamente insignificante para a vida na cidade (Magalhães, 1992).

Outro fator em hidrelétricas é o acúmulo de espécies químicas de mercúrio (Hg) e o transporte desses contaminantes. O alagamento das áreas cobertas por vegetação cria condições que favorecem a conversão do Hg em metilmercúrio (MeHg). Essa metilação do Hg, está associada a biomagnificação na cadeia trófica, o MeHg causa perda de memória, problemas cardiovasculares e disfunções no sistema nervoso simpático e parassimpático (Pestana *et al.*, 2019).

De acordo com Arrifano *et al.* (2018), trabalhos anteriores indicaram a contaminação de Hg no ambiente da UHE de Tucuruí, o Hg foi detectado na água e nos sedimentos, plantas flutuantes como *Eichhornia crassipes* ou *Scirpus cubensis* apresentaram níveis tão altos quanto $0,075 \pm 0,038 \mu\text{g/g}$ concentrados nas raízes, maiores teores foram encontrados nos peixes dessa região de acordo com suas posições na cadeia alimentar.

2. 1. 3 Perspectiva humana e regional

Benchimol and Peres (2015) afirmam que mais de 945.000 barragens foram construídas em todo o mundo, alterando mais de 50% de todos os principais rios, na América do Sul, cerca de 2.215 devem ser construídas nos próximos anos, avaliar os verdadeiros impactos da infraestrutura hidrelétrica nos ecossistemas naturais tornou-se, uma prioridade urgente para a agenda de políticas ambientais das economias emergentes.

Montoya (2018) descreveu em seu estudo que no caso da barragem de Tucuruí, ao analisar os níveis de fragmentação florestal da paisagem, no ano de 1999 quatro municípios possuíam entre 32% e 69% de seus territórios desmatados, dois deles, Tucuruí e Jacundá apresentaram as maiores manchas urbanas.

Fan *et al.* (2022) argumentam que embora as barragens hidrelétricas sejam um fenômeno global e continuem a produzir impactos fundamentais e generalizados na economia, ainda existe uma grande lacuna de conhecimento sobre seus benefícios e danos às áreas próximas de barragens em todo o mundo.

No entanto, para Werner (2012), a instalação de hidrelétricas em regiões periféricas não foi capaz de superar as desigualdades nem a subordinação do conjunto de território à lógica e ao ritmo ditados pelo centro hegemônico da economia, uma vez que a energia gerada não estaria relacionada ao impulso das atividades produtivas regionais.

2. 2 Microbioma de Tucuruí

A compreensão da dinâmica e diversidade das comunidades bacterianas planctônicas de água doce está longe de ser completa na região amazônica brasileira, a microbiota constitui um dos componentes mais importantes do metabolismo do C em ambientes aquáticos e também desempenha um papel central no processo de ciclagem de nutrientes (Cabral *et al.*, 2018).

Nesses reservatórios, a vegetação submersa sofre decomposição por hidrólise, fermentação e acidogênese. O metano (CH₄) produzido no sedimento do reservatório

permanece dissolvido na água, mas pode atingir as camadas superiores sendo oxidado por bactérias metanotróficas (Figura 7). Em ambientes ricos em matéria orgânica, o CO_2 também é produzido por bactérias sintróficas e metanogênicas (Graças *et al.*, 2013).

Vários processos afetam o balanço de C nesses reservatórios, incluindo fotossíntese e transformação do CH_4 e CO_2 por microrganismos heterotróficos. Uma quantidade considerável de vegetação presente no solo é arrastada pela chuva, cai no lago e gera uma grande quantidade de C nos sedimentos. As diferenças de comunidades microbianas encontradas predominantemente fotossintéticas e metanotróficas, indicam papel ecológico na decomposição de matéria orgânica e ciclos geoquímicos no lago (Graças *et al.*, 2014).

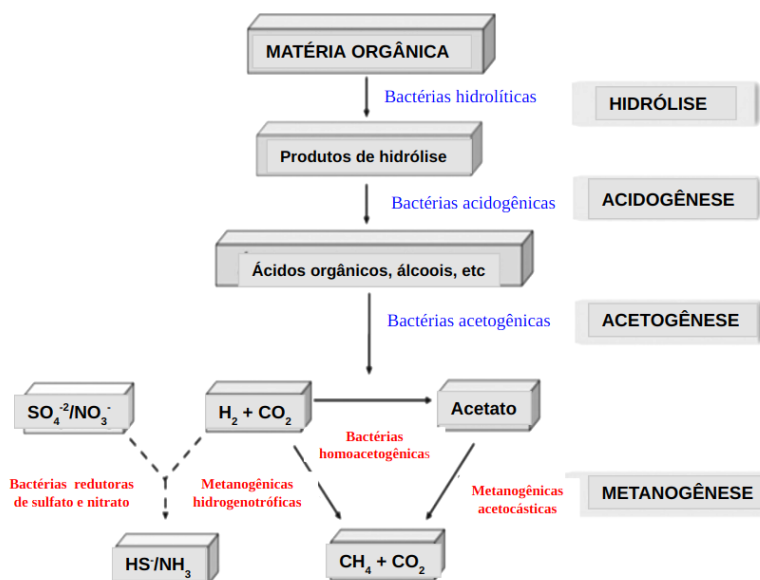


Figura 7 - Representação das principais etapas do processo fermentativo pelas bactérias do lago da UHE de Tucuruí. Fonte (Adaptado de Sá LR de Vasconcelos, Cammarota MC and Ferreira-Leitão VS, 2014).

De acordo com Costa *et al.* (2022) foram encontrados vários filos de espécies produtoras de bacteriocinas, como Proteobacteria, Actinobacteria e Firmicutes, no lago da UHE de Tucuruí, principalmente mesófilas, com algumas espécies de termofílicas e psicrófilas.

Baraúna *et al.* (2013) identificaram ampla diversidade de bactérias e arqueias no lago de Tucuruí, aproximadamente 25% das bactérias e 90% das arqueias sendo identificados como táxons ambientais não classificados, filos de arqueias Euryarchaeota e Crenarchaeota também foram identificados.

No lago de Tucuruí foram encontrados dois grupos de Crenarchaeota, o grupo marinho (I) e o Crenarqueótico Miscelâneo (II). O grupo I tem sido associado a camadas superficiais de pobres sedimentos oxidados e a oxidação autotrófica aeróbica de NH_3 . O grupo II têm sido associado a sedimentos orgânicos ricos ou pobres e estudos sugerem que podem ser anaeróbio heterotrófico (Saia *et al.*, 2011).

Segundo Chiang *et al.* (2018) and Kiersztyn *et al.* (2019), o filo Verrucomicrobia embora possam desempenhar papéis importantes em ciclos geoquímicos, pouco se sabe sobre sua ecologia em sistemas de água doce. Devido à eutrofização antropogênica sofrida no lago, os filos Actinobacteria, Cyanobacteria, Planctomycetes e Bacteroides podem ter sua capacidade de utilização das fontes de carbono afetadas, alterando o funcionamento microbiano e toda cadeia alimentar aquática.

O efluente de estações de tratamento de esgoto é uma das principais fontes de bactérias resistentes e liberação de genes de resistência para o meio ambiente. Antibióticos consumidos humanos e animais são liberados na urina e nas fezes contidos nas águas residuais tratadas e nos lodos aplicados ao solo, onde já foi observado uma associação de genes de resistência a antibióticos (ARGs) entre poluição fecal e água do rio (Karkman *et al.*, 2019).

Para Yang *et al.* (2018), os lagos e rios se comportam de maneira diferente devido a suas características hidráulicas, em rios a concentração de poluentes nos sedimentos diminui gradualmente, em lagos o tempo de residência de contaminantes aumenta devido ao longo período de retenção de água. Com essas características, prevê-se que lagos como o de Tucuruí tenham potencial para armazenar e acumular ARGs em maior extensão do que os rios.

Além da falta de saneamento, o comportamento humano também leva a distúrbios de contaminantes em sedimentos fluviais, como resíduos de pesticida, poluentes orgânicos e metais pesados. Esses poluentes foram considerados fatores de influência cruciais que afetam a diversidade de arqueias e bactérias oxidantes de NH_3 e respostas funcionais e estruturais de comunidades microbianas do ciclo de N (Wang *et al.*, 2018).

Segundo Priyadarshane *et al.* (2022), no caso da contaminação por Hg no lago da UHE de Tucuruí, o Hg é transformado por bactérias metanogênicas sendo concentrado à medida que se move de um nível trófico para o próximo, assim a biota aquática é a

principal via de transferência de Hg de um ambiente contaminado aos seres humanos (Figura 8).

Santana *te al.* (2012) encontraram duas ordens de arqueias metanogênicas Methanomicrobiales e Methanosarcinales no lago da UHE de Tucuruí, esses microrganismos com capacidade de reduzir CO₂, usam a reação catalisada pela enzima MCR, resultando na liberação de metano, devido a tendência de lagos de reservatório acumularem matéria orgânica propiciando um ambiente favorável a metanogênese.

Dall'Agnol *et al.* (2012) identificaram ampla abundância do gênero *Synechococcus* que é distribuído em ambientes aquáticos de água doce e marinha, além de ser abundante no lago de Tucuruí, onde identificou-se através de análise por genes marcadores comparando com o 16S rRNA, a presença de pelo menos seis grupos de *Synechococcus* no lago do reservatório.

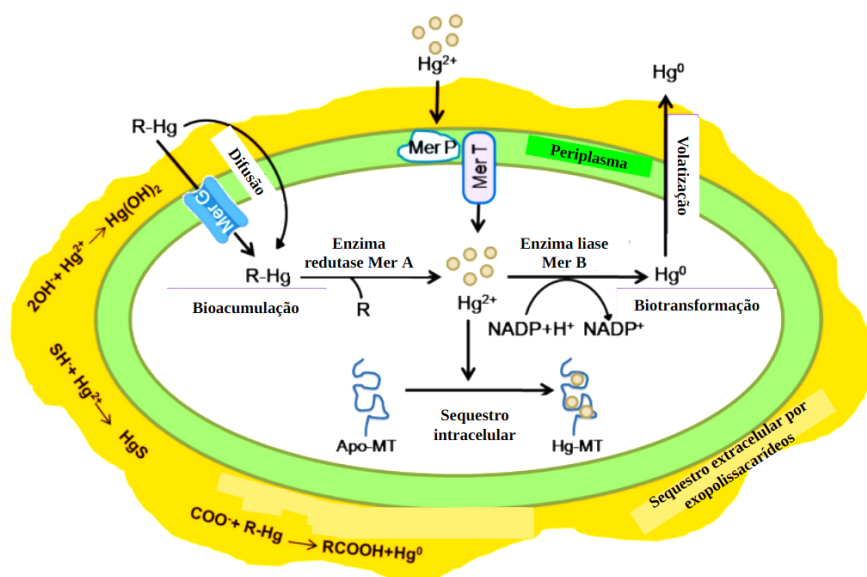


Figura 8 - Os mecanismos celulares que conferem resistência ao mercúrio nas bactérias envolvem, bioacumulação, transformação enzimática, volatilização, sequestro intercelular por metalotioneínas e sequestro extracelular por EPS. Fonte (Adaptado de Priyadarshane *et al.*, 2022).

3 METAGENÔMICA

3.1 Histórico da metagenômica

O termo “Metagenômica” foi usado pela primeira vez por Jo Handelsman, em 1998, no artigo publicado sobre microrganismos do solo, com o intuito de acessar o genoma desses microrganismos. A metodologia se tornou possível graças aos avanços da biologia

molecular e genômica, lançando as bases para clonagem e análise funcional, que foram chamados de metagenoma do solo (Handelsman *et al.*, 1998).

O metagenoma é definido como genoma da microbiota total encontrada na natureza, sendo assim, a análise atualmente se refere à soma de bactérias, vírus e fungos encontrados em amostras ambientais. Em suma, a metagenômica é o método de estudar microrganismos em um ambiente específico, usando triagem funcional de genes ou análise de sequenciamento (Zhang *et al.*, 2021).

Para Crofts *et al.* (2021), a adoção generalizada da tecnologia de sequenciamento de DNA de alto rendimento resultou em uma nova descoberta da diversidade genética presente nos microbiomas, o que se traduz em uma imensa diversidade bioquímica (Figura 9). De acordo com Sharpton (2014), nos últimos anos, o sequenciamento metagenômico tem sido usado para identificar novos vírus, caracterizar diversidade genômica e função de bactérias, revelar novas proteínas, identificar táxons, vias metabólicas e características fisiológicas que diferenciam comunidades microbianas.

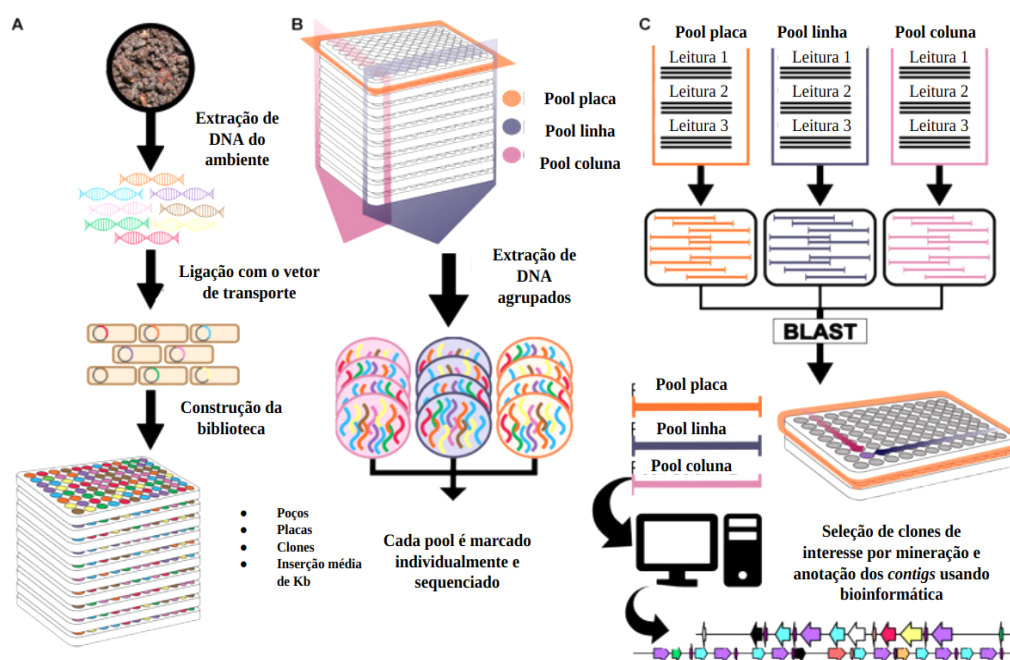


Figura 9 - Construção de bibliotecas e estratégia de *pooling*. **(a)** Estratégia de construção da biblioteca. **(b)** Estratégia de agrupamento de bibliotecas 3D: placa, coluna e linha recebem códigos de barras antes do sequenciamento. **(c)** *Contig* para clonar deconvolução e estratégia *in silico* de mineração. As leituras de cada pool são montadas separadamente em *contigs* de pool. Como seu pool de origem é conhecido, eles formam um sistema de coordenadas que aponta para seu clone de origem para triagem funcional. Fonte (Adaptado de Santana-Pereira *et al.*, 2020).

Zhang *et al.* (2021) argumentam que as principais áreas de interesse da pesquisa metagenômica incluem a diversidade microbiana, estrutura populacional, relações

genéticas e evolutivas, atividade funcional, relações cooperativas dos micróbios com o ambiente, além da medicina, agricultura, meio ambiente, biotecnologia, saúde e outros campos.

Segundo Caporaso *et al.* (2011) and Weinstock *et al.* (2012), existem duas abordagens mais usadas atualmente em metagenômica, o sequenciamento 16S, baseado em amplicon, e o *Whole Genome Sequence* (WGS) chamado *Shotgun*. A abordagem 16S é baseada no gene rRNA (ácido ribonucleico ribossomal) 16S de procariotos, sendo usada quando se deseja achar um gene específico ou espécie específica no microbioma, enquanto que no WGS é sequenciado todo o genoma inclusive o gene 16S.

A metagenômica 16S é baseada em homologia e predição, as espécies podem ser identificadas com base na sequência lida da região variável do 16S, o método requer o alinhamento de uma sequência 16S com todas as sequências 16S de um banco de dados de referência, ferramentas e *pipelines* estão disponíveis para a análise dessas sequências 16S e *Shotgun*, como MEGAN, PyNAST, UCLUST, QIIME, EzTAXON e MGRAST (Chaudhary *et al.*, 2015).

De acordo com Ranjan *et al.* (2016) and Bell *et al.* (2021), na metagenômica *shotgun* são utilizados *primers* aleatórios para sequenciar regiões sobrepostas de um genoma, esse método tem se tornado cada vez mais usado para analisar a composição de espécies e perfis funcionais de bactérias em microbiomas, sendo um sequenciamento de amostra aleatório.

No WGS, o DNA extraído das células é clivado em fragmentos pequenos que são sequenciados independentemente, isso resulta em sequências de DNA que se alinham em vários locais genômicos. Algumas das leituras são amostradas a partir de sequências de codificação que fornecem informações sobre as funções biológicas codificadas no genoma (Sharpton, 2014).

3. 2 Bioinformática

Segundo Trindade *et al.* (2015), com as abordagens de sequenciamento de nova geração (NGS) a metagenômica se tornou mais eficiente, com os requisitos para identificar a estrutura de bactérias em nível genômico, nesse contexto, a bioinformática mostrou ser uma ferramenta poderosa das ômicas e no auxílio de análises de metagenomas.

Para Hiraoka *et al.* (2016), entre as tecnologias recentes, as de sequenciamento de DNA de alto rendimento produziram grandes quantidades de informação genética a baixo

custo, as análises de bioinformática permitiram explorar enormes conjuntos de dados metagenômicos em ecossistemas microbianos

Para extrair informações de montagens metagenômicas complexas, um processo chamado *binning* é usado (Figura 4). *Binnings* de última geração usam todos os tipos diferentes de informação, incluindo conteúdo de nucleotídeos, abundância de *contigs* observada, conectividade de leitura observada e de leitura de extremidade emparelhada para agrupar *contigs* que podem pertencer à mesma espécie (Tolstogonov *et al.*, 2022).

A primeira etapa na reconstrução de genomas é a montagem, onde as leituras metagenômicas são unidas com base na sobreposição de sequências para formar sequências mais longas chamadas *contigs*. O *binning* reconstrói genomas de táxons a partir de *contigs* individuais, permitindo que sequências sem homologia com os banco de dados sejam anotadas e a origem taxonômica de genes funcionais sejam identificadas (Papudeshi *et al.*, 2017).

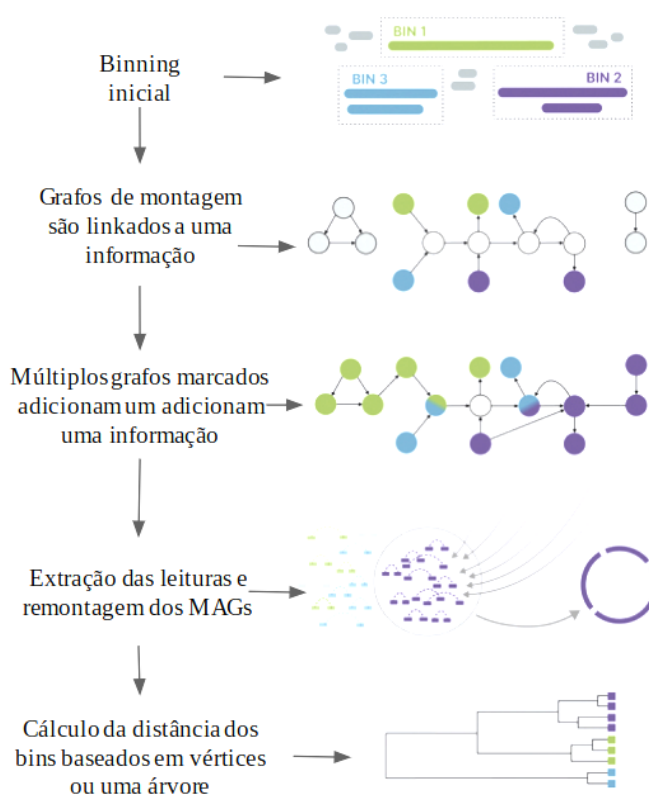


Figura 10 - Geração de *binnings* e gráfico de montagem onde é possível analisar a extração de leituras e remontagem de MAGs calculando a distância entre os *binnings* nos vértices compartilhados. Fonte (Adaptado de Tolstogonov *et al.*, 2022).

3. 2. 1 Genomas montados em metagenoma

Duncan *et al.* (2022) afirmam que a informação genômica é necessária para compreender mecanismos de evolução, metabolismos microbianos, e genomas montados em metagenoma (MAGs), são uma alternativa. Devido ao seu tamanho e simplicidade estrutural, genomas bacterianos foram preferencialmente montados a partir de metagenomas (Figura 11).

Meziti *et al.* (2021) argumentam que a recuperação de MAGs completos fornece dados importantes para várias análises de pesquisa, incluindo diversidade intrapopulacional ou detecção confiável de eventos genéticos em uma população com base em MAGs, podendo fornecer dados quantitativos sobre a dinâmica da diversidade genômica intrapopulacional responsável pelos padrões de diversidade.

A metagenômica abrange a montagem *de novo* de leituras de alto rendimento em sequências contínuas mais longas (*contigs*) e a reconstrução subsequente de MAGs por meio de agrupamento (*binning*) de *contigs* com base na composição de nucleotídeos e cobertura diferencial (Alneberg *et al.*, 2014 and Kang *et al.*, 2019). Essa abordagem oferece uma análise melhor do potencial taxonômico e funcional (Figura 12), bem como a caracterização de novos microrganismos usando análises filogenéticas (Vosloo *et al.*, 2021).

Para Mallawaarachchi *et al.* (2021), as ferramentas *contigs-binning* podem ser divididas em (1) baseada em referência e (2) categorização sem referência. As baseadas em referência dependem de banco de dados, mas podem não ser aplicáveis a muitas amostras quando os genomas de referência não estão disponíveis. Nas sem referência, usam abordagens não supervisionadas para agrupar *contigs* em *binning* não rotulados que correspondem a diferentes grupos taxonômicos, apenas com base nas informações obtidas dos *contigs* (Ames *et al.*, 2013; Wood and Salzberg, 2014; Sedlar *et al.*, 2017).

De acordo com Yue *et al.* (2020), a metagenômica *shotgun* tem sido muito utilizada para explorar ambientes microbiologicamente diversos, extremos e conseqüentemente agrupar sequências *binning* em grupos individuais que representam genomas é o passo chave na pesquisa metagenômica.

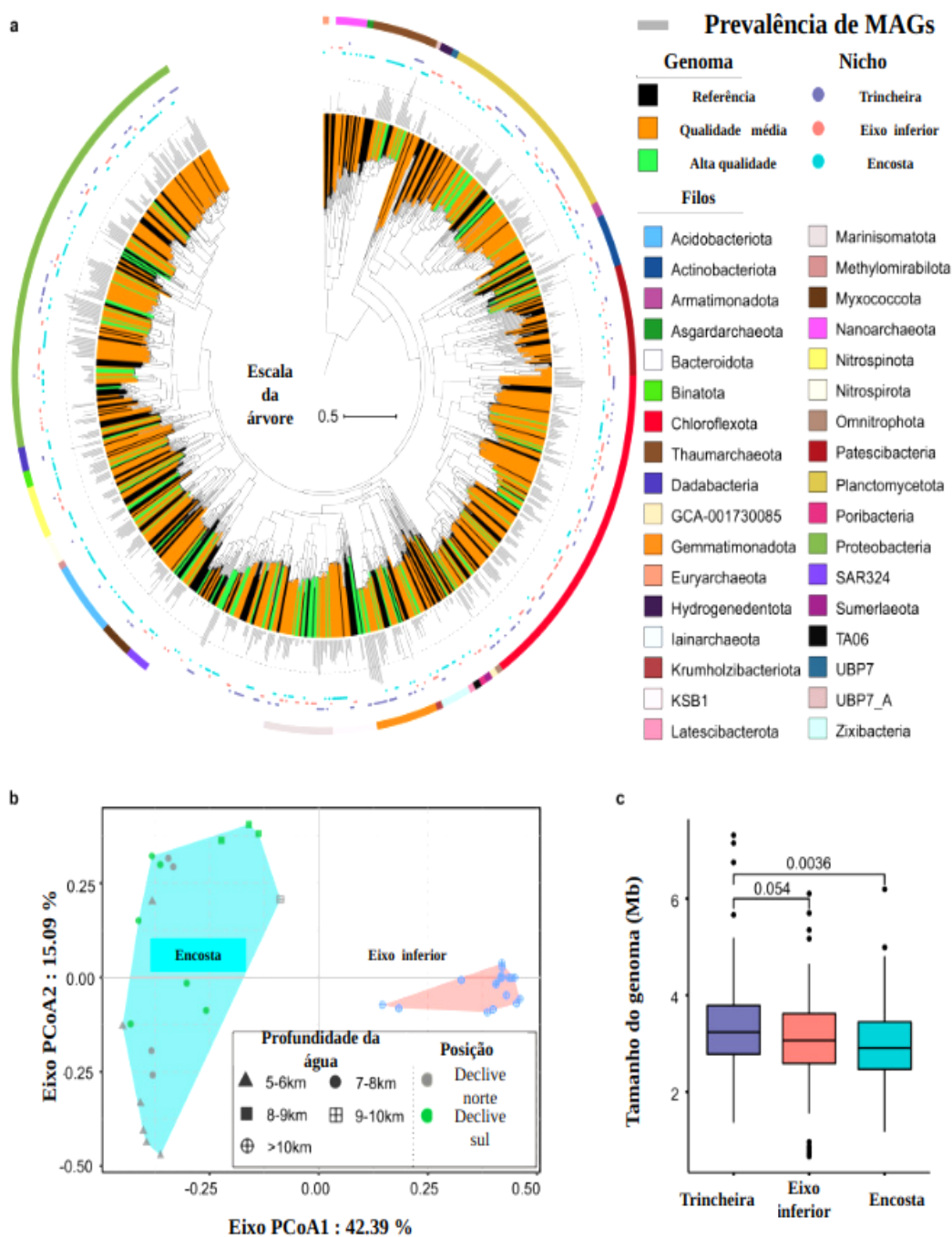


Figura 11 - Filogenia, taxonomia e tamanho do genoma de genomas montados em metagenomas (MAGs) reconstruídos. **(a)** árvore filogenética de máxima verossimilhança. Os pontos ciano apresentam MAGs exclusivos para sedimentos de encosta, vermelho para sedimentos do eixo inferior e os pontos roxos em sedimentos de encosta e eixo inferior (*Trench*). As barras cinzas mostram a prevalência dos MAGs no metagenoma. **(b)** análise de ordenação de PCoA usando a abundância relativa de MAGs e índice de dissimilaridade de Bray-Curtis. **(c)** comparação do tamanho estimado do genoma. No gráfico de caixas, as linhas centrais indicam valores medianos. Os limites inferior e superior representam os percentis 25 e 75. As dobradiças inferiores/superiores representam não mais que 1,5 vezes o intervalo interquartil da dobradiça, e os pontos que caem fora das dobradiças representam os valores discrepantes. Fonte (Adaptado de Zhou *et al.*, 2022).

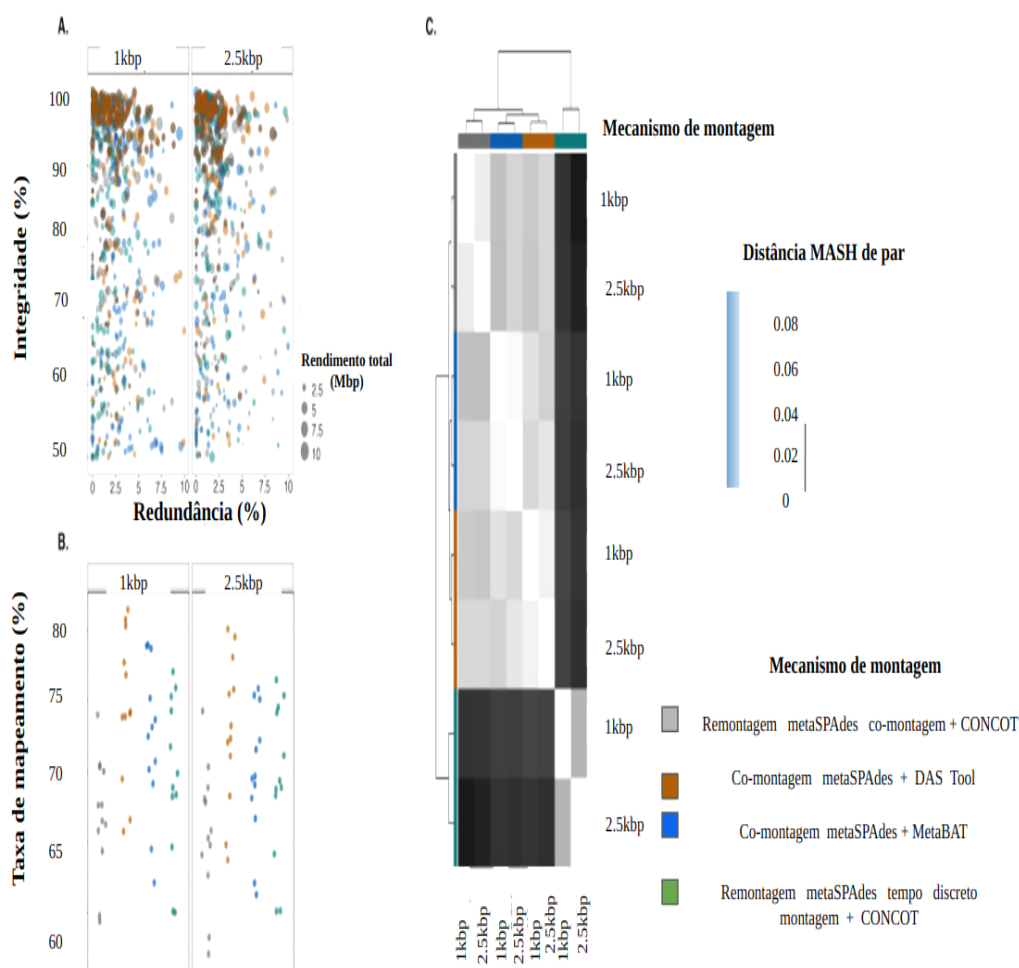


Figura 12 - Estatística resumida e características de MAGs com curadoria que foram gerados em 4 abordagens (coassembly de metaSPAdes e CONCOCT [cinza], coassembly de metaSPAdes e DAS Tool [laranja], coassembly de metaSPAdes MetaBAT2 [azul], e metaSPAdes reagrupados time-montagem discreta e CONCOCT [verde]). Em **(a)** Gráfico de bolhas mostrando o tamanho total do MAG, integridade (eixo x) e redundância (eixo y) de MAGs que foram gerados para cada uma das abordagens de montagem *binning*. **(b)** Proporção de leituras que foram mapeadas em relação aos MAGs curados de cada abordagem de montagem *binning*. **(c)** comparação da composição de nucleotídeos dos MAGs curados nas diferentes abordagens de montagem de acordo com a distância MASH. O mapa de calor é colorido de acordo com a distância MASH. Fonte (Adaptado de Vosloo *et al.*, 2021).

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Obter e classificar genomas montados a partir de dados metagenômicos das amostras da UHE de Tucuruí.

4.2 Objetivos específicos

- Analisar os padrões de diversidade das bactérias do lago da UHE de Tucuruí;
- Definir o perfil taxonômico com base nos filos dos MAGs obtidos;
- Identificar MAGs completos das bactérias e perfis funcionais dessas comunidades microbianas;
- Determinar vias metabólicas e metabolismos microbianos com base em análise dos MAGs.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Obtenção de amostras e dados

O lago da barragem (Figura 13 - Anexo A) apresenta características limnológicas resultantes de suas propriedades morfométricas, padrões climatológicos e hidrológicos deste reservatório (Lara *et al.*, 2014). O clima é sazonal, com estação chuvosa de Dezembro a Maio e seca de Junho a Novembro, a precipitação e temperaturas médias anuais são de 2.354 mm e 27,5 °C (Henrique *et al.*, 2021).

A área do reservatório é de 2.430 km² com largura máxima de 40 km, tem 170 km de extensão, profundidade máxima de 75 m e profundidade média de 18,9 m (Apêndice A). As coletas feitas em áreas próximas à barragem consideraram a presença e ausência de áreas previamente desmatadas e a morfometria do sistema (Espíndola *et al.*, 2000).

As amostras de água e sedimento foram coletadas de Setembro de 2015 à Março de 2017 nas camadas fótica, afótica e sedimentar da estação do montante do novo repartimento (MR) no período do verão da Amazônia correspondente aos meses de Junho a Novembro e o inverno correspondente de Dezembro a Maio (Figura 14 - Anexo B). As coletas realizadas mencionadas nessa pesquisa foram feitas em um estudo anterior.

Após filtração em membrana de nitrocelulose 0,22µM (Whatman, EUA), as amostras de DNA foram extraídas usando o *Ultraclean Microbial kit*® (Qiagen). Todo o sequenciamento de metagenoma WGS foi realizado na plataforma *Ion Proton*™ (Thermo Fisher Scientific) usando uma biblioteca de fragmentos. Os dados desse metagenoma, foram obtidos da amostra MR_F_1.fastq -o.

Foi utilizado o *kit Ion Plus Fragment Library*™ para produzir bibliotecas de DNA de alta qualidade, as bibliotecas podem ser obtidas com apenas 100ng de DNA de entrada e contém reagentes de preparação de amostras com até 20 bibliotecas de DNA para sequenciamento.

O tipo de biblioteca utilizada foi *Single-end* (Extremidade única), nesse método o adaptador é adicionado em apenas uma extremidade do fragmento construído que é uma sequência de nucleotídeos previamente conhecida que possibilita a acoplagem do mesmo ao sequenciador. Essa abordagem garante a geração de uma quantidade grande de *reads* e de forma barata, podendo ser aplicada em estudos de *Chip-Seq* ou de *RNA-Seq*.

5. 2 Análise de dados

As leituras foram submetidas para controle de qualidade à ferramenta *FastX-toolkit* v. 0. 0.13 (-20/-1100/-q20/-p70) (Gordon and Hannon, 2010), *Spades* v. 3. 13. 0 (Bankevich *et al.*, 2012) foi executado para a montagem das leituras. Foi utilizada a ferramenta *Megahit* v. 1. 2. 9 (Li *et al.*, 2015) durante a montagem *de novo*, *Open Reading Frame* (ORFs) foram previstas usando *Prodigal* v. 2. 6. 3 (Hyatt *et al.*, 2010).

Para as quantificações de completude, as métricas de qualidade do sequenciamento foram complementadas pela quantificação da integridade dos conjuntos de dados genômicos, em termos do conteúdo gênico esperado, de *Benchmarking Universal Single-Copy Orthologs* (BUSCO) v. 5. 4. 3 (Simão *et al.*, 2015.; Waterhouse *et al.*, 2018).

Para alinhamento das leituras de sequências de DNA foi utilizado a ferramenta ultrarrápida e eficiente *Bowtie2* (Langmead *et al.*, 2009), o *SAMtools* v. 1.13 (Li *et al.*, 2009) foi usado para converter, classificar e mesclar os formatos de alinhamentos para BAM e SAM (BAM/SAM).

O agrupamento dos fragmentos genômicos foi feito pela ferramenta de *software* *Metabat* v. 2. 3. 0 (Kang *et al.*, 2015), para agrupar os *contigs* das amostras para combinar a frequência de nucleotídeos e probabilidade de abundância de *contigs*. O *Checkm* v. 1. 1. 6 (Parks *et al.*, 2015) avaliou a qualidade do genoma, usando um conjunto de genes marcadores específicos para a posição de um genoma dentro da árvore genômica de referência e informações sobre a colocação desse gene. O *BarNap* v. 0. 9 (Lau *et al.*, 2019) foi utilizado para prever a localização de genes de rRNA nos genomas, ele apoia suporte para 5S, 23S e 16S de bactérias e 5S, 5.8S, 23S e 16S em arqueias.

5. 3 Análise dos MAGs

O perfil funcional dos MAGs foram analisados em formatos de sequências aminoacídicas pela ferramenta automatizada da plataforma KEGG (Kanehisa, 1997; Kanehisa and Susumu, 2000) utilizando a opção *BLASTkoala* onde os metabolismos foram categorizados.

O perfil funcional e vias metabólicas foram definidos usando o módulo *shotgun* do *MicrobiomeAnalyst* (Dhariwal *et al.*, 2017). As ilustrações da via de fosforilação oxidativa (Figura 26 no Anexo C) e maquinaria de fotossíntese (Figura 27 no Anexo D), foram baixados do KEGG para os metabolismos microbianos.

Os gráficos de perfil funcional dos MAGs foram plotados através da ferramenta para análise estatística baseada em nuvem do *Google Sheets*, onde os valores para cada função relacionada ao metabolismo microbiano foram calculados automaticamente em percentuais pela ferramenta.

O *KBASE* foi utilizado para classificação taxonômica da amostra MR_F_1.fastq -o. O software *Kraken 2* (Wood *et al.*, 2014) foi usado para obtenção da Figura 19 e 20 dos filos e famílias. Usando o alinhamento exato de *k-mers*, o *Kraken* atinge uma precisão de classificação comparável ao *BLAST* mais rápido.

6 RESULTADOS

6.1 Análise do sequenciamento

As pontuações encontradas de qualidade média de sequenciamento por pb (pares de bases) indicaram uma média com pontuação acima de 20 para as leituras (Figura 15). A linha azul escura indica a média de qualidade das leituras por pb do sequenciamento. No entanto, as leituras 240 e 249 tiveram pontuação inferior a 20, indicando uma baixa qualidade. O índice estatístico do sequenciamento é apresentado na Tabela 1.

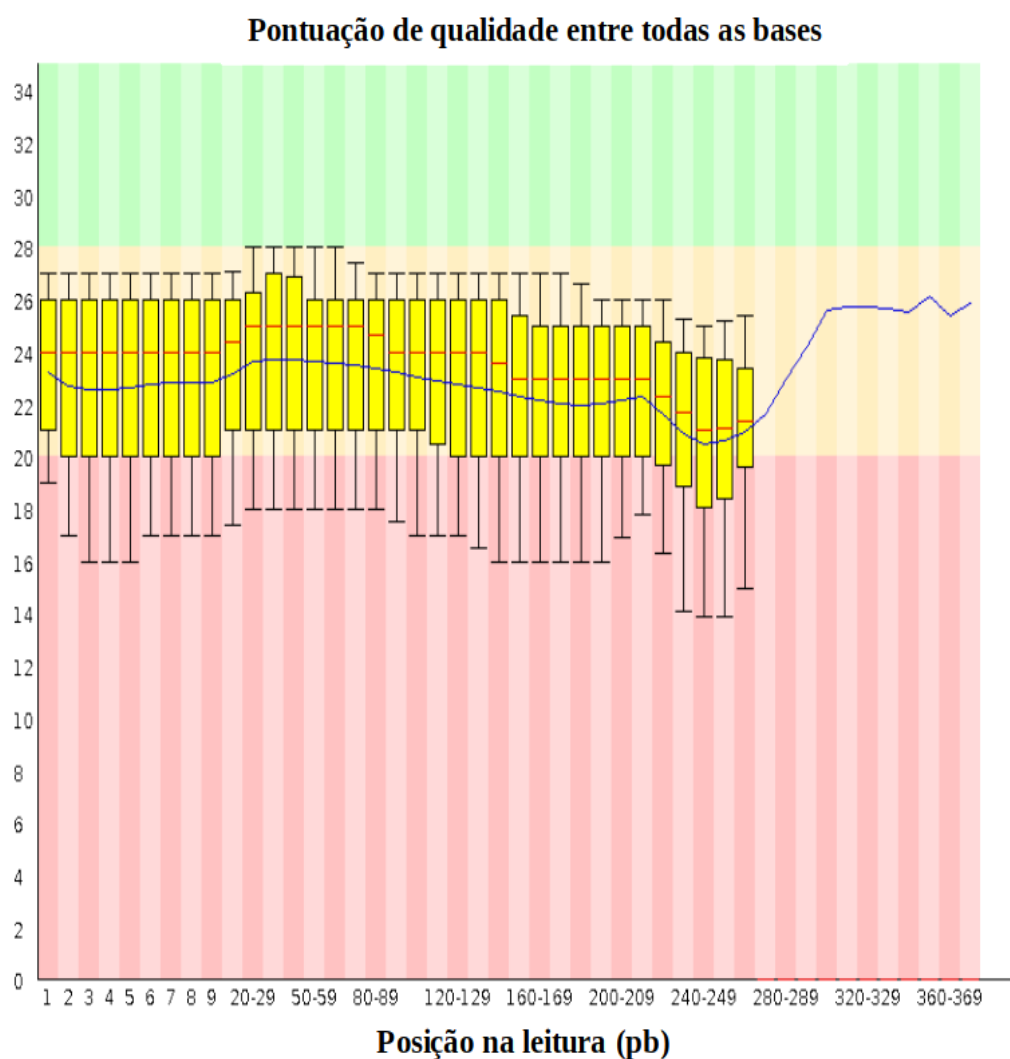


Figura 15 - Gráfico com a média de qualidade de leitura por pb do sequenciamento *Ion ProntionTM*. Fonte: FASTQC v 0.12.1.

O percentual de bases de conteúdo GC (Guanina/Citosina) foi equivalente a 53% (Tabela 1). Os valores médios em percentual de contagem por leitura, representados pela linha rosa (Figura 16), indicaram uma variação entre 55% a 67% em relação ao valor de

significância para conteúdo GC por contagem de leitura. A linha azul representa a distribuição teórica por contagem de leitura do conteúdo GC.

As distribuições de comprimento total de leitura por pb que apresentaram as maiores métricas de comprimento, computadas pelo sequenciador, foram de 179pb a 200pb, conforme indicado na linha em rosa (Figura 17). As demais sequências obtidas tiveram valores inferiores, a partir de 230pb a 239pb, em termos de comprimento de sequências computadas (Figura 17).

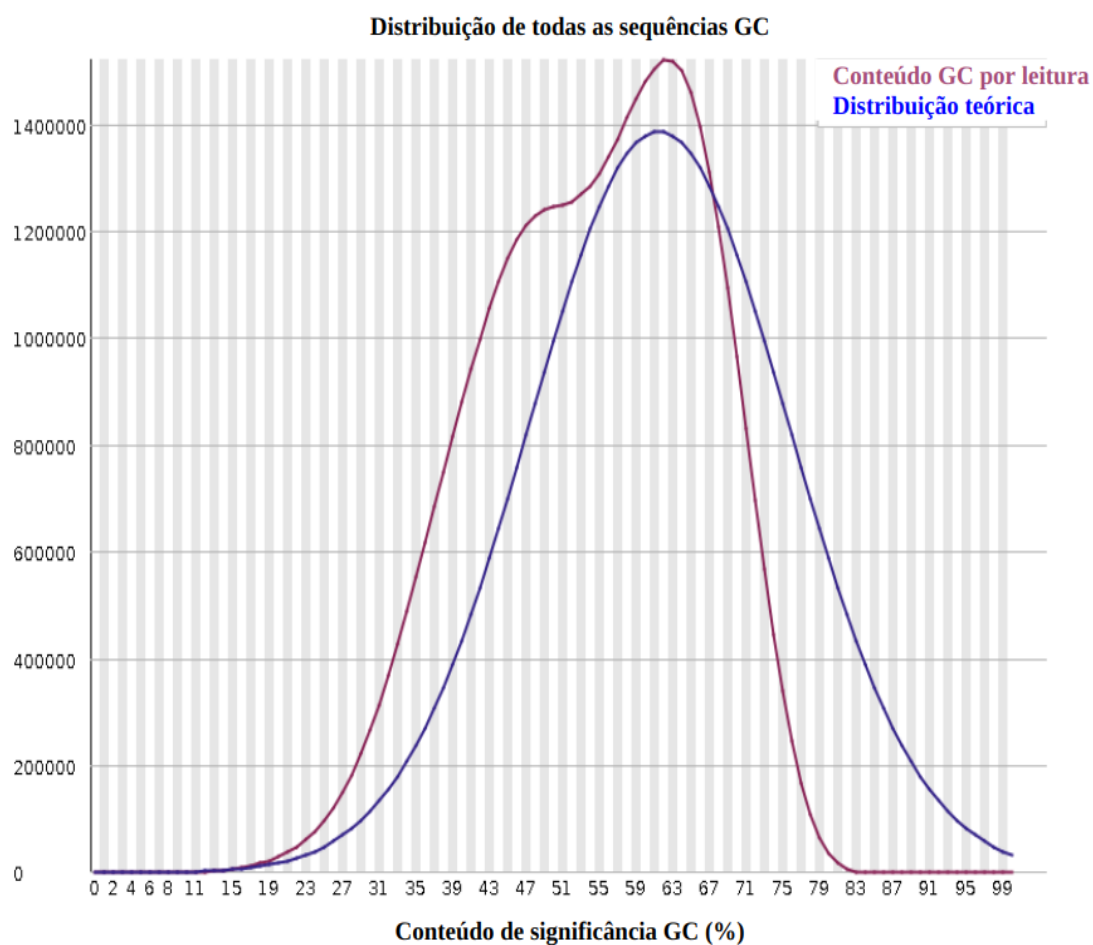


Figura 16 - Distribuição das frequências e significâncias por contagem de leitura de conteúdo GC em percentual. Fonte: FASTQC v 0.12.1.

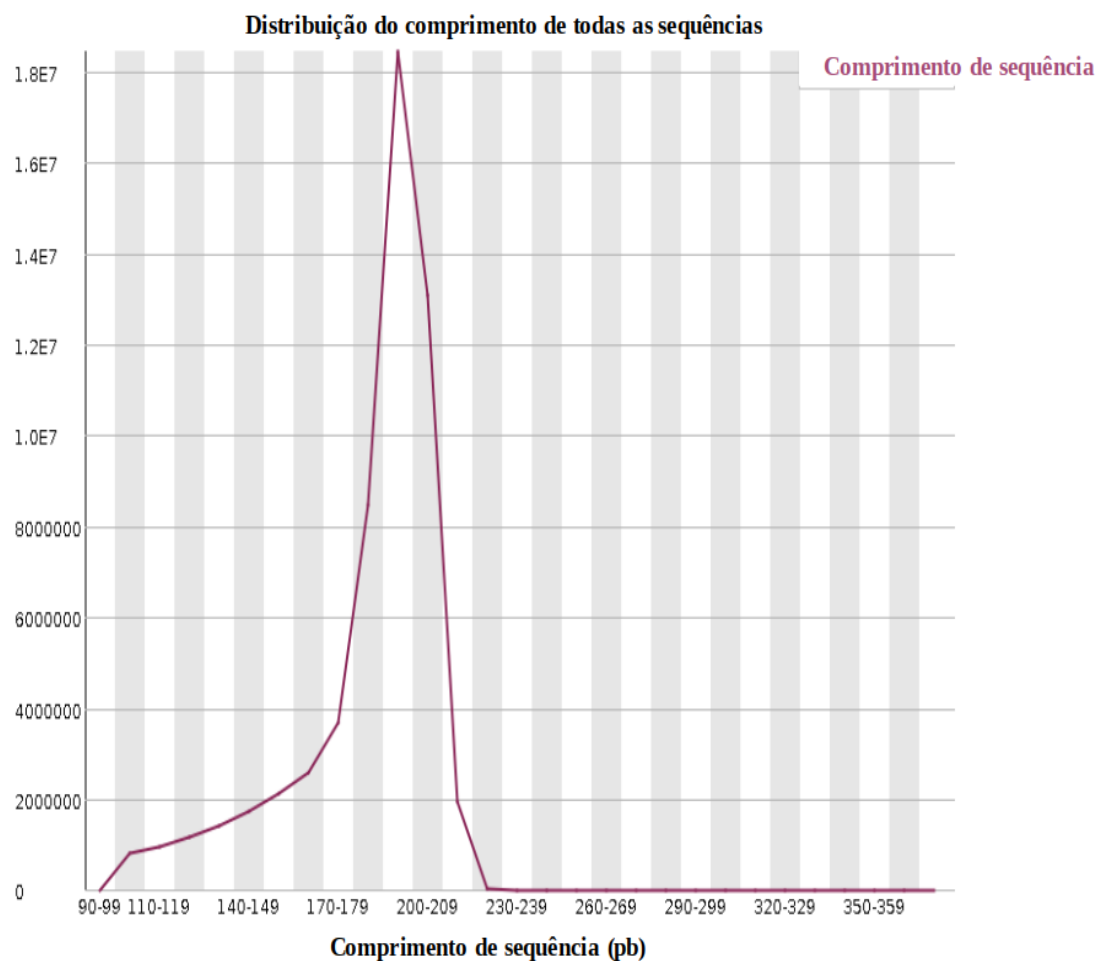


Figura 17 - Gráfico de comprimento total de leituras mapeadas em pb de acordo com a distribuição de todas as seqüências. Os picos de maiores leituras computadas pelo sequenciador indicadas no gráfico foram de 110 a 200 pb por comprimento de seqüências computadas de acordo com o gráfico. Fonte: FASTQC v 0.12.1.

Tabela 1 - Dados em estatística do sequenciamento *Ion Proton™* (Thermo Fisher Scientific).

Estatística do sequenciamento	
Total de seqüências	56681602
Total de bases	10.4 Gbp
Seqüências sinalizadas como baixa qualidade	0
Comprimento da seqüência	100-374
%GC	53

Fonte: Autor, 2023.

As seqüências apresentaram uma qualidade média de seqüência com 22 *Phreds* das nucleobases geradas pelo sequenciamento. Essa pontuação acima de 20 é considerada um

bom índice, com 99% de precisão e 1% de erro, sendo também uma pontuação adequada para corte (Figura 18).

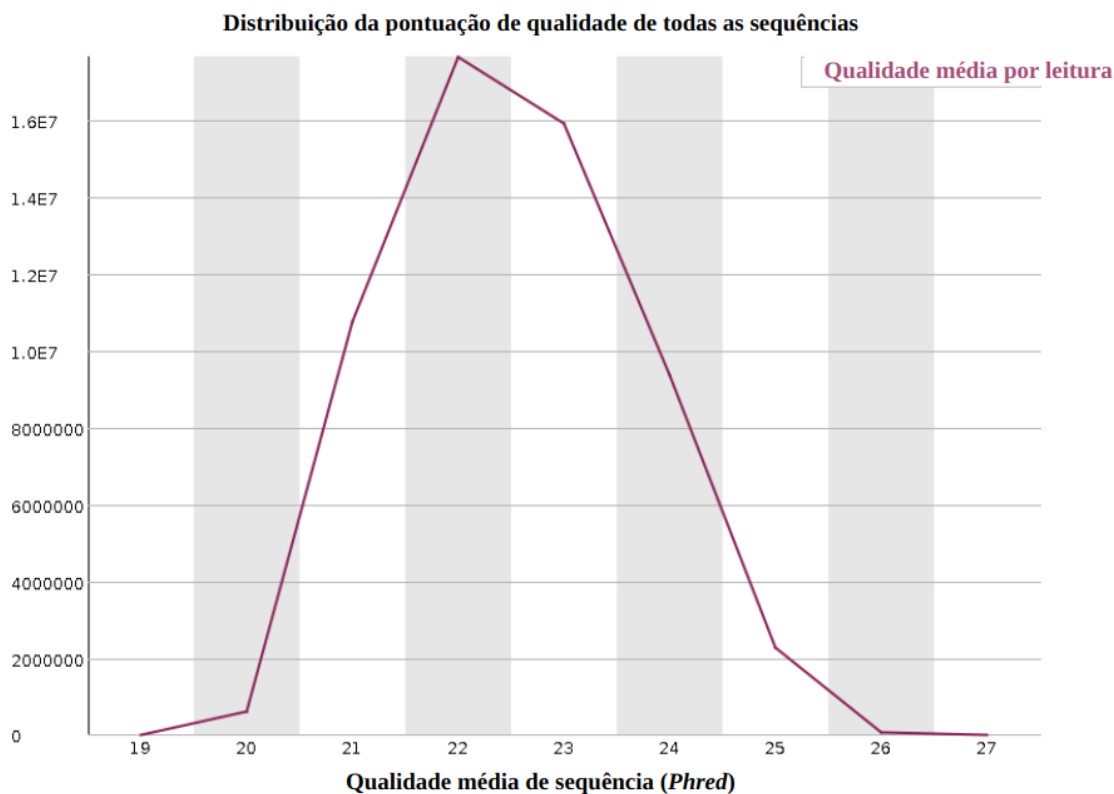


Figura 18 - Qualidade e distribuição de todas as seqüências pelo valor de significância de qualidade de *Phreds*. Fonte: FASTQC v 0.12.1.

6.2 Análise Taxonômica e de diversidade das amostras

A comunidade microbiana apresentou maior prevalência para Proteobacteria, Actinobacteria, Cyanobacteria, Bacteroidetes e Planctomycetes (Figura 19). Esses principais filos achados, são responsáveis pela decomposição de matéria orgânica, autotrofia, heterotrofia, além de realizarem o balanço estequiométrico, controlando condições químicas da água no lago como teores de N, P, C e ciclos biogeoquímicos (Cotner *et al.*, 2010).

Mais de 80% das leituras puderam ser classificadas para filos feitas no *Software Kaiju* v 1.9 na plataforma do *KBASE* (Figura 19). Proteobacteria (Figura 19) apresentou maior prevalência, estando envolvidas na autotrofia acoplada a oxidação de S, CH₄, H₂, redução de SO₄²⁻, desnitrificação, além da quimioautotrofia. Esses microrganismos também

possuem capacidade quimiorganotrófica de utilizar ácidos graxos derivados do ambiente, aromáticos, carboidratos e peptídeos (Zhou *et al.*, 2020).

Proteobacteria no lago, são cruciais nos ciclos de C e N, podem ser quimioautotróficos facultativos, realizam a redução reversa de SO_4^{2-} , possuem sistema multienzimático *Sox*, com enzimas de redução de SO_4^{2-} como *Dsr*, *Apr* e *Sat*. O complexo *Sox* catalisa a oxidação de compostos inorgânicos de S. Quatro componentes protéicos *SoxYZ*, *SoxXA*, *SoxB* e *SoxCD* são necessários para a oxidação completa de SO_4^{2-} (Yamamoto and Takai, 2011).

Actinobacteria (Figura 19) podem ser organismos de vida livre e simbioses de animais. Elas contribuem com o ciclo de C pela decomposição de biomassa vegetal, suas enzimas celulolíticas quebram a biomassa vegetal em açúcares simples em biocombustíveis, variam de unicelulares aeróbios, anaeróbios até filamentosas formadoras de esporos (Lewin *et al.*, 2017).

O filo Actinobacteria são onipresentes em lagos oligotróficos de água doce, além de fazerem parte do ciclo do N no lago, realizam crescimento heterotrófo usando fototrofia, codificando actino-opsinas *actR*, biossíntese de carotenóides, via de biossíntese de retinal e rodopsina, com transportadores de absorção de nutrientes quando se tornam escassos no lago (Dwulit-Smith, 2018).

Cyanobacteria (Figura 19) são produtores primários, realizando fotossíntese oxigênica no lago. Como fototróficos, possuem membranas internas chamadas de tilacóides que hospedam o aparato fotossintético e os dois fotossistemas (Anexo C). Quanto à morfologia, podem apresentar-se em forma de filamentos, esferoidais ou bastonetes, com EPS cianobacteriano de duas formas, um aderido à parede celular e outro liberado no ambiente (Demoulin *et al.*, 2019).

No lago do reservatório esse filo também atua como fixadores de N, acumulam P, nas condições de estresse do lago podem crescer heterotroficamente, com repertório funcional da enzima RubisCO, ocorrendo a distinção entre o CO_2 e O. O carboxissoma representa um desses componentes no ciclo do C, bem como a assimilação de C inorgânico pelo ciclo de CBB em membros de Cyanobacteria encontrados (Cabello-Yeves *et al.*, 2022).

Bacteroidetes (Figura 19) possuem capacidade de degradar polímeros. Os membros deste filo são especializados no processamento de matéria orgânica polimérica e compõem uma parte do bacterioplâncton. Em ambientes aquáticos, são abundantes durante e após a

proliferação de algas, apresentando um grande conteúdo de glicosídeos hidrolases, peptidases e proteínas de adesão (Fernández-Gómez *et al.*, 2013).

Esse filo no lago pode obter C de uma variedade de fontes, fazem uso de polissacarídeos de carboidratos complexos, associados com algas, com glicosidases, glicosiltransferases, capturam e degradam glicano complexo, especializados em aderir em superfícies, com presença de proteorodopsina para a produção fototrófica de energia para manter o crescimento quando a concentração de C diminui (Thomas *et al.*, 2011).

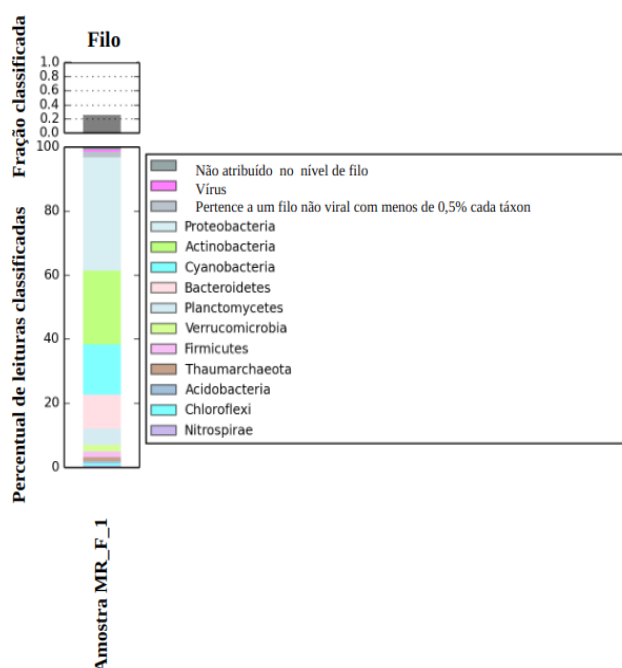


Figura 19 - Classificação taxonômica em nível de Filo fornecida pelo *KBASE*. Fonte: Banco de dados plataforma do *KBASE* (Acesso em 10/07/2023).

Planctomycetes (Figura 19) habitam uma ampla variedade de ambientes aquáticos e terrestres, com diversas condições ambientais. A maioria é mesófila, mas alguns são termofílicos e podem ser encontrados em ecossistemas de baixa temperatura. Eles são capazes de degradar matéria orgânica e formar biofilmes em ambientes aquáticos, especialmente em comunidades de macroalgas (Ivanova *et al.*, 2016).

Esse filo está envolvido na conversão de N fixo em N_2 , o processo anammox nesse filo ocorre por meio de intermediários de hidroxilamina, hidrazina e a desnitrificação por

meio de um intermediário de N₂O, apresentando heterotrofia, decomposição de matéria orgânica em condições aeróbias, anaeróbias, com capacidade de realizar fermentação e redução de S no lago (Fuchsman *et al.*, 2012).

A análise taxonômica e de diversidade apresentaram um percentual de 60% de leituras classificadas para famílias. As mais prevalentes foram da família *Candidatus Nanopelagicaceae* (Figura 20), encontrada em lagos oligotróficos, sendo características de sedimentos de lagos e ecossistemas marinhos (Garner *et al.*, 2020). Membros dessa família realizam biossíntese de porfirina, possuem citocromos respiratórios e não respiratórios, peroxidases, catalases, com auxotrofia para riboflavina e distribuição de cofatores flavina no lago (Kim *et al.*, 2021).

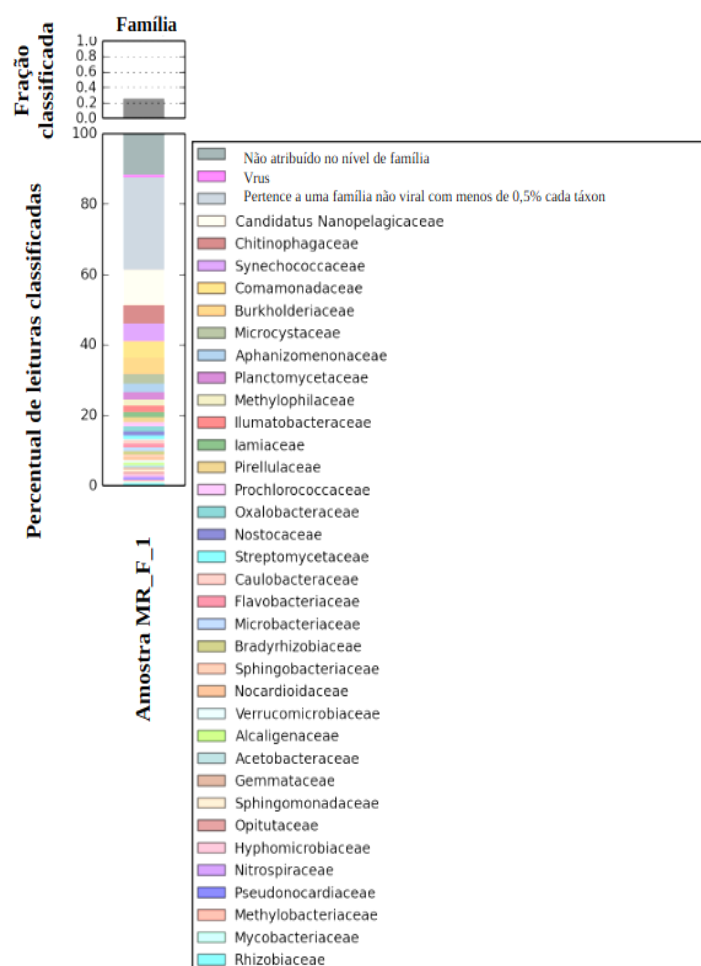


Figura 20 - Classificação taxonômica em nível de Família fornecida pelo *KBASE*. (Acesso em 10/07/2023).

Chitinophagaceae (Figura 20) pode ser composta por organismos anaeróbios e aeróbios facultativos, encontrados em ambientes de solo, lagos e mares (Lawson *et al.*, 2020). Essa família é caracterizada por crescimento dependente de CO₂, com atividade bioquímica na degradação de carboidrato, com enzimas glucosidase, galactosidase, reguladores da família *AraC*, proteína receptora de cAMP/CRP e proteína *FNR* reguladora da redução de NO₃ (Shiratori-Takano *et al.*, 2016).

Synechococcaceae (Figura 20) são células planctônicas, com estruturas vacuolares preenchidas por gás, fornecendo controle para flutuação, além de formarem florações com tendência a crescer em baixos níveis de nutrientes (Muir and Perissinotto, 2011). São conhecidos por sintetizar proteínas *Dps* que conferem resistência a danos, durante períodos de estresse oxidativo e limitação de nutrientes a longo prazo no lago (Peña and Bullerjahn, 1995).

Comamonadaceae (Figura 20) no lago são desnitrificadores, responsáveis pela remoção do N, anaeróbios, redutoras de Fe, oxidantes, fotoautótrofas, heterótrofas e fermentativos (Willems, 2014). Membros *Comamonadaceae* no lago, têm a capacidade de degradar compostos orgânicos, quimiorganotróficos, facultativamente quimiolitotróficos, oxidantes de H₂, CO₂, e positivos para catalase (Willems and Kersters, 2015).

6.3 Descrição dos principais MAGs encontrados

O resultado fornecido pelo BUSCO, apresentou os dados dos genomas com percentual em completude (C) e cópia única (S), fragmentado (F), completude (C) e duplicado (D) e ausente (M) dos genomas (Figura 21).

Dentre a análise feita pelo software *Metabat* v. 2. 3. 0, foi possível observar a presença de 80 MAGs, dentre estes, 3,75% que puderam ser classificados, apresentaram uma completude melhor e maior de sequenciamento, sendo representados pelos MAGs 64 com 73.3% de C, MAG 72 com 60.5% de C e MAG 73 com 66.9% de C. 96,25% dos MAGs restantes, todos apresentaram completudes inferiores a 50.0%. Posteriormente, foi utilizado o software BUSCO para as quantificações de completude e integridade dos conjuntos de genomas, onde os MAGs 64, 72 e 73 tiveram uma completude acima de 60.0%.

Os dados da estatística de montagem analisados no BUSCO apresentaram os valores do MAG 49 (Figura 21) com o número de *scaffolds* de 453, rendimento total 2.538.896 bp, *scaffolds* N50 7 KB e *contigs* N50 7 KB. O MAG 49 apresentou 62.9% de C, 62.9% de S,

0.0% D, 24.2% F e 12.9% M dos genomas (Figura 21). Entretanto, não foi possível identificar nível taxonômico para o MAG 49. Para o MAG 72 (Tabela 2) os dados obtiveram o número de *scaffold* 771, *contigs* 771, rendimento total 3.427.758 bp, *scaffold* N50 5 KB, *contigs* N50 5 KB e com 60.5% de C, 58.9% de S, 1.6% de D, 27.4% F e 12.1% M nos genomas.

O MAG 73 (Figura 21) teve o número de *scaffold* 503, *contig* 503, rendimento total 3.724.783 bp, *scaffold* N50 11 KB, *contigs* N50 11 KB com 66.9% de C, 66.9% S, 0.0% D, 17.9% F e 15.2% M. O MAG 9 (Figura 21) apresentou o número de *scaffold* 543, *contigs* 543, rendimento total 2.881.135 bp, *scaffold* N50 6 KB, *contigs* N50 6 KB e teve 57,3% de C, 56.5% S, 0.8% D, 27.4% F e 15.3% M nos genomas. Embora o MAG 9 tenha apresentado completude acima de 50.0% não apresentou taxonomia.

Dentre todos os MAGs, o que teve a melhor estatística de valores encontrada foi o MAG 64 com *scaffold* 6838, *contigs* 6838, rendimento total 15.209.918 bp, *scaffold* N50 2KB, *contigs* N50 2 KB, com 73.3% de C, 42,7% S, 30.6% D, 21.0% F e 5.7% M dos genomas.

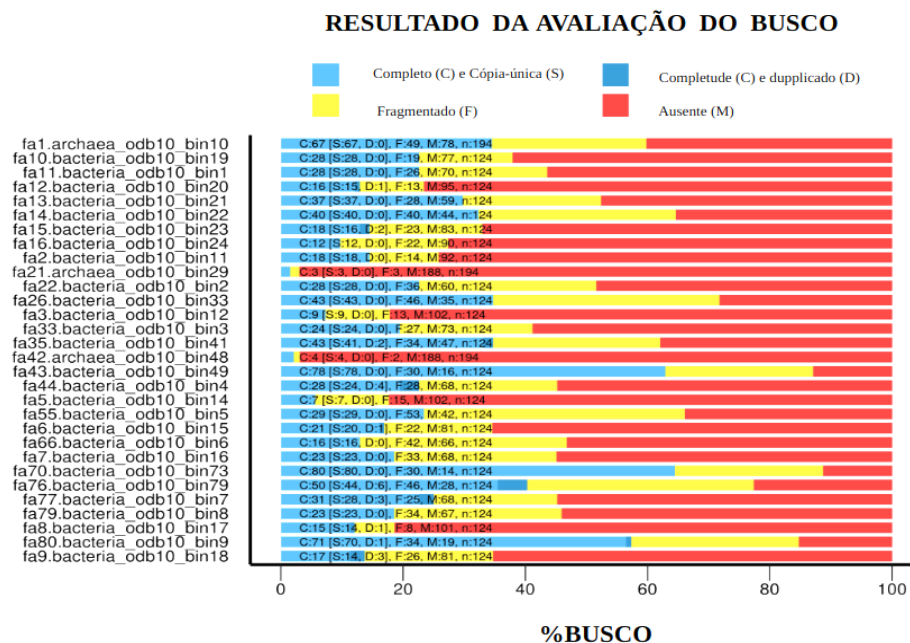


Figura 21 - Gráfico em percentual fornecido pelo BUSCO. Em azul claro é a completude (C) e cópia única (S) dos genomas, em amarelo (F) é para genoma fragmentado, azul escuro completude (C) e duplicado (D), em vermelho (M) é ausente e (n) o total.

As sequências encontradas foram do gene 16S e 5S. As sequências do gene 16S classificadas no *RDP classifier* (Cole *et al.*, 2009) apresentaram taxonomia no nível de filo e gênero para bactérias (Tabela 2). No banco de dados do *BLAST* (Altschul *et al.*, 1990 and Altschul *et al.*, 1997) utilizou-se a opção *Blastn* sendo possível classificar sequências do gene 5S, encontrando bactérias e arqueias em nível de espécie para análise taxonômica (Tabela 3). Para melhor compreensão todos os MAGs com a completude do sequenciamento estão disponíveis no Apêndice B.

O filo com maior completude encontrado foi Nitrospirae. A classificação taxonômica do *RDP classifier* apresentou taxonomia até o nível de gênero para bactérias. O MAG 64 (Tabela 2) apresentou duas sequências diferentes para análise taxonômica, uma do gene 16S, que foi classificada no *RDP classifier* (Tabela 2), identificou o filo Nitrospirae, e outra do gene 5S, classificada no banco de dados do *BLAST*, identificou Pseudomonadota (Tabela 3). Ambos os banco de dados forneceram níveis taxonômicos diferentes de acordo com o gene.

O gênero *Nitrospira* do MAG 64 encontrado do gene 16S (Tabela 2), é um dos mais diversos nitrificadores achados em praticamente todos os ecossistemas, os representantes são estritamente oxidantes de NO_2^- deste gênero. Caracterizam-se por estratégia adaptada de crescimento lento, formam colônias, biofilmes, sendo propriedades compartilhadas pelo nicho ecológico comammox do gênero *Nitrospira* (Daims *et al.*, 2015).

O processo completo de nitrificação por um único microrganismo pertencente a esse gênero, foi recentemente descrito por dois grupos de pesquisa independentes (Daims *et al.*, 2015 and van Kessel *et al.*, 2015). O processo conhecido como comammox (oxidação completa de NH_3 a NO_3^-) mudou o entendimento atual da atividade de remoção de N, mediados microbiologicamente, envolvendo a nitrificação. Metabolismos dos membros do gênero *Nitrospira* do MAG 64, não se limitam a oxidação de NO_2^- ou comammox, mas compreende outras funcionalidades além do ciclo do N, seja em condições aeróbias com crescimento em formiato e H e condições anóxicas de redução de NO_2 a NO_3^- (Mehrani *et al.*, 2020).

O MAG 72 teve a taxonomia definida do filo chloroflexota até espécie e o MAG 73 do filo Bacteroidota teve taxonomia classificada também até o nível de espécie (Tabela 3). A maioria dos MAGs classificados no *RDP classifier* e no *Blastn* apresentaram baixas completudes.

Tabela 2 - Classificação taxonômica pelo banco de dados RDP Classifier e completude de sequenciamento em percentual

RDP Classifier									Completude
MAGs	Genes			Taxonomia					valor
	16S	5S	23S	Filo	Classe	Ordem	Família	Gênero	%
MAG 18	+	-	-	Actinobacteria	Acidimicrobiia	Acidimicrobiales	Ilumatobacteraceae	-	13.7
MAG 57	+	-	-	Planctomycetes	Planctomycetacia	Planctomycetales	Planctomycetaceae	Gimesia	45.9
MAG 64	+	-	-	Nitrospirae	Nitrospira	Nitrospirales	Nitrospiraceae	Nitrospira	73.3
MAG 77	+	-	-	Bacteroidetes	-	-	-	-	15.3

Fonte: Autor, 2023.

O filus encontrado de acordo com as maiores completudes foi Pseudomonadota (Tabela 3), onde foi possível identificar a espécie *Acidiferrobacter thiooxydans* para o MAG 64 do gene 5S, que apresenta capacidade de oxidação de F e S. Pode se adaptar a uma ampla faixa de pH e temperatura, sendo detectados em uma variedade de ambientes de lagos oligotróficos de água doce (Ma *et al.*, 2022).

A espécie *Dehalogenimonas lykanthroporepellens*, do filo chloroflexota do MAG 72 (Tabela 3) foi encontrada, esta bactéria gram-negativa é um quimiotrófico estritamente anaeróbio, mesófila, não formadora de esporos (Siddaramappa *et al.*, 2012). O filo Bacteroidota foi achado para o MAG 73 (Tabela 3), onde a espécie para esse filo identificada foi *Flaviumibacter rivuli*, sendo um espécie aeróbica, quimioheterotrófica, positiva para catalase e oxidase que também é encontrada em lagos de água doce (Park *et al.*, 2022).

Tabela 3 - Classificação taxonômica pelo banco de dados BLASTn e completude de sequenciamento em percentual.

MAGs	BLASTn									Completude
	Genes			Taxonomia						Valor
	16S	5S	23S	Filo	Classe	Ordem	Família	Gênero	Espécie	%
MAG 1	-	+	-	Actinomycetota	Actinomycetes	Micrococcales	Microbacteriaceae	Microbacterium	-	22.6
MAG 8	-	+	-	Actinomycetota	Actinomycetes	Micrococcales	Bogoriellaceae	Georgenia	Georgenia yuyongxinii	18.5
MAG 10	-	+	-	Nitrososphaerota	-	-	-	Candidatus Nitrosotenuis	Candidatus Nitrosotenuis cloacae	34.5
MAG 15	-	+	-	Acidobacteriota	-	-	-	-	-	16.9
MAG 16	-	+	-	Actinomycetota	Actinomycetes	Candidatus nanopelagiales	Candidatus Nanopelagicaceae	Candidatus nanopelagicus	Candidatus Nanopelagicus limnes	18.5
MAG 21	-	+	-	Pseudomonadota	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Phenylobacterium	Phenylobacterium parvum	29.8
MAG 31	-	+	-	Cyanobacteriota	Cyanophyceae	Synechococcales	Synechococcaceae	Synechococcus	-	21.0
MAG 32	-	+	-	Bacteroidota	Bacteroidia	Marinilabiliales	Prolixibacteraceae	Maribellus	Maribellus comscasis	41.9
MAG 34	-	+	-	Cyanobacteriota	Cyanophyceae	Synechococcales	Synechococcaceae	Synechococcus	-	18.5
MAG 42	-	+	-	Cyanobacteriota	Cyanophyceae	Nostocales	Aphanizomenonaceae	Dolichospermum	Dolichospermum compactum	24.2
MAG 45	-	+	-	Bacteroidota	Cytophagia	Cytophagales	Cytophagaceae	Chryseotalea	-	15.3

MAG 64	-	+	-	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Acidiferrobacterales	Acidiferrobacteraceae	Acidiferrobacter	Acidiferrobacter thiooxydans	73.3
MAG 72	-	+	-	Chloroflexota	Dehalococcoidia	-	-	Dehalogenimonas	Dehalogenimonas lykanthroporepellens	60.5
MAG 73	-	+	-	Bacteroidota	Chitinophagia	Chitinophagales	Chitinophagaceae	Flaviumibacter	Flaviumibacter rivuli	66.9
MAG 74	-	+	-	Pseudomonadota	Betaproteobacteria	Burkholderiales	-	Thiomonas	-	22.6

Fonte: Autor, 2023

6. 4 Perfil funcional dos MAGs

O núcleo de maior metabolismo central dos 80 MAGs (Figura 22) foi achado para famílias de proteínas processamento de informação genética 11,9%, genes para processamento de informação genética 10,8%, metabolismo de carboidrato 10,6%, metabolismo de aminoácido 7,5%, processamento de informações ambientais 7,2% e famílias de proteínas sinalização processos celulares 7,1% (Meziti *et al.*, 2021).

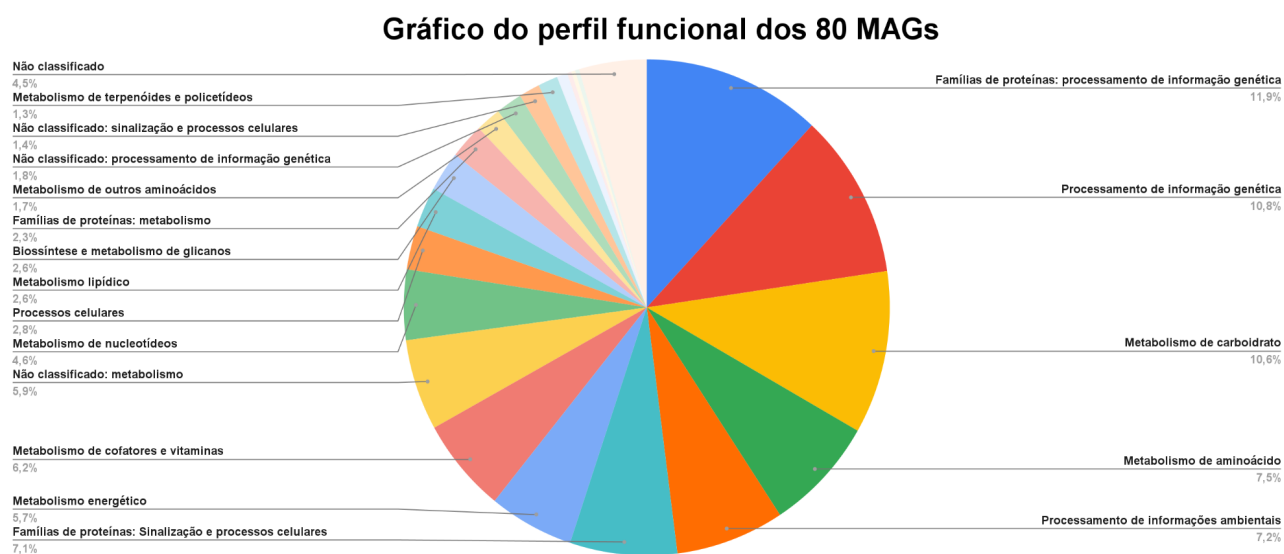


Figura 22 - Gráfico do perfil funcional dos 80 MAGs com o valor em porcentagem. Fonte: Autor, 2023.

As maiores predileções encontradas do perfil funcional do MAG 64 foi para metabolismo de famílias de proteínas e processamento de informação genética com 9,3%, 8,6% para processamento de informação genética, 8,9% de metabolismo de carboidrato, 7,4% de metabolismo de aminoácido, 10,1% de processamento de informações ambientais e 8,2% de famílias de proteínas sinalização e processos celulares (Figura 23).

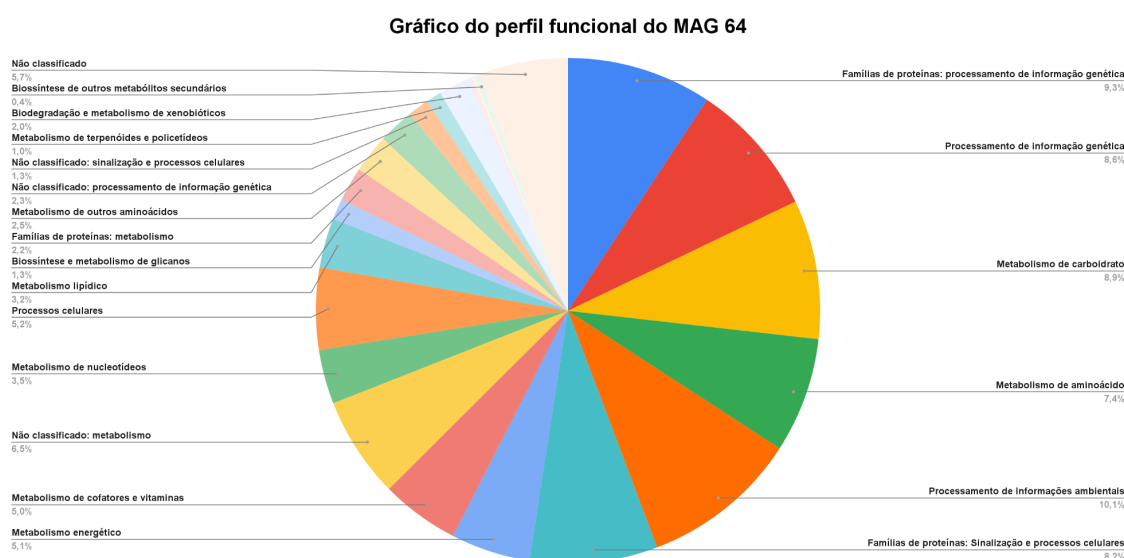


Figura 23 - Gráfico do perfil funcional do MAG 64 com valor em porcentagem. Fonte: Autor, 2023.

O perfil funcional do MAG 72 indicou maiores percentuais de metabolismos para famílias de proteínas e processamento de informação genética com 9,0%, 11,2% para processamento de informação genética, 16,0% de metabolismo de carboidrato, 6,2% de metabolismo de aminoácido, 8,1% de processamento de informações ambientais e 8,4% de famílias de proteínas sinalização e processos celulares (Figura 24).

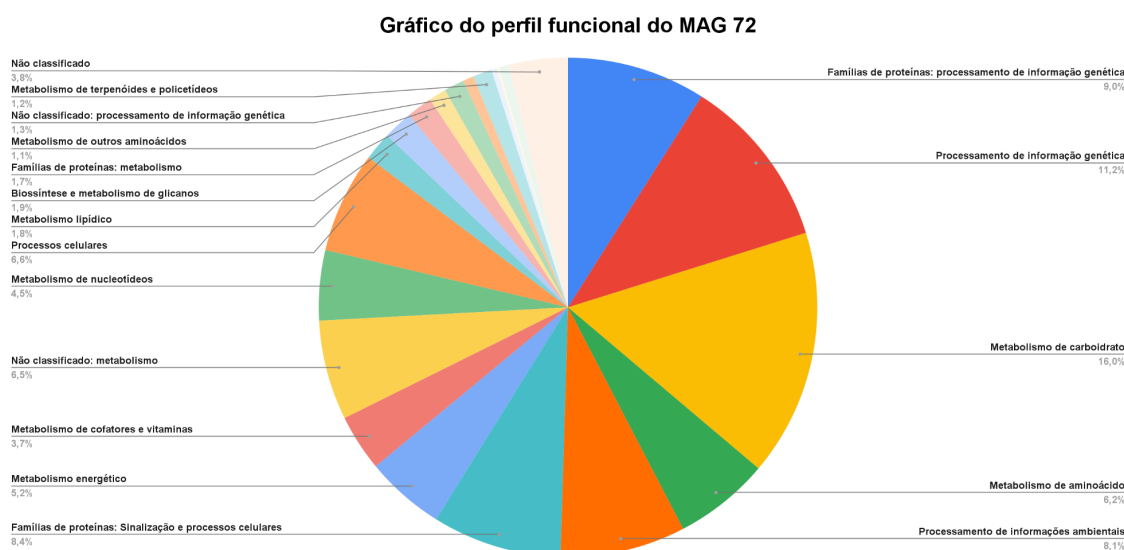


Figura 24 - Gráfico do perfil funcional do MAG 72 com valor em porcentagem. Fonte: Autor, 2023.

O perfil funcional do MAG 73 teve maiores metabolismos para famílias de proteínas e processamento de informação genética com 11,6%, 11,7% para processamento de informação genética, 12,2% de metabolismo de carboidrato, 9,5% de metabolismo de aminoácido, 3,4% de processamento de informações ambientais e 6,8% de famílias de proteínas sinalização e processos celulares (Figura 25).

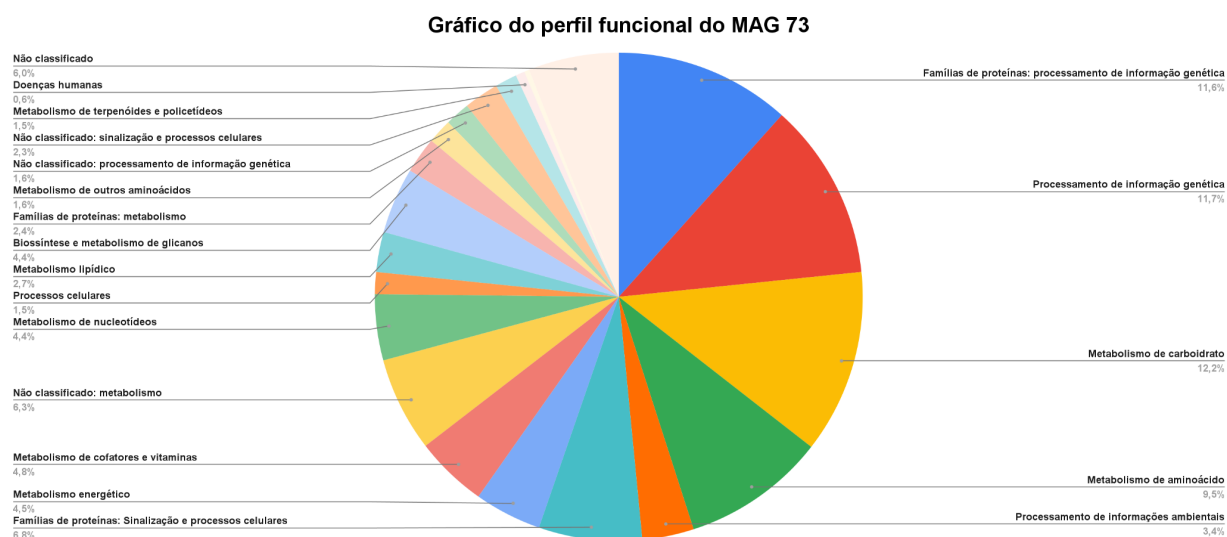


Figura 25 - Gráfico do perfil funcional do MAG 73 com valor em porcentagem. Fonte: Autor, 2023.

Dentre os MAGs 64, 72 e 73, os maiores metabolismos de carboidrato 16,0% e 8,4% de famílias de proteínas sinalização e processos celulares foram encontrados no MAG 72. O MAG 73 apresentou maior núcleo de metabolismo para famílias de proteínas e processamento de informação genética com 11,6% e 11,7% para processamento de informação genética dentre os três MAGs. O MAG 64 teve maior metabolismo com 10,1% de processamento de informações ambientais entre os três MAGs.

7 DISCUSSÃO

As análises dos metagenomas capturados considerados no nível de filo (Figura 19), demonstraram um conjunto consistente da microbiota preservada em lagos de água doce. As comunidades microbianas limnológicas apresentaram alta cobertura para filos, Proteobacteria, Actinobacteria e Cyanobacteria (Garner *et al.*, 2020).

Cheng *et al.* (2013) afirmam que o filo Proteobacteria (Figura 19) encontrado no lago da UHE de Tucuruí foi o grupo mais predominante. Esse filo é comumente encontrado em águas doces e sedimentos de lagos de reservatórios, e possui a capacidade de degradar poluentes orgânicos e produtos químicos ambientais. Além disso, as bactérias desse filo são metanotróficas, desempenhando papel importante na ciclagem do C, além de estarem associadas à oxidação de S, também podem atuar como acumuladoras de P, sendo detectadas no sedimento do lago.

A alta prevalência de Proteobacteria no lago é corroborada com outros estudos de metagenoma de lago, sendo comum em lagos oligotróficos devido a sua versatilidade fisiológica (Vaz-Moreira *et al.*, 2017). O filo Proteobacteria, exibe um enorme repertório funcional, compreendem fototrófos, autotrófos e heterotróficos. Suas atividades de ciclagem de N envolvem o ciclo oxidativo e redutor de N (Zhou *et al.*, 2020).

Representantes Actinobacteria (Figura 19) do lago da UHE de Tucuruí são predominantes em muitos ecossistemas límnicos, de diferentes estados tróficos, rios e outros corpos de água doce. A maioria de seus representantes é aeróbia. Em lagos de reservatório como o de Tucuruí, os representantes desse filo podem se adaptar às condições de temperatura, e as taxas de crescimento dependem da temperatura da água no lago (Lipko and Belykh, 2021).

Ghylin *et al.* (2014) identificaram em Actinobacteria de lagos de água doce um estilo de vida aeróbico facultativo com metabolismo de glicólise, via das pentoses fosfato, ciclo do citrato e maquinaria de fosforilação oxidativa (Anexo C). Além disso, foram encontradas actinorodopsinas e genes envolvidos na fixação anaplerótica de C.

Na pesquisa de Shen *et al.* (2019), foi observada uma abundância de Cyanobacteria (Figura 19) em ambientes mesotróficos-oligotróficos, como o lago de Tucuruí. Nessas condições anóxicas e escuras, as Cyanobacteria utilizam a fermentação em vez da respiração anaeróbia. Elas desempenham um papel importante como produtor primário em

ecossistemas de água doce, fornecendo matéria orgânica por meio da fotossíntese (Anexo D), apoiando o crescimento de várias bactérias no lago.

Cyanobacteria encontradas no lago também produzem CH₄, em taxas substanciais, sobre condições com luminosidade, pouca luz, óxicas e anóxicas. Esse filo pode converter C inorgânico em CH₄ e emitir esse gás de efeito estufa em ambientes com luz ou escuridão. Devido à eutrofização no lago, proliferações de Cyanobacteria também podem aumentar (Bižić *et al.*, 2020).

Em lagos de água doce e reservatórios de hidrelétricas, Bacteroidetes (Figura 19) são frequentemente presentes. No lago de Tucuruí, eles estão envolvidos na degradação de compostos de alto peso molecular, como celulose, quitina, tanto nas frações dissolvidas quanto nas frações particuladas de matéria orgânica, desempenhando um papel importante no ciclo do C (Dorador *et al.*, 2009).

Para Bertucci *et al.* (2019), os resultados encontrados de Bacteroidetes no lago confirmam a retenção do potencial hidrolítico durante a acidose, indicando bacteroidetes estarem amplamente envolvidos na degradação de biomassa. Eles apresentam maior diversidade e conteúdo genômico envolvido na degradação hidrolítica de carboidrato e digestão anaeróbica.

Dentre os filios com maior prevalência os Planctomycetes encontrados, tiveram menor distribuição (Figura 19). Esse filo pode atuar como quimiorganotróficos aeróbicos, sendo capaz de degradar compostos orgânicos complexos e crescer em condições aeróbicas e anaeróbicas no lago (Storesund *et al.*, 2020).

As reconstruções metabólicas de Planctomycetes em lagos oligotróficos estão ligadas a processos de beta-oxidação, *shunt* de hexose monofosfato, glicólise e fosforilação oxidativa (Anexo C). Sua ampla capacidade de regular SsC PhoR-PhoB, com a alta afinidade de fosfato inorgânico pelas porinas OprO-OprP, indica uma estratégia filogeneticamente conservada nos planctomycetes (Andrei *et al.*, 2019).

Pseudomonadota (Tabela 3) do MAG 64 do gene 5S, presentes no ambiente do lago, conseguem usar o glicogênio durante a fase estacionária ou limitação de nutrientes inorgânicos. Representantes desse filo podem realizar a degradação de glicogênio por enzimas glicogênio fosforilases e glicosidasas, que completam o processo de degradação de carboidratos. Devido às condições do lago, esses micróbios estão explorando a matéria orgânica quimicamente heterogênea (Bogdan *et al.*, 2023).

Para Speirs *et al.* (2019) o perfil funcional do MAG 72 do filo Chloroflexota (Tabela 3) no lago, pode estar envolvido na remoção de N e P. Podem ser anaeróbios, também desempenham papel metanogênico. Os membros do filo incluem fermentadores anaeróbicos facultativos quimiorganoheterotróficos, usando predominantemente carboidratos como substratos. Esse filo apresenta uma variedade de enzimas degradadoras de polissacarídeos, como quitinases, glucuronidases, protease e podem ser fotossintetizantes.

Bacteroidota (Tabela 3) do MAG 73, sua atividade bioquímica no lago pode ser relacionada a degradação de glicanos, quitina e codificam proteínas de ligação a açúcar da superfície celular, transportadores de açúcar, enzimas de carboidratos, polissacarídeos liases e reguladores de transcrição. Esse filo, também pode utilizar reguladores do tipo *SusR*, sistema híbrido de dois componentes e fatores sigma ou anti-sigma de função extracitoplasmática (Nakamura *et al.*, 2023).

O MAG 64 (Figura 23) com maior completude (Tabela 2 e 3), teve maior conteúdo genômico envolvido no metabolismo de processamento de informações ambientais, com 10,1%. Isso pode estar relacionado a capacidade dessas bactérias do filo Nitrospirae (Tabela 2) e Pseudomonadota (Tabela 3) responderem às mudanças no ambiente crítico do lago, permitindo que elas resistam ao stress em condições oligotróficas (Spratt and Lane, 2022).

Nesses ambientes, o metabolismo de processamento de informações ambientais do MAG 64 (Figura 23), indicou mecanismos reguladores para adaptação, como fatores sigma. Existem diferentes fatores sigmas em bactérias, regulando a expressão gênica em uma variedade de estresses, como calor, baixa temperatura como sigma B, sigma 32 em choque térmico ou *Riboswitches*, atuando em respostas a estímulos ambientais em condições oligotróficas (Hayrapetyan *et al.*, 2015).

Para o MAG 72 (Figura 24) do filo Chloroflexota, os maiores metabolismos foram de carboidrato, representando 16,0% e famílias de proteínas sinalização e processos celulares, representando 9,5%. Os maiores índices de carboidratos indicam alto conteúdo de peptidoglicano, LPS, glicose, galactose e glicosil hidrolases (Leyn *et al.*, 2017). Quanto às famílias de proteínas sinalização e processos celulares o alto índice do MAG 72 indicou atividade bioquímica desnitrificante, remoção do N e reações Anammox característico do filo (Speirs *et al.*, 2019).

O filo Chloroflexota do MAG 72, expressou um amplo espectro de capacidades fisiológicas e metabólicas. Isso é sugestivo de metabolismo aeróbico capaz de utilizar ampla variedade de substratos, com enzimas celulolíticas, glicídios, transporte de polímeros de carboidratos complexos pela membrana, sendo oxidantes termofílicos de monóxido de C, organotróficos heterotróficos e capazes de desalogenação reductiva de hidrocarbonetos (Tomazini *et al.*, 2018).

O MAG 73 (Figura 25) do filo Bacteroidota teve maiores metabolismos para famílias de proteínas e processamento de informação genética, com 11,6% e 11,7% para processamento de informação genética. Esses metabolismos para esse filo, indicaram um grande número de glicosídeos hidrolases, glicosil transferases, peptidases e proteínas de adesão, que degradam moléculas orgânicas, sugerindo alta atividade de degradação de biomassa no lago (Muhammad *et al.*, 2023).

Bacteroidota podem usar aceptores de elétrons como rendimento de energia da respiração, terminando com a metanogênese. Ao longo do sedimento, os metabolismos heterotróficos desse filo são críticos para quebrar macromoléculas e produzir compostos orgânicos menores, que alimentam a respiração e a metanogênese (Zinke *et al.*, 2019). Os metabolismos de Bacteroidota do MAG 73 (Figura 25) variam no sedimento do lago, a decomposição de biomassa pode ocorrer por enzimas lacases, oxiredutases, peroxidases, xilanases e manases, justificando o alto percentual de processamento de informação genética (Reichart *et al.*, 2021).

Os 10,6% para metabolismo de carboidrato encontrados (Figura 22) nas bactérias do lago de tucuruí indicam predileção para síntese de carboidratos. Em ambientes mistos elas selecionam fontes de C mais favoráveis. No caso da glicose, é internalizada pelo transportador PtsG e pelo transportador de manose ManXYZ, do sistema fosfotransferase (PTS). O gene *spf* indica regulação positiva para metabolismo de carboidrato (Durica-Mitic *et al.*, 2018).

Para Chadwick *et al.* (2022), os 5,7% de metabolismo energético (Figura 22) são indicativo da atividade de oxidação anaeróbica do CH₄ e redução do SO₄²⁻ entre arqueias metanotróficas anaeróbicas e bactérias redutoras de SO₄²⁻, ou de genes redutases *mcrA*, *Mtr*, *mtd* e *Mch* em arqueias. A biossíntese energética em alphaproteobacteria por fatores de transcrição CceR e AkgR também já foi identificada, relacionada ao metabolismo central de C e energia, por operons *atp*, *sucCDAB* e *sdh* (Imam *et al.*, 2015).

Na pesquisa de Takihara *et al.* (2021), foram identificados os genes relacionados a glicosídeo hidrolase e glicosiltransferase ao glicano (Figura 22), desempenhando papel em vários processos de aquisição de energia e homeostase durante a adaptação ao ambiente. Em um ambiente oligotrófico como o lago de Tucuruí, a baixa quantidade é explicada pelo baixo fornecimento de açúcar, justificando um baixo percentual de glicano encontrado nas bactérias do lago de 2,6% (Figura 22).

Os 7,2% de processamento de informações ambientais (Figura 22), são corroborados pela pesquisa de Shao *et al.* (2021), que mostra que as informações preditas estão relacionadas ao metabolismo, processamento de informações genéticas, doenças humanas, genes de resistência a antibióticos e sistemas organismos. Devido a qualidade da água no lago, é sugestivo que algumas funções estão relacionadas a doenças humanas.

A síntese de vitaminas e cofatores (Figura 22) foi de 6,2%. De acordo com Sokolovskaya *et al.* (2020), a cobamida (vitamina B12) da família de cofatores é a mais amplamente reconhecida, com afinidade para metilmalonil-CoA mutase, modulando a atividade de cofatores e *riboswitches*, afetando a expressão *downstream* e *BtuB* em bacteroides, o que está relacionado a distinção entre diferentes cobamidas.

Para Asfahl and Schuster (2017), os 7,1% de famílias de proteínas sinalização e processos celulares (Figura 22) podem estar relacionados a genes de sintase HL, *LuxI* e *LuxR*, devido a detecção de *quorum sensing* por moléculas autoindutores em alguns filos achados no lago, como Cyanobacteria, Pseudomonadota ou Bacteroidota.

Segundo Zhou *et al.* (2022), as pontuações encontradas para proteínas e processos celulares de 7,1% (Figura 22), indicam que a utilização de aminoácidos, degradação complexa de C, oxidação de S, ciclo do N ou outros ciclos, são os principais metabolismos heterotróficos para este ambiente. Membros do filo Nitrospirae, possuem via completa do ciclo do TCA (ácido tricarboxílico), gliconeogênese/glicólise, genes de oxidação de amônio e redução de NO_2^- a N_2O .

Parsons and Rock *et al.* (2013) afirmam que o metabolismo lipídico de 2,6% (Figura 22) pode ser relacionado a *FabH*, que determina a estrutura dos ácidos graxos, sistema PlsX/PlsY/PlsC na síntese de fosfolípidios e diacilglicerol quinases DkgA ou PtdGro, na biossíntese componentes macromoleculares da membrana. Esses componentes são variáveis do envelope de Gram-positivas e Gram-negativas no lago de Tucuruí.

O sequenciador *Ion Proton* pode alcançar alta precisão nas chamadas de genótipos de regiões genômicas alvo. Apesar de seus pontos fortes, erros sistemáticos são introduzidos nos dados de sequenciamento, devido ao uso da reação da polimerase, especialmente em regiões ricas em homopolímeros e com alto teor AT (Adenina/Timina) (Seo *et al.*, 2017).

Zhang *et al.* (2017), em pesquisa experimental descreveram o rendimento do *Ion Proton*, testando quatro kits WGS comerciais comuns. Eles analisaram diferenças médias por pb, uniformidade, reprodutibilidade e fidelidade. Observou-se que o *Ion Proton* foi capaz de produzir dados de alta qualidade e reprodutibilidade, na detecção de variação do número de cópias, para estudos de célula única.

No estudo de Yuan *et al.* (2016) identificaram que algumas leituras longas do *Ion Proton* podem ser produzidas. Mesmo que a taxa de mapeamento seja sensível, ainda é crítico ajustar a melhor combinação em razão de alguns parâmetros serem dependentes do comprimento de leitura, como o número de incompatibilidades que tende a aumentar para leituras mais longas ou em *subreads*. Esse fator, dificulta aumentar a sensibilidade sem sacrificar a especificidade.

As plataformas *Illumina*, possuem diferenças nas métricas geradas durante cada execução do sequenciamento, incluindo densidade de *cluster*, $\%QV \geq 30$ em comparação com o *Ion Proton*, que é inferior, com $\%QV \leq 30$, e número de filtro de aprovação de leitura. Essas métricas são importantes para descrever a perda de sincronia durante o sequenciamento (Kastanis *et al.*, 2019).

Sua principal vantagem são dados de alto rendimento em um período muito curto de tempo, com quantidade muito baixa de amostra corrida. As mais recentes *HiSeq 2500*, *HiSeq 2000* e *MiSeq*, geram até 600 GB a baixo custo, permitindo que dados de 1 TB sejam gerados em um dia. Agora é possível o sequenciamento *paired-end* de 300 pb em *MiSeq*, o que antes era *single-end* de 25 pb *Solexa*, fornecendo 99,9% de precisão (Gupta and Verma, 2019).

As plataformas *PacBio* eliminam a necessidade de montagem de sequência, devido sua capacidade de sequenciar leituras de até 50 kbp de comprimento em comparação ao *Ion Proton* que é inferior. No entanto, a tecnologia possui limitações como altas taxas de erro, de aproximadamente 15%, predominantemente *indels*, em comparação com a tecnologia *Illumina*, que tem uma taxa de erro de 1%. Além disso, o rendimento é

relativamente baixo, sendo difícil obter informações sobre níveis de expressão gênica (Zuo *et al.*, 2018).

8 CONCLUSÃO

O perfil fisiológico bioquímico em nível de comunidade encontrado no lago da UHE de Tucuruí está vinculado a outros estudos de metagenoma de lago, o que demonstra que os filos achados são extremamente conservados em outros lagos oligotróficos. A maquinaria de fosforilação oxidativa, representou um alto metabolismo energético, com genes para fixação de C, assimilação de N, S, além de subsidiar nutrientes para outras bactérias no lago. O perfil microbiano encontrado, está relacionado aos ciclos biogeoquímicos e estado trófico.

Foi possível definir pela tecnologia do sequenciador *Ion Proton* um rendimento total 15.209.918 bp do MAG 64, sendo um índice proveitoso em termos de estatística de sequenciamento, que teve o maior rendimento entre os MAGs com maior completude. A análise feita do metagenoma, identificou um gênero de *Nitrospira* no MAG 64, que pode estar associado ao processo de oxidação completa de NH_3 a NO_3^- . Isso corrobora com estudos de outros autores, o que poderia estar relacionado com a atividade de remoção de N, mediados microbiologicamente, envolvendo a nitrificação por comammox no lago de Tucuruí.

As quantificações de completudes do sequenciamento que foram complementadas pelo BUSCO, apresentaram baixa completude de sequenciamento. Isso se deve a limitação tecnológica do sequenciador *Ion ProtonTM*, o que prejudicou a montagem e foi uma limitação tecnológica encontrada. Os resultados foram relevantes por terem sido os primeiros MAGs montados da UHE de Tucuruí, algumas leituras tiveram uma completude relevante, sendo um estudo pioneiro para esse tipo de amostra de Hidrelétrica. Com esse trabalho, estamos adaptando a metodologia e serve como base para melhorar trabalhos futuros e vieses de análise.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Nakamura S, Kurata R, Tonozuka T, Funane K, Park EY and Miyazaki T (2023) Bacteroidota polysaccharide utilization system for branched dextran exopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Journal of Biological Chemistry* 299(7):104885.
- Alfreider A, Grimus V, Luger M, Ekblad A, Salcher MM and Summerer M (2018) Autotrophic carbon fixation strategies used by nitrifying prokaryotes in freshwater lakes. *FEMS Microbiology Ecology* 94(10):fyy163.
- Almeida, Neila De Jesus Ribeiro (2019) ALTERNATIVAS DE MANEJO PESQUEIRO NO LAGO DA USINA HIDRELÉTRICA DE TUCURUÍ/PA. *Nova Revista Amazônica* 7(1):243.
- Alneberg J, Bjarnason BS, Bruijn ID, Schirmer M, Quick J, Ijaz UZ, Lahti L, Loman NJ, Andersson AF and Quince C (2014) Binning metagenomic contigs by coverage and composition. *Nature methods* 11:1144-1146.
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW and Lipman DJ (1990) Basic local alignment search tool. *Journal of molecular biology* 215(3):403-410.
- Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W and Lipman DJ (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* 25(17):3389-3402.
- Ames SK, Hysom DA, Gardner SN, Lloyd GC, Gokhale MB and Allen JE (2013) Scalable metagenomic taxonomy classification using a reference genome database. *Bioinformatics* 29(18):2253-2260.
- Andrei A-S, Salcher MM, Mehrshad M, Rychtecký P, Znachor P and Ghai R (2019) Niche-directed evolution modulates genome architecture in freshwater Planctomycetes. *The ISME Journal* 13(4):1056-1071.
- Arrifano GPF, Martín-Doimeadio RCR, Jaménez-Moreno M, Ramíres-Mateos V, da Silva NFS, Sousa-Monteiro JR, Augusto-Oliveira M, Paraense RSO, Macchi BM, do

- Nascimento JLM, et al (2018). Large-scale projects in the amazon and human exposure to mercury: The case-study of the Tucuruí Dam. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 147:299-305.
- Asfahl KL and Schuster M (2017) Social interactions in bacteria cell-cell signaling. *FEMS Microbiology Reviews* 41(1):92-107.
- Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich AA, Dvorkin M, Kulikov AS, Lesin VM, Nikolenko SI, Pham S, Prjibelski AD et al. (2012) SPAdes: A New Genome Assembly Algorithm and Its applications to Single-Cell Sequencing. *Journal of Computational Biology* 19(5):455-477.
- Baraúna RA, Graças DA, Miranda PR, Ghilardi RJ, Barbosa MS, Schneider MPC, Silva A (2013) Prokaryotic Diversity of the Tucuruí Hydropower Plant Reservoir in the Brazilian Amazon. *Aquatic Science and Technology* 1(1):181-199.
- Bardgett RD and Caruso T (2020) Soil microbial community responses to climate extremes: resistance, resilience, and transitions to alternative states. *Philosophical Transactions B* 375(1794):1-13.
- Barnard RL, Osborne CA and Firestone MK (2013) Responses of soil bacterial and fungal communities to extreme desiccation and rewetting. *The ISME Journal* 7(11):2229-2241.
- Baú MT, Miotto F, Rezende KE, Pelegri GA and Nascimento do Wesley Rodrigues (2019) A produção de energia elétrica e a importância das usinas hidrelétricas. *Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia* 1-5.
- Bell KL, Petit III RA, Cutler A, Dobbs EK, Macpherson JM, Read TD, Burgess KS and Brosi BJ (2021) Comparing whole-genome shotgun sequencing DNA metabarcoding approaches for species identifications and quantification of pollen species mixtures. *Ecology and Evolution* 11(22):16082-16098.
- Benchimol M and Peres CA (2015) Widespread Forest Vertebrate Extinctions Induced by a Mega Hydroelectric Dam in Lowland Amazonia. *Plos One* 10(7):e0129818.

- Bertucci M, Calusinska M, Goux X, Rouland-Lefèvre C, Untereiner B, Ferrer P, Gerin PA and Delfosse P (2019) Carbohydrate Hydrolytic Potential and Redundancy of an Anaerobic Digestion Microbiome Exposed to Acidosis, as Uncovered by Metagenomics. *Applied and Environmental Microbiology* 85(15):e00895-19.
- Bilgili M, Bilirgen H, Ozbek A, Ekinci F and Demirdelen T (2018) The role of hydropower installations for sustainable energy development in Turkey and the world. *Renewable Energy* 126:755-764.
- Bižić M, Klintzsch T, Ionescu D, Hindiyeh MY, Günthel M, Muro-Pastor AM, Eckert W, Ulrich T, Keppler F and Grossart H-P (2020) Aquatic and Terrestrial cyanobacteria produce methane. *Science Advances* 6(3):eaax5343.
- Bogdan DF, Baricz AI, Chiciudean L, Bulzu P-A, Cristea A, Năstase-Bucur R, Levei EA, Cadar O, Sitar C, Banciu HL, et al (2023) Diversity, distribution and organic substrates preferences of microbial communities of a low anthropic activity cave in North-Western Romania. *Frontiers in Microbiology* 14:1-14.
- Borowik A, Wyszowska J and Kucharski J (2021) Microbiological Study in Petrol-Spiked Soil. *Molecules* 26(9):1-20.
- Bortoni EC, Santos LT, Bertrand O and Sauvaget P (2019) Acoustic Doppler profile measurements and CFD validation for Tucuruí hydro power plant tailrace flow investigation. *Flow Measurement and Instrumentation* 68:101583.
- Cabello-Yeves PJ, Scanlan DJ, Callieri C, Picazo A, Schallenberg L, Huber P, Roda-Garcia JJ, Bartosiewicz M, Belykh OI, Tikhonova IV, et al (2022) α -cyanobacteria possessing form IA RuBisCO globally dominate aquatic habitats. *The ISME Journal* 16(10):2421-2432.
- Cabral BCA, Hoffmann L, Budowle B, Ürményi TP, Moura-Neto RS, Azevedo SMFO and Silva R (2018) Planktonic microbial profiling in water samples from a Brazilian Amazonian reservoir. *Microbiology Open* 7(2):e00523.
- Campos PHP (2019) Ditadura, interesses empresariais e desenvolvimentismo: a obra da usina hidrelétrica de Tucuruí. *Tempo e Argumento* 11(26):255-286.

- Cao X, Hamilton JJ and Venturelli OS (2018) Understanding and Engineering Distributed Biochemical Pathways in Microbial Communities. *Biochemistry* 58(2):94-107.
- Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, Berg-Lyons D, Lozupone CA, Turnbaugh PJ, Fierer N and Knight R (2011) Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *PNAS* 108:4516-4522.
- Caus TR and Michels A (2014). *Energia Hidrelétrica: Eficiência na geração*.
- Chadwick GL, Skennerton CT, Laso-Pérez R, Leu AO, Speth DR, Yu H, Morgan-Lang C, Hatzenpichler R, Goudeau D, Malmstrom R et al (2022) Comparative genomics reveals electron transfer and syntrophic mechanisms differentiating methanotrophic and methanogenic archaea. *Plos One* 20(1):e3001508.
- Chaudhary N, Sharma AK, Agarwal P, Gupta A and Sharma VK (2015) 16S Classifier: A Tool For Fast and Accurate Taxonomic Classification of 16S rRNA Hypervariable Regions in Metagenomic Datasets. *Plos One* 10(2):e0116106.
- Cheng W, Zhang J, Wang Z, Wang M and Xie S (2013) Bacterial communities in sediments of a drinking water reservoir. *Annals of Microbiology* 64:875-878.
- Chiang E, Schmidt ML, Berry MA, Biddanda BA, Burtner A, Johengen TH, Palladino D and Deneff VJ (2018) Verrucomicrobia are prevalent in north-temperate freshwater lakes and display class-level preferences between lake habitats. *Plos One* 13(3):e0195112.
- Cintra IHA, Flexa CE, da Silva MB, de Araújo LF and Silva KC de Araújo (2013) A pesca no reservatório da usina hidrelétrica de Tucuruí, região Amazônica, Brasil: aspectos biológicos, sociais, econômicos e ambientais. *Acta of Fisheries and Aquatic Resources* 1(1):57-78.
- Cole JR, Wang Q, Cardenas E, Fish J, Chai B, Farris RJ, Kulam-Syed-Mohideen AS, McGarrell DM, Marsh T, Garrity GM et al (2009) The Ribosomal Database Project: improved alignments and new tools for rRNA analysis. *Nucleic Acids Research* 37:D141-D145.

- Costa SS, Lago LAB, Silva A, das Graças DA, Lameira J and Baraúna RA (2022) Diversity of bacteriocins in the microbiome of the Tucuruí Hydroelectric Power Plant water reservoir and three-dimensional structure prediction of a zoocin. *Genetics and Molecular Biology* 45(1):e20210204.
- Cotner JB, Hall EK, Scott JT and Heldal M (2010) Freshwater bacteria are stoichiometrically flexible with a nutrient composition similar to seston. *Frontiers in Microbiology* 1:132.
- Crofts TS, McFarland AG and Hartmann EM (2021) Mosaic Ends Tagmentation (METa) Assembly for Highly Efficient Construction of Functional Metagenomic Libraries. *mSystems* 6(3):e00524-21.
- Daims H, Lebedeva EV, Pjevac P, Han P, Herbold C, Albertsen M, Jehmlich N, Palatinszky M, Vierheilig J, Bulaev A, et al (2015) Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria. *Nature* 528(7583):504-509.
- Dall'Agnol LT, Ghilardi-Junior R, Mcculloch JA, Schneider H, Schneider MPC and Silva AA (2012) Phylogenetic and gene trees of *Synechococcus*: choice of the right marker to evaluate the population diversity in the Tucuruí Hydroelectric Power Station Reservoir in Brazilian Amazonia. *Journal of Plankton Research* 34(3):245-257.
- Demoulin CF, Lara YJ, Cornet L, François C, Baurain D, Willmote A and Javaux EJ (2019) Cyanobacteria evolution: Insight from the fossil record. *Free Radical Biology & Medicine* 140:206-223.
- Dhariwal A, Chong J, Habib J, King IL, Agellon LB and Xia J (2017) MicrobiomeAnalyste: a web-based tool for comprehensive statistical, visual and meta-analyses of microbiome data. *Nucleic Acids Research* 45:W180-W188.
- Di Lorenzo F, Crisafi F, La Cono V, Yakimov MM, Molinaro A and Silipo A (2020) The Structure of the Lipid A of Gram-Negative Cold-Adapted Bacteria Isolated from Antarctic Environments. *Marine drugs* 18(12):1-14.

- Dorador C, Meneses D, Urtuvia V, Demergasso C, Vila I, Witzel K-P and Imhoff JF (2009) Diversity of Bacteroidetes in high-altitude saline evaporitic basins in northern Chile. *Journal of Geophysical Research* 114:G2.
- Duncan A, Barry K, Daum C, Eloë-Fadrosch E, Roux S, Schmidt K, Tringe SG, Valentin KU, Varghese N, Salamov A et al. (2022) Metagenoma-assembled genomes of phytoplankton microbiomes from the Arctic and Atlantic Oceans. *Microbiome* 10:1-21.
- Durica-Mitic S, Göpel Y and Görke B (2018) Carbohydrate Utilization in Bacteria: Making the Most Out of Sugars with the Help of Small Regulatory RNAs. *Microbiology Spectrum* 6(2):1-19.
- Dwullit-Smith JR, Hamilton JJ, Stevenson DM, He S, Oyserman BO, Moya-Flores F, Garcia SL, Amador-Noguez D, McMahon KD and Forest KT (2018) acI Actinobacteria Assemble a Functional Actinorhodopsin with Natively Synthesized Retinal. *Applied and Environmental Microbiology* 84(24):e01678-18.
- Escalas A, Hale L, Voordeckers JW, Yang Y, Firestone MK, Alvarez-Cohen L and Zhou J (2019) Microbial functional diversity: From concepts to applications. *Ecology and Evolution* 9(20):12000-12016.
- Espíndola ELG, Matsumura-Tundisi T, RIETZLER AC and Tundisi JG (2000) SPATIAL HETEROGENEITY OF THE TUCURUÍ RESERVOIR (STATE OF PARÁ, AMAZONIA, BRAZIL) AND THE DISTRIBUTION OF ZOOPLANKTONIC SPECIES. *Revista Brasileira de Biologia* 60(2):179-194.
- Fan P, Cho MS, Lin Z, Ouyang Z, Qi J, Chen J and Moram EF (2022) Recently constructed hydropower dams were associated with reduced economic production, population, and greenness in nearby areas. *PNAS* 119(8):e2108038119.
- Fearnside PM (1999). Social impacts of Brazil's Tucuruí. *Environmental Management* 24(4):483-495.
- Fearnside PM (2015) Impactos Ambientais da Barragem de Tucuruí: Lições Ainda Não Aprendidas para o Desenvolvimento Hidrelétrico na Amazônia. In: *Hidrelétricas na*

Amazônia: Impactos Ambientais e Sociais na Tomada de Decisões Sobre Grandes Obras. Vol 1. Editora do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, Amazonas, pp 53-74.

Fecskeová LK, Piwosz K, Hanusová M, Nedoma J, Znachor P and Koblížek M (2019) Diel changes and diversity of pufM expression in freshwater communities of anoxygenic phototrophic bacteria. *Scientific Reports* 9:18766.

Fernández-Gómez B, Richter M, Schüller M, Pinhassi M, ACinas SG, González JM and Pedrós-Alió C (2013) Ecology of marine Bacteroidetes: a comparative genomics approach. *The ISME Journal* 7(5):1026-1037.

Flexa CE, Silva KCA and Cintra IHA (2016) Pescadores artesanais à jusante da usina hidrelétrica de Tucuruí, Amazônia, Brasil. *Biblioteca Virtual em Saúde* 42(1):221-235.

Fuchsman CA, Staley JT, Oakley BB, Kirkpatrick JB and Murray JW (2012) Free-living and aggregate-associated Planctomycetes in the Black Sea. *FEMS Microbiology Ecology* 80(2):402-416.

Garner RE, Gregory-Eaves I and Walsh DA (2020) Sediment Metagenomes as Time Capsules of Lake Microbes. *mSphere* 5(6):e00512-20.

Garner RE, Gregory-Eaves I and Walsh DA (2020) Sediment Metagenomes as Time Capsules of Lake Microbiomes. *mSphere* 5(6):e00512-20.

Ghylin TW, Garcia SL, Moya F, Oyserman BO, Schwientek P, Forest KT, Mutschler J, Dwulit-Smith J, Chan L-K, Martinez-Gracia M et al (2014) Comparative single-cell genomics reveals potential ecological niches for the freshwater acI Actinobacteria lineage. *The ISME Journal* 8(12):2503-2516.

Gordon A and Hannon GJ (2010) Fastx-toolkit. FASTQ/A short-reads pre-processing tools.

Graça AT, Hall M, Persson K and Schröder WP (2021) High-resolution model of arabidopsis Photosystem II reveals the structural consequences of digitonin-extraction. *Scientific reports* 11:15534.

- Graças DA, Baraúna RF, Franco LC, Leão TF, Sá PHCG, Veras AAO, Carneiro AR, Meireles J, Pinheiro KC, Silva ALC and Ramos RTJ (2014) The Use Ion Torrent PGM for Bacterial Diversity Analyses: The Study Case of Five Brazilian Hydroelectric Reservoirs. In: *Metagenomic: Methods, Applications and Perspectives*. Publisher Nova Science, pp 67-86.
- Graças DA, Jesus EC, Filho LCF, Guillard RJ, Barbosa MSR, Ramos RTJ, Leão TF, Baraúna RA, Schneider MPC and Silva A (2013) Changes in Microbial Communities along a Water Column in a Amazonian Flooded Area. *Aquatic Science and Technology* 1(1):9-29.
- Graças DA, Miranda PR, Baraúna RA, McCulloch JA, Ghilardi RJ, Schneider MPC and Silva A (2011) Microbial Diversity of an Anoxic Zone of a Hydroelectric Power Station Reservoir in Brazilian Amazonia. *Environmental Microbiology* 62:853-861.
- Green ER and Mecsas J (2016) Bacterial Secretion Systems: An Overview. *Microbiology Spectrum* 4(1):1-19.
- Gupta N and Verma VK (2019) Next-Generation Sequencing and Its Application: Empowering in Public Health Beyond Reality. *Microbial Technology for the Welfare of Society* 17:313-341.
- Handelsman J, Rondon MR, Brady SF, Clardy J and Goodman RM (1998) Molecular Biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. *Chemistry and Biology* 5(10):245-249.
- Hayrapetyan H, Tempelaars M, Groot MN and Abee T (2015) *Bacillus cereus* ATCC 14579 RpoN (Sigma 54) Is a Pleiotropic Regulator of Growth, Carbohydrate Metabolism, Motility, Biofilm Formation and Toxin Production. *Plos One* 10(8):e0134872.
- Hemdan BA, El-Taweel GE, Goswami P, Pant D and Sevda S (2021) The role of biofilm in the development of ubiquitous pathogens in drinking water distribution systems: an overview of surveillance, outbreaks, and prevention. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 36(37):1-18.

- Henriques LMP, Dantas S, Santos LB, Bueno AS and Peres CA (2021) Avian Extinctions induced by the oldest Amazonian hydropower mega dam: evidence from museum collections and sighting data spanning 172 years. *Peer J* 9:e11979.
- Hickl O, Queirós P, Wilmes P, May P and Heintz-Buschart A (2022) binny: an automated binning algorithm to recover high-quality genomes from complex metagenomic datasets. *Briefings in Bioinformatics* 23(6):bbac431.
- Hiraoka S, Yang C-c and Iwasaki W (2016) Metagenomics and Bioinformatics in Microbial Ecology: Current Status and Beyond. *Microbes and Environment* 31(3):204-212.
- Huu KV, Zangl R, Hoffmann J, Just A and Morgner N (2022) Bacterial F-type ATP synthases follow a well-choreographed assembly pathway. *Nature Communications* 13:1218.
- Hyatt D, Chen GL, LoCascio PF, Land ML, Larimer FW and Hauser LJ (2010) Prodigal: prokaryotic gene recognition and translation initiation site identification. *BMC Bioinformatics* 11(1):119.
- Imam S, Noguera DR and Donohue TJ (2015) CceR and AkgR Regulate Central Carbon and Energy Metabolism in Alphaproteobacteria. *mBio* 6(1):e02461-14.
- Ivanova AA, Kulichevskaya IS, Merkel AY, Toshchakov SV and Dedysh SN (2016) High Diversity of Planctomycetes in Soils of Two Lichen-Dominated Sub-Arctic Ecosystems of Northwestern Siberia. *Frontiers in Microbiology* 7:2065.
- Jensen PE, Bassi R, Boekema EJ, Dekker JP, Jansson S, Leister D, Robinson C and Scheller HV (2007) Structure, function and regulation of plant photosystem I. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Bioenergetics* 1767(5):335-352.
- Jiao S, Peng Z, Qi J, Gao J and Wei G (2021) Linking Bacterial-Fungal Relationships to Microbial Diversity and Soil Nutrient Cycling. *mSystems* 6(2):e01052-20.
- Jin Q and Kirk MF (2018) pH as Primary Control in Environmental Microbiology: 1. Thermodynamic Perspective. *Frontiers in Environmental Sciences* 6:1-15.

- Kandeler E, Deiglmayr K, Tschirko D, Bru D and Philippot L (2006) Abundance of narG, nirS, nirK and nosZ Genes of Denitrifying Bacteria during Primary Successions of a Glacier Foreland. *Applied and Environmental Microbiology* 72(9):5957-5962.
- Kanehisa M (1997) A database for post-genome analysis. *Trends in Genetics - Cell Press* 13(9):375-376.
- Kanehisa M and Goto S (2000) KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. *Nucleic Acids Research* 28(1):27-30.
- Kang DD, Froula J, Egan R and Wang Z (2015) MetaBAT, an efficient tool for accurately reconstructing single genomes from complex microbial communities. *PeerJ* 3:e1165.
- Kang DD, Li F, Kirton E, Thomas A, Egan R, An H and Wang Z (2019) MetaBAT 2: an adaptive binning algorithm for robust and efficient genome reconstruction from metagenome assemblies. *PeerJ* 7:e7359.
- Karkman A, Pärnänen K and Larsson DGJ (2019) Fecal pollution can explain antibiotic resistance gene abundances in anthropogenically impacted environments. *Nature Communications* 10:80.
- Kastanis GJ, Santana-Quintero LV, Sanchez-Leon M, Lomonaco S, Brown EW and Allard MW (2019) In-depth comparative analysis of Illumina[®] MiSeq run metrics: Development of a wet-lab quality assessment tool. *Molecular Ecology Resources* 19(2):377-387.
- Kiersztyn B, Chróst R, Kalinski T, Siuda W, Bukowska A, Kowalczyk G and Grabowska K (2019) Structural and functional diversity along a eutrophication gradient of interconnected lakes undergoing anthropopressure. *Scientific Reports* 9:11144.
- Kim S, Kang I, Lee J-W, Jeon CO, Giovannoni SJ and Cho J-C (2021) Heme auxotrophy in abundant aquatic microbial lineages. *PNAS* 118(47):e2102750118.
- Lakey BD, Myers KS, Alberge F, Mettert EL, Kiley PJ, Noguera DR and Donohue TJ (2022) The essential *Rhodobacter sphaeroides* CenKR two-component system regulates cell division and envelope biosynthesis. *Plos Genetics* 18(6):e1010270.

- Langmead B, Trapnell C, Pop M and Salzberg SL (2009) Ultrafast and memory-efficient alignment of short DNA sequences to the human genome. *Genome Biology* 10:R25.
- Lara PG, Lopes JD, Luz GM and Bonumá NB (2014) RESERVOIR OPERATION EMPLOYING HEC-RESSIM: CASE STUDY OF TUCURUÍ DAM, BRAZIL. 6th INTERNATIONAL CONFERENCE ON FLOOD MANAGEMENT 1-10.
- Lau KJ, Junqueira ACM, Uchida A, Purbojati RW, Houghton JNI, Chénard C, Wong A, Kolundžija S, Clare ME, Kushwaha KK et al (2019) Complete Genome Sequence of *Agrococcus* sp. Strain SGAir0287, Isolated from Tropical Air Collected in Singapore. *Microbiology Resource Announcements* 8(32):e00616-19.
- Lawson PA, Patel NB, Mohammed A, Moore ERB, Lo AS, Sardi A, Davis JM, Doyle DA, Hui Y, Testerman T (2020) *Pseudoflavitalea muciniphila* gen. nov., sp. nov., a member of the family Chitinophagaceae isolated from a human peritoneal tumour and reclassification of *Pseudobacter ginsenosidimutans* as *Pseudoflavitalea ginsenosidimutans* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 70(6):3639-3646.
- Lemmer KC, Alberge F, Myers KS, Dohnalkova AC, Schaub RE, Lenz JD, Imam S, Dillard JP, Noguera DR and Donohue TJ (2020) The NtrYX Two-Component System Regulates the Bacterial Cell Envelope. *mBio* 11(3):e00957-20.
- Lewin GR, Carlos C, Chevrette MG, Horn HA, McDonald BR, Stanley RJ, Fox BG and Currie CR (2017) Evolution and Ecology of Actinobacteria and their Bioenergy Applications. *Annual Review of Microbiology* 70:235-254.
- Leyn SA, Maezato Y, Romine MF and Rodionov DA (2017) Genomic Reconstruction of Carbohydrate Utilization Capacities in Microbial-Mat Derived Consortia. *Frontiers in Microbiology* 8:1304.
- Li D, Liu CM, Luo R, Sadakane K and Lam TW (2015) MEGAHIT: An ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph. *Bioinformatics* 31(10):1674-1676.

- Li H, Handsaker B, Wysoker A, Fennel T, Ruan J, Homero N, Marth G, Abecasis G and Durbin R (2009) The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics* 25(16):2078-2079.
- Li T and Yin Y (2022) Critical assessment of pan-genomic analysis of metagenome-assembled genomes. *Briefings in Bioinformatics* 23(6):bbac413.
- Lipko IA and Belykh OI (2021) Environmental Features of Freshwater Planktonic Actinobacteria. *Contemporary Problems of Ecology* 14:158-170.
- Lortou U, Panteris E and Gkelis S (2022) Uncovering New Diversity of Photosynthetic Microorganisms from the Mediterranean Region. *microorganisms* 10(8):1571.
- Ma L, Yang W, Huang S, Liu R, Li H, Huang X, Xiong J and Liu X (2022) Integrative Assessments on Molecular Taxonomy of Acidiferrobacter thiooxydans ZJ and Its Environmental Adaptation Based on Mobile Genetic Elements. *Frontiers in Microbiology* 13:826829.
- Maestre FT, Delgado-Baquerizo M, Jeffries TC and Sing (2015) Increasing aridity reduces soil microbial diversity and abundance in global drylands. *PNAS* 112(51):15684-15689.
- Magalhães, SB (1992) TUCURUÍ - UMA ANÁLISE DA VISÃO DO ESTADO SOBRE O CAMPESINATO. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi: Antropologia* 8(21):25-64.
- Mallawaarachchi VG, Wickramarachchi AS and Lin Y (2021) Improving metagenomic binning results with overlapped bins using assembly graphs. *Algorithms for Molecular Biology* 16:1-18.
- Malone LA, Proctor MS, Hitchcock A, Hunter CN and Johnson MP (2021) Cytochrome b6/f - Orchestrator of photosynthetic electron transfer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 1862(5):148380.
- Mehrani M-J, Sobotka D, Kowal P, Ciesielski S and Makinia J (2020) The occurrence and role of Nitrospira in nitrogen removal systems. *Bioresource Technology* 303:122936.

- Merona, Bernarde de (1995) Ecologia da Pesca e Manejo Pesqueiro na Região Amazônica. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi: Série Antropologia 11(2):167-183.
- Meziti A, Rodriguez-R LM, Hatt JK, Peña-Gonzales A, Levy K and Konstantinidis KT (2021) The Reliability of Metagenome-Assembled Genomes (MAGs) in Representing Natural Populations: Insights from Comparing MAGs against Isolates Genomes Derived from the Same Fecal Sample. Applied and Environmental Microbiology 87(6):e02593-20.
- Meziti A, Rodriguez-R LM, Hatt JK, Peña-Gonzalez A, Levy K and Konstantinidis KT (2021) The Reliability of Metagenome-Assembled Genomes (MAGs) in Representing Natural Populations: Insights from Comparing MAGs against Isolate Genomes Derived from the Same Fecal Sample. Applied and Environmental Microbiology 87(6):e02593-20.
- Microbial Organic Matter Degradation Potential in Baltic Sea Sediments Is Influenced by Depositional Conditions and In Situ Geochemistry. Applied and Environmental Microbiology 85(4):e02164-18.
- Milucka J, Kirf M, Lu L, Krupke A, Lam P, Littmann S, Kuypers MMM and Schubert CJ (2015) Methane oxidation coupled to oxygenic photosynthesis in anoxic waters. The ISME Journal 9(9):1991-2002.
- Montoya, Andrés Danilo Velástegui (2018). Avaliação do processo de cobertura da terra no entorno de usinas hidrelétricas na Amazônia brasileira: a evolução da UHE de Tucuruí.
- Moraes TSL, Lopes SMD and Moraes CM das G (1999). A construção da Usina Hidrelétrica de Tucuruí Um estudo sobre os impactos sociais e educacionais na região sul e sudeste do Pará.
- Muhammad N, Avila F, Lee Y-J, Han H-L, Kim K-H and Kim S-G (2023) Chondrinema litorale gen. nov., sp. nov., of the phylum Bacteroidota, carrying multiple megaplasmids isolated from a tidal flat in the West Sea, Korea. Frontiers in Marine Science 10:2023.

- Muir DG and Perissinotto R (2011) Persistent Phytoplankton Bloom in Lake St. Lucia (iSimangaliso Wetland Park, South Africa) Caused by a Cyanobacterium Closely Associated with the Genus *Cyathococcus* (Synechococcaceae, Chroococcales). *Applied and Environmental Microbiology* 77(17):5888-5896.
- Nautiyal H and Goel V (2020) Sustainability assessment of hydropower projects. *Journal of Cleaner Production* 265:1-14.
- Neto BSR, Hauser-Davis RA, Lobato TC, Saraiva ACF, Brandão ILS, Oliveira TFO and Silveira AM (2014) Estimating Physicochemical Parameters and Metal Concentrations in Hydroelectric Reservoirs by Virtual Sensors: A Case Study in the Amazon Region. *Computer Science and Engineering* 4(2):43-53.
- Nezio FD, Beney C, Roman S, Danza F, Buetti-Dinh A, Tonolla M and Storelli N (2021) Anoxygenic photo- and chemo- synthesis of phototrophic sulfur bacteria from an alpine meromictic lake. *FEMS Microbiology Ecology* 97(3):fiab010.
- Nguyen J, Fernandez V, Pontrelli S, Sauer U, Ackermann M and Stocker R (2021) A distinct growth physiology enhances bacterial growth under rapid nutrient fluctuations. *Nature Communications* 12:1-12.
- Nguyen J, Lara-Gutiérrez J and Stocker R (2021) Environmental fluctuations and their effects on microbial communities, populations and individuals. *FEMS* 45(4):1-16.
- Ogino K, Dash SK and Nakayama M (2019) Change to hydropower development in Bhutan and Nepal. *Energy for Sustainable Development* 50:1-17.
- Organochlorine Pesticides Negatively Influenced the Cellular Growth, Morphostructure, Cell Viability, and Biofilm-Formation and Phosphate-Solubilization Activities of *Enterobacter cloacae* Strain EAM 35. *ACS OMEGA* 6(8):5548-5559.
- Pan Y, She D, Shi Z, Cao T, Xia Y and Shan J (2023) Salinity and high pH reduce denitrification rates by inhibiting denitrifying gene abundance in a saline-alkaline soil. *Scientific Reports* 13:2155.

- Pandit A, Adholeya A, Cahill D, Brau L and Kochar M (2020) Microbial biofilms in nature: unlocking their potential for agricultural applications. *Journal of Applied Microbiology* 129:199-211.
- Papudeshi B, Haggerty JM, Doane M, Morris MM, Walsh K, Beattie DT, Pande D, Zaeri P, Silva GGZ, Thompson F et al. (2017) Optimizing and evaluating the reconstruction of Metagenome-assembled microbial genomes. *BMC Genomics* 18:915.
- Park MS, Sa H, Kang I and Cho J-C (2022) *Flaviumibacter fluminis* sp. nov. and *Flaviumibacter rivuli* sp. nov., isolated from a freshwater stream. *Journal of Microbiology* 6(8):806-813.
- Parks DH, Imelfort M, Skennerton CT, Hugenholtz P and Tyson GW (2015) CheckM: assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes. *Genome Research* 25(7):1043-1055.
- Parsons JB and Rock CO (2013) Bacterial lipids: Metabolism and membrane homeostasis. *Progress in Lipid Research* 52(3):249-276.
- Peña MMO and Bullerjahn GS (1995) The DpsA Protein of *Synechococcus* sp. Strain PCC7942 Is a DNA-binding Hemoprotein: LINKAGE OF THE Dps AND BACTERIOFERRITIN PROTEIN FAMILIES. *Journal of Biological Chemistry* 270(38):22478-22482.
- Pestana A, Azevedo LS, Bastos WR and Sousa, CR de Magalhães (2019) The impact of hydroelectric dams on mercury dynamics in South America: A review. *Chemosphere* 219:546-556.
- Picazo A, Villaescusa JA, Roquera C, Miralles-Lorenzo J, Quesada A and Camacho A (2021) Functional Metabolic Diversity of Bacterioplankton in Maritime Antarctic Lakes. *Microorganisms* 9(10):2077.
- Poli A, Finore I, Romano I, Gioiello A, Lama L and Nicolaus B (2017) Microbial Diversity in Extreme Marine Habitats and Their Biomolecules. *Microorganisms* 5(2):25.

- Pompeu JCV, Rodrigues DDS and Damasceno A (2019) Trabalho, identidade e produção de saberes de pescadores artesanais no contexto da construção da usina hidrelétrica de Tucuruí-Pará -análise a partir de uma comunidade ribeirinha amazônica. *Boletim técnico do Senac* 45(1):173-186.
- Pribis JP, Zhai Y, Hastings PJ and Rosenberg SM (2022) Stress-Induced Mutagenesis, Gambler Cells, and Stealth Targeting Antibiotic-Induced Evolution. *mBio* 13(3):1-15.
- Priyadarshane M, Chatterjee S, Rath S, Dash HR and Das S (2022) Cellular and genetic mechanism of bacterial mercury resistance and their role in biogeochemistry and bioremediation. *Journal of Hazardous Materials* 423(2022):126985.
- Queiroz ARS de and Motta-Veiga M (2012) Analysis of the social and health impacts of large hydroelectric plants: lessons for a sustainable energy management. *SciELO* 17(6):1387-1398.
- Radkov AD, Hsu Y-P, Booher G and VanNieuwenhze MS (2018) Imaging Bacterial Cell Wall Biosynthesis. *Annual Review of Biochemistry* 87:991-1014.
- Randell H (2016) The short-term impacts of development-induced displacement on wealth and subjective well-being in the Brazilian Amazon. *World Development* 87:385-400.
- Ranjan R, Rani A, Metwally A, McGee HS and Parkins DL (2016) Analysis of the microbiome: Advantages of whole genome shotgun versus 16S amplicon sequencing. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 469(4):967-977.
- Reichart NJ, Bowers RM, Woyke T and Hatzenpichler R (2021) High Potential for Biomass-Degrading Enzymes Revealed by Hot Spring Metagenomics. *Frontiers in Microbiology* 12(668238):1-13.
- Reis dos Mariana Câmara, Bagatini IL, Vidal L de Oliveira, Bonnet M-P, Marques D de Motta, Sarmiento H (2019) Spatial heterogeneity and hydrological fluctuations drive bacterioplankton community composition in a Amazon floodplain system. *Plos One* 14(8):e220695.

- Ribeiro MCL de Brito, Junior MP and Juras AF (1995) Ecological integrity and fisheries ecology of the Araguaia-Tocantins River Basin, Brazil. *Regulated Rivers: Research & Management* 11(3-4):325-350.
- Rocha G de Miranda and Neves MB (2018). Hydroelectric projects and territorial governance in regions of The States of Pará, Brazilian Amazon. *The international Journal Entrepreneurship and Sustainability Issues* 5(4):712-723.
- Rodrigues MS, Batista EP, Silva AA, Costa FM, Neto VAS and Gil LHS (2017) Change in Anopheles richness and composition in response to artificial flooding during the creation of the Jirau hydroelectric dam in Porto Velho, Brazil. *Malaria Journal* 16:87.
- Rofner C, Sommaruga R and Pérez MT (2016) Differential utilization patterns of dissolved organic phosphorus compounds by heterotrophic bacteria in two mountain lakes. *FEMS Microbiology Ecology* 92(9):fiw139.
- Romaniuk JAH and Cegelski L (2015) Bacterial cell wall composition and the influence of antibiotics by cell-wall and whole-cell NMR. *Philosophical Transactions B of the Royal Society B* 370(1679): 20150024.
- Sá LR de Vasconcelos, Cammarota MC and Ferreira-Leitão VS (2014) Produção de hidrogênio via fermentação anaeróbia - aspectos gerais e possibilidade de utilização de resíduos agroindustriais brasileiros. *SciELO* 37(5):857-867.
- Saad S, Bhatnagar S, Tegetmeyer HE, Geelhoed JS, Strous M and Ruff SE (2017) Transient exposure to oxygen or nitrate reveals ecophysiology of fermentative and sulfate-reducing benthic microbial populations. *Microbiology Environmental* 19(12):4866-4881.
- Saia FT, Araújo AC, Nakayama CR, Graças DA, Andreote F, Taketani R, Piza F, Silva A, Pellizzari VH, Soares I, Manfio G and Vazoller RF (2011) Archaea Diversity in Brazilian Aquatic Ecosystems. In: *Archaea: Structure, Habitats and Ecological Significance*. Edition 1. Nova Publisher, pp 95-120.
- Santana PB, Junior RG, Alves CN, Silva JL, McCulloch JA, Schneider MPC and Silva AC (2012) Diversity and three-dimensional structures of the alpha Mcr of the

methanogenic Archaea from the anoxic region of Tucuruí Lake, in Eastern Brazilian Amazonia. *Genetics and Molecular Biology* 35(1):126-133.

Santana-Pereira ALR, Sandoval-Powers M, Monsma S, Zhou J, Santos SR, Mead DA and Liles MR (2020) Discovery of Novel Biosynthetic Gene Cluster Diversity From a Soil Metagenomic Library. *Frontiers in Microbiology* 11:585398.

Santos, Débora Oliveira dos (2021). ANÁLISE DAS PERCEPÇÕES DOS ALUNOS DO 3º ANO DO ENSINO MÉDIO E PROFESSORES SOBRE OS IMPACTOS SOCIOAMBIENTAIS CAUSADOS PELO CONSUMO DE ENERGIA ELÉTRICA.

Santos-Júnior CD, Sarmento H, Miranda de Fernando Pellon, Henrique-Silva F and Logares R (2020) Uncovering the genomic potential of the Amazon River microbiome to degrade rainforest organic matter. *Microbiome* 8:151.

Sedlar K, Kupkova K and Provaznik I (2017) Bioinformatics strategies for taxonomy independent binning and visualization of sequences in shotgun metagenomics. *Computational and Structural Biotechnology Journal* 15:48-55.

Seel W, Derichs J and Lipski A (2016) Increase Biomass Production by Mesophilic Food-Associated Bacteria through Lowering the Growth Temperature from 30°C to 10°C. *Applied and Environmental Microbiology* 82(13):3754-3764.

Seo H, Park Y, Min BJ, Seo ME and Kim JH (2017) Evaluation of exome variants using the Ion Proton Platform to sequence error-prone regions. *Plos One* 12(7):e0181304.

Shao K, Yao X, Wu Z, Jiang X, Hu Y, Tang X, Xu Q and Gao G (2021) The bacterial community composition and its environmental drivers in the rivers around eutrophic Chaohu Lake, China. *BMC Microbiology* 21:179.

Sharma LK, Lu J and Bai Y (2009) Mitochondrial Respiratory Complex I: Structured, Function and Implication in Human Diseases. *Current Medicinal Chemistry* 16(10):1266-1277.

Sharpton TJ (2014) An introduction to the analysis of shotgun metagenomic data. *Frontiers in Plant Science* 5:1-14.

- Shen M, Li Q, Ren M, Lin Y, Wang J, Chen L, Li T and Zhao J (2019) Trophic Status Is Associated With Community Structure and Metabolic Potential of Planktonic Microbiota in Plateau Lakes. *Frontiers in Microbiology* 10:2560.
- Shiratori-Takano H, Takano H and Ueda K (2016) Whole Genome Sequence of *Filimonas lacunae*, a Bacterium of the Family Chitinophagaceae Characterized by Marked Colony Growth under a High-CO₂ Atmosphere. *Genome Announcements* 4(4):e00667-16.
- Siddaramappa S, Challacombe JF, Delano SF, Green LD, Daligault H, Bruce D, Detter C, Tapia R, Han S et al (2012) Complete genome sequence of *Dehalogenimonas lykanthroporepellens* type strain (BL-DC-9) and comparison to “Dehalococcoides” strains. *Standards in Genomic Sciences* 6:251-264.
- Silva ASO, da Gondim M, da C, Martins DG and Reis ARS (2017) Características da vegetação remanescente em torno do complexo da UHE de Tucuruí, Pará, Brasil. XVI encontro regional de agroecologia do Nordeste 1-5.
- Silva HAN (2018) Estimating the Concentration of Physico-Chemical Parameters in Hydroelectric Power Plant Reservoir.
- Simão FA, Waterhouse RM, Ioannidis P, Kriventseva EV and Zdobnov EM (2015) BUSCO: assessing genome assembly and annotation completeness with single-copy orthologs. *Bioinformatics* 31(19):3210-3212.
- Sokolovskaya OM, Shelton AN and Taga ME (2021) Sharing vitamins: Cobamides unveil microbial interactions. *Science* 369(6499):71-77.
- Sousa, Thaynah Bógea Borges (2022). A VIOLAÇÃO DE DIREITOS NOS PROCESSOS DE LICENCIAMENTO AMBIENTAL DE USINAS HIDRELÉTRICAS: um estudo de caso da UHE Tucuruí.
- Speirs LBM, Rice DTF, Petrovski S and Seviour RJ (2019) The phylogeny, Biodiversity, and Ecology of the Chloroflexi in Activated Sludge. *Frontiers in Microbiology* 10:2015.

- Spratt MR and Lane K (2022) Navigating Environmental Transitions: the Role of Phenotypic Variation in Bacterial Responses. *mBio* 13(6):e02212-22.
- Stautz J, Hellmich Y, Fuss MF, Silberberg JM, Devlin JR, Stockbridge RB and Hanelt I (2021) Molecular mechanisms for bacterial potassium homeostasis. *Journal of Molecular Biology* 433(16):1-40.
- Stewart PS and Franklin MJ (2008) Physiological heterogeneity in biofilms. *Nature Reviews Microbiology* 6:199-210.
- Storesund JE, Lanz en A, Nordmann E-L, Armo HR, Lage OM,  vre as L (2020) Planctomycetes as a Vital Constituent of the Microbial Communities Inhabiting Different Layers of the Meromictic Lake Saelenvannet (Norway). *Microorganisms* 8(8):1150.
- Tahon G, Tytgat B and Willems A (2016) Diversity of Phototrophic Genes Suggests Multiple Bacteria May Be Able to Exploit Sunlight in Exposed Soils from the Sør Rondane Mountains, East Antarctica. *Frontiers in Microbiology* 7:2026.
- Takahara H, Miura N, Aoki-Kinoshita KF and Okuda S (2021) Functional glyco-metagenomics elucidates the role of glycan-related genes in environments. *BMC Bioinformatics* 22: 505.
- Thomas F, Hehemann J-H, Rebuffet E, Czjzek M and Michel G (2011) Environmental and Gut Bacteroidetes: The Food Connection. *Frontiers in Microbiology* 2:3.
- Thompson LR, Sanders JG, McDonald D, Amir A, Ladau J, Locey KJ, Prill RJ, Tripathi A, Gibbons SM, Ackermann G et al. (2017) A communal catalogue reveals Earth's multiscale microbial diversity. *Nature* 551:457-463.
- Timpe K and Kaplan D (2017) The changing hydrology of dammed Amazon. *Sciences advances* 3(11):e1700611.
- Tolstoganov I, Kamenev Y, Kruglikov R, Ochkalova S and Korobeynikov A (2022) BinSpreader: Refine binning results for fuller MAG reconstruction. *iScience* 25(8):104770.

- Tomazini A, Lal JrS, Munir R, Stott M, Henrissat B, Polikarpov I, Sparling R and Levin DB (2018) Analysis of carbohydrate-active enzymes in *Thermogemmatispora* sp. strain T81 reveals carbohydrate degradation ability. *Canadian Science Publishing* 64(12):992-1003.
- Trindade M, Zyl LJv, Navarro-Fernández J and Elrazak AA (2015) Target metagenomics as a tool to tap into marine natural product diversity for the discovery and production of drug candidates. *Frontiers in Microbiology* 6:890.
- van Kessel MAHJ, Speth DR, Albertsen M, Nielsen PH, Op den Camp HJM, Kartal B, Jetten MSM and Lücke S (2015) Complete nitrification by a single microorganism. *Nature* 528(7583):555-559.
- Vaz-Moreira I, Nunes OC and Manaia CM (2017) Ubiquitous and persistent Proteobacteria and other Gram-negative bacteria in drinking water. *Science of The Total Environment* 586:1141-1149.
- Vosloo S, Huo L, Anderson CL, Dai Z, Sevillano M and Pinto A (2021) Evaluating de Novo Assembly and Binning Strategies for Time Series Drinking Water Metagenomes. *Microbiology Spectrum* 9(3):e01434-21.
- Wagg C, Hautier Y, Pellkofer S, Banerjee S, Schmid B and Heijden MGA (2021) Diversity and asynchrony in soil microbial communities stabilizes ecosystem functioning. *eLife* 10:e62813.
- Wang L, Li Y, Niu L, Zhang W, Zhang H, Wang L and Wang P (2018) Response of ammonia oxidizing archaea and bacteria to decabromodiphenyl ether and copper contamination in river sediments. *Chemosphere* 191(2018):858-867.
- Waterhouse RM, Seppey M, Simão FA, Manni M, Ioannidis P, Klioutchnikov G, Kriventseva EV and Zdobnov EM (2018) BUSCO Applications from Quality Assessments to Gene Prediction and Phylogenomics. *Molecular Biology and Evolution* 35(3):543-548.
- Weinstock GM (2012) Genomic approaches to studying the human microbiota. *Nature* 489(7415):250-256.

- Werner D (2012) Desenvolvimento Regional e Grandes Projetos Hidrelétricas (1990-2010): o caso do Complexo Madeira. *Inclusão Social* 6(1):157-174.
- Willems A (2014). The Family Comamonadaceae. In: Rosenberg E, Lory EFDS and Thompson (eds). *The Prokaryotes*. 4th edition. pp 777-851.
- Willems A and Gills M (2015) Comamonadaceae. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* 1-6.
- Wilson A and Ruiz N (2021) Transport of lipopolysaccharides and phospholipids to the outer membrane. *Current Opinion in Microbiology* 60:51-57.
- Wood DE and Salzberg (2014) Kraken: ultrafast metagenomic sequence classification using exact alignments. *Genome Biology* 15:R46.
- Wood DE and Salzberg SL (2014) Kraken: ultrafast metagenomic sequence classification using exact alignments. *Genome Biology* 15(3):R46.
- Yamamoto M and Takai K (2011) Sulfur Metabolisms in Epsilon- and Gamma-proteobacteria in Deep-Sea Hydrothermal Fields. *Frontiers in Microbiology* 2:192.
- Yang Y, Song W, Lin H, Wang W, Du L and Xing W (2018) Antibiotics and antibiotic resistance genes in global lakes: A review and meta-analysis. *Environmental International* 116(2018):60-73.
- Yoshino, Gabriel Hiromite (2017). Estudo da vulnerabilidade hídrica das populações que moram na região do lago da usina hidrelétrica de Tucuruí no Estado do Pará.
- Yuan Y, Xu H and Leung RK-K (2016) An optimized for generation and analysis of Ion Proton sequencing reads for RNA-Seq. *BMC Genomics* 17:403.
- Yue Y, Huang H, Qi Z, Dou H-M, Liu X-Y, Han T-F, Chen Y, Song X-J, Zhang Y-H and Tu J (2020) Evaluating metagenomics tools for genome binning with the real metagenomic datasets and CAMI datasets. *BMC Bioinformatics* 21:1-15.

- Zhang L, Chen FX, Zheng Z, Xu M, Sun F, Yang L, Bi X, Lin Y, Gao YJ, Hao HX, et al. (2021) Advances in Metagenomic and Its Application in Environmental Microorganisms. *Frontiers in Microbiology* 12:766364.
- Zhang X, Liang B, Xu X, Zhou F, Kong L, Shen J, Xia Y, Xuan L, Mao Y, Xue Y et al. (2017) The comparison of the performance of four whole genome amplification kits on ion proton platform in copy number variation detection. *Bioscience Reports* 37(4):BSR20170252.
- Zhao Y, Caspers MPM, Metselaar KI, Boer DP, Roeselers G, Moezelaar R, Groot MN, Montijn RC, Abee T and Kort R (2013) Abiotic and Microbiotic Factors Controlling Biofilm Formation by Thermophilic Sporeformers. *Applied and Environmental Microbiology* 79(18):5652-5660.
- Zheng Q, Hu Y, Zhang S, Noll L, Böckle T, Dietrich M, Herbold CW, Eichorst SA, Woebken D, Richter A et al. (2019) Soil multifunctionality is affected by the soil environment and by microbial community composition and diversity. *Soil Biology and Biochemistry* 136:107221.
- Zhou Y-L, Mara P, Cui G-J, Edgcomb VP and Wang Y (2022) Microbiomes in the Challenger Deep slope and bottom-axis sediments. *Nature Communication* 13:1-13.
- Zhou Z, Tran PQ, Breister AM, Liu Y, Kieft K, Cowley ES, Karaoz U and Anantharaman K (2022) METABOLIC: high-throughput profiling of microbial genomes for functional traits, metabolism, biogeochemistry , and community-scale functional networks. *Microbiome* 10:33.
- Zhou Z, Tran PQ, Kieft K and Anantharaman K (2020) Genome diversification in globally distributed novel marine Proteobacteria is linked to environmental adaptation. *The ISME Journal* 14(8):2060-2077.
- Zhou Z, Tran PQ, Kieft K and Anantharaman K (2020) Genome diversification in globally distributed novel marine Proteobacteria is linked to environmental adaptation. *The ISME Journal* 14:2060-2077.

Zuo C, Blow M, Sreedasyam A, Kuo RC, Ramamoorthy GK, Torres-Jerez I, Li G, Wang M, Dilworth D, Barry K et al (2018) Revealing the transcriptomic complexity of switchgrass by PacBio long-read sequencing. *Biotechnology for Biofuels* 11:170.

SEÇÃO DE RECURSOS DA INTERNET

GitHub (2023). github.com/tseemann/barrnap. (April 14, 2023).

GitHub (2023). <https://github.com/s-andrews/FastQC/releases>. (July 12, 2023).

Google Maps (2023). google.com/maps (February 3, 2023).

Kbase (2023). <https://www.kbase.us>. (July 10, 2023).

KEGG (2023) Oxidative Phosphorylation - Reference Pathway.
genome.jp/pathway/map00190.

KEGG (2023) Photosynthesis - Cyanobacterium stanieri.
genome.jp/kegg-bin/show_pathway?csn00195.

Neoprosperta microbiome technologies (2022) PAIRED-END X SINGLE-END: UMA
DISPUTA POR QUALIDADE.
blog.neoprosperta.com/paired-end-x-single-end-uma-disputa-por-qualidade/. (July 8,
2023).

ThermoFisher Scientific (2023). thermofisher.com/order/catalog/product/4471252. (July 8,
2023).

Tripadvisor (2023) Usina Hidrelétrica de Tucuruí.
https://www.tripadvisor.com.br/Attraction_Review-g2343244-d7212733-Reviews-Usina_Hidreletrica_de_Tucurui-Tucurui_State_of_Para.html (February 3, 2023).

APÊNDICES

APÊNDICE A - Características das estações do lago da UHE de Tucuruí e suas profundidades máximas

Quadro 1 - Características das estações do lago da UHE de Tucuruí e suas profundidades máximas.

Estação	Nome	Características	Profundidade máxima
C1	Caraipé 1	Ilha	28 m
C2	Caraipé 2	Ilha	22 m
M1	Montante 1	Próximo a barragem	70 m
M3	Montante 3	Lago - Canal Central	52 m
MR	Montante Novo Repartimento	Lago - Margem esquerda do reservatório	20 m
MBB	Montante Breu Branco	Ao lado da represa	32 m
ML	Montante Lontra	Lago - Canal central	22 m
MBL	Montante Belauto	Lago - Margem direita do reservatório	26 m
MP	Montante Pucuruí	Lago - Margem esquerda do reservatório	20 m
MJV	Montante Jacundá Velho	Lago	22 m
MIP	Montante Ipixuna	Distante da barragem	42 m

Fonte: Adaptado de Silva, 2018.

APÊNDICE B - Completude de sequenciamento em percentual dos 80 MAGs

Tabela 4 - Dados de sequenciamento com percentual em completude dos 80 MAGs da UHE de Tucuruí.

MAGs	Completude (%)
MAG 1	22.6
MAG 2	22.6
MAG 3	19.4
MAG 4	22.6
MAG 5	26.3
MAG 6	12.9
MAG 7	25.0
MAG 8	18.5
MAG 9	57.3
MAG 10	34.5
MAG 11	14.5
MAG 12	7.3
MAG 13	3.8
MAG 14	5.6
MAG 15	16.9
MAG 16	18.5
MAG 17	12.1
MAG 18	13.7
MAG 19	22.6
MAG 20	12.9
MAG 21	29.8
MAG 22	37.0
MAG 23	14.5
MAG 24	9.7
MAG 25	22.6

MAG 26	4.0
MAG 27	16.1
MAG 28	35.5
MAG 29	1.5
MAG 30	2.4
MAG 31	21.0
MAG 32	41.9
MAG 33	34.7
MAG 34	18.5
MAG 35	11.3
MAG 36	10.5
MAG 37	9.7
MAG 38	3.2
MAG 39	4.8
MAG 40	30.6
MAG 41	34.7
MAG 42	24.2
MAG 43	10.5
MAG 44	41.9
MAG 45	15.3
MAG 46	0.0
MAG 47	8.9
MAG 48	2.1
MAG 49	62.9
MAG 50	1.6
MAG 51	19.3
MAG 52	17.7
MAG 53	12.1
MAG 54	2.4
MAG 55	1.6
MAG 56	1.6

MAG 57	45.9
MAG 58	4.8
MAG 59	25.0
MAG 60	32.3
MAG 61	26.6
MAG 62	42.7
MAG 63	63.7
MAG 64	73.3
MAG 65	16.1
MAG 66	8.9
MAG 67	27.4
MAG 68	4.0
MAG 69	17.7
MAG 70	14.5
MAG 71	33.1
MAG 72	60.5
MAG 73	66.9
MAG 74	22.6
MAG 75	17.7
MAG 76	0.8
MAG 77	15.3
MAG 78	42.7
MAG 79	47.7
MAG 80	25.0

ANEXOS

ANEXO A - Localização da UHE de Tucuruí e suas estações

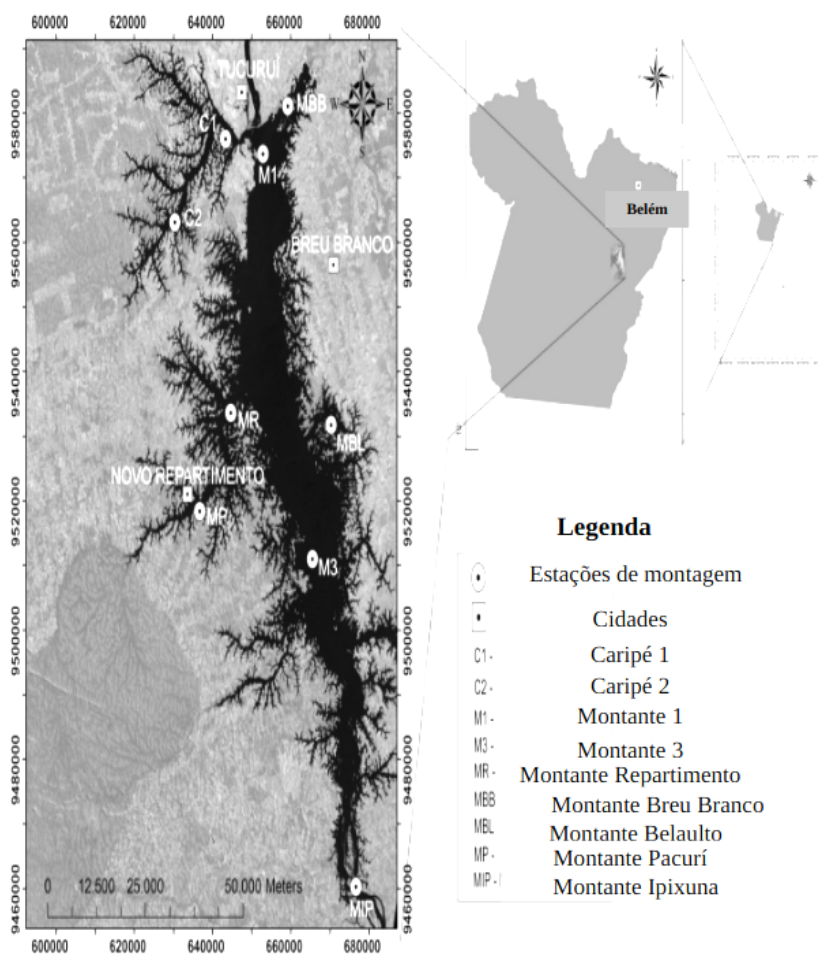


Figura 13 - Localização da UHE de Tucuruí e suas estações. Fonte (Adaptado de Neto *et al.*, 2014).

ANEXO B - Mapa do lago de Tucuruí com o ponto de coleta das amostras

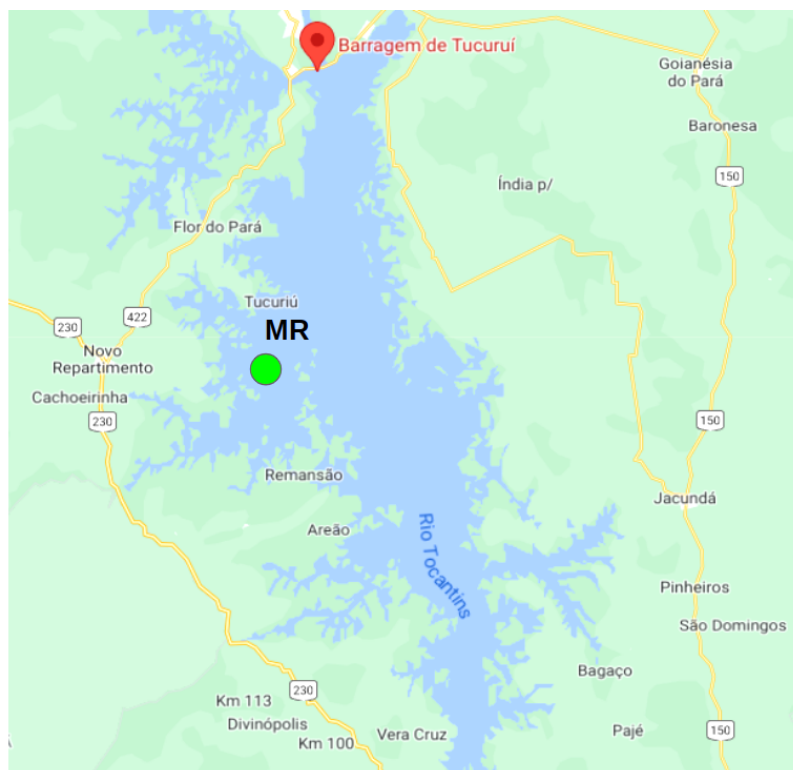


Figura 14 - Mapa do lago da Barragem de Tucuruí com o ponto de coleta das amostras destacado em círculo verde claro. MR (novo repartimento). Fonte (adaptado do Google Maps, 2023).

ANEXO C - Maquinaria de fosforilação oxidativa

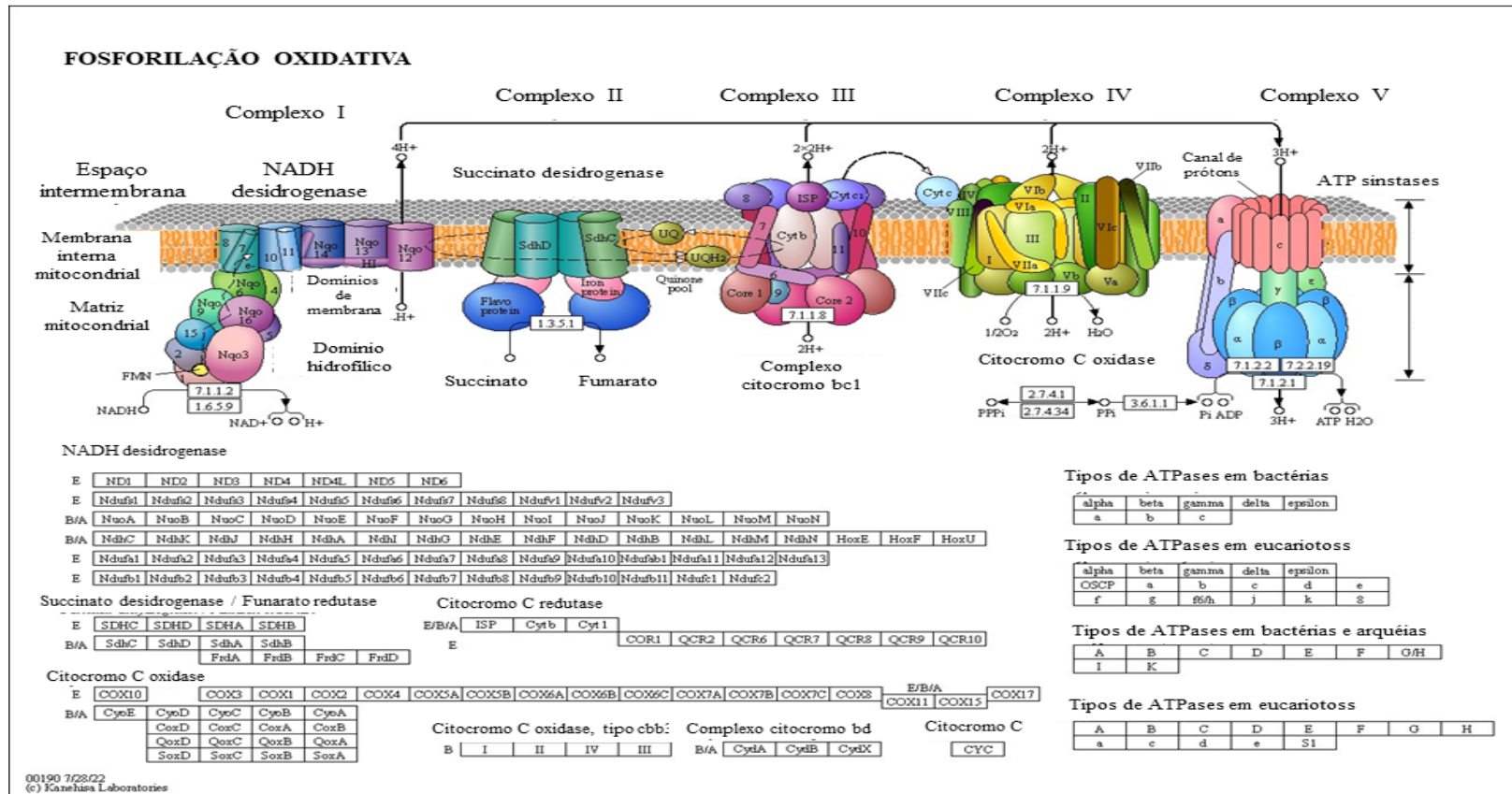


Figura 26 - Maquinaria de fosforilação oxidativa. O complexo NADH: ubiquinona oxidorreductase (complexo I), succinato desidrogenase (complexo II), ubiquinol-citocromo c oxidorreductase (complexo III ou complexo citocromo bc 1), citocromo c oxidase (complexo IV) e ATP sintase (complexo V). O complexo I é a primeira enzima da cadeia respiratória, ele oxida NADH, que é gerado do ciclo de Krebs na matriz mitocondrial, e usa dois elétrons para reduzir a ubiquinona a ubiquinol, o ubiquinol é reoxidado pelo complexo citocromo bc1 e transfere elétrons para reduzir o oxigênio a água no complexo IV. A energia liberada é usada para transferir prótons que geram força prótonica através da membrana mitocondrial nos complexos I, III e IV. O complexo IV usa essa força para produzir ATP. O complexo I é o principal ponto na cadeia respiratória desempenhando papel central no metabolismo energético (Sharma *et al.*, 2009). Fonte: (Adaptado do KEGG Oxidative Phosphorylation - Reference Pathway).

