



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UnB
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - IB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA MICROBIANA - PGBM

**CARACTERIZAÇÃO SAZONAL DE COMUNIDADES DE BACTERIA E ARCHAEA
EM SEDIMENTOS DE LAGOAS NATURAIS RASAS NO CERRADO**

ALUNA: RAFAELLA SILVEIRA SOUSA

ORIENTADOR: PROF^a. Dr.^a MERCEDES MARIA DA CUNHA BUSTAMANTE

BRASÍLIA - DF

2016

RAFAELLA SILVEIRA SOUSA

**CARACTERIZAÇÃO SAZONAL DE COMUNIDADES DE BACTERIA E
ARCHAEA EM SEDIMENTOS DE LAGOAS NATURAIS RASAS NO CERRADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Microbiana da Universidade de Brasília como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dr.^a Mercedes Maria da Cunha Bustamante

Brasília - DF

2016

**CARACTERIZAÇÃO SAZONAL DE COMUNIDADES DE BACTERIA E
ARCHAEA EM SEDIMENTOS DE LAGOAS NATURAIS RASAS NO CERRADO**

Rafaella Silveira Sousa

Dissertação aprovada em 21 de março de 2016.

Banca Examinadora

Prof.^a Dr.^a. Mercedes Maria da Cunha Bustamante
Universidade de Brasília, Brasília-DF
Presidente - Orientadora

Prof. Dr. Helson Mario Martins do Vale
Universidade de Brasília, Brasília-DF
Membro titular

Prof.^a Dr.^a. Luciana de Mendonça Galvão
Universidade Católica de Brasília, Brasília-DF
Membro externo

À minha amada mãe Marly,
e também à família
Campos: Jussara, Dona
Ana, Sr. José Campos e
Moema.

AGRADECIMENTOS

A Deus em primeiro lugar, pela imensa graça de estar aqui e à Nossa Senhora pela proteção diária em cada passo desta caminhada.

Gratidão à minha orientadora Mercedes Bustamante, pela oportunidade de realizar este trabalho, pela orientação, paciência e dedicação ao longo destes dois últimos anos. É uma grande honra tê-la como orientadora.

À minha mãe, Marly, mais uma vez, pelo apoio, incentivo e pelas orações que sempre me conduziram. Agradeço também às pessoas que se tornaram minha segunda referência de família: Jussara, Dona Ana, Sr. Campos e Moema... Obrigada pela acolhida, pelo carinho e incentivo; sem vocês eu não teria chegado onde estou agora.

À Regina Sartori Silva, obrigada pelo apoio, pela presença, pela contribuição neste trabalho e acima de tudo pela forte amizade... O que seria de mim sem você? (risos).

Ao professor Ricardo Kruger, pela enorme contribuição neste trabalho.

Aos amigos que encontrei aqui, Catharine, Mayara, Renata Santana... Obrigada por compartilharem parte do tempo de vocês me ajudando em diversos aspectos da realização deste estudo. Elisa Alvim, muito obrigada por tudo... nem sei como agradecer. Obrigada também à Letícia Gomes e Luisa Carvalheiro pela ajuda nas análises estatísticas e a Viviane Miranda, pelos muitos brigadeiros que adoçaram os dias de cansaço.

Ao grupo do laboratório de Ecossistemas e ao grupo da Enzimologia, obrigada por me receberem.

Às minhas grandes amigas de estradas anteriores, Rafaela Durão e Aynoã, pela torcida e apoio. Luana Torres, pela amizade e ajuda nas muitas etapas desafiadoras durante este processo.

À FAPDF pelo auxílio financeiro para o desenvolvimento deste projeto e à CAPES pela bolsa de estudo.

À Luciana Medeiros, responsável administrativa pelo meu curso. Obrigada pelo excelente atendimento mesmo nas questões mais burocráticas.

Aos membros da banca examinadora pela presença e contribuição, muitíssimo obrigada!

E por último, porém não menos importantes, muito obrigada a todos os meus amigos e familiares que de alguma forma estiveram presentes neste momento da minha vida.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Localização das áreas de estudo. Lagoa Bonita, ESECAE (Planaltina-DF) e Lagoa Cabocla, no CIF (Formosa-GO).25
- Figura 2. Distribuição da precipitação mensal (mm) durante o período de janeiro de 2014 a dezembro de 2015. Dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET < <http://www.inmet.gov.br/portal/>>). As setas azuis e vermelhas representam os meses de coleta nas lagoas Bonita e Cabocla, respectivamente.26
- Figura 3. (A) Lagoa Bonita, localizada na Estação Ecológica de Águas Emendadas (ESECAE), em Planaltina-DF. (B) Lagoa Cabocla localizada no Campo de Instrução de Formosa (CIF), na cidade de Formosa-GO. As imagens de satélite foram obtidas através do Google Earth.....28
- Figura 4. Exemplo de sorteio dos pontos de coleta na Lagoa Cabocla (CIF, Formosa-GO), com georreferenciamento em malhas de no mínimo 20m de distância, segundo Alvim (2014, em preparação).30
- Figura 5. Localização dos pontos sorteados para coleta de água e sedimento das Lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO), nos três primeiros períodos amostrados. Na estação chuvosa as coordenadas não foram marcadas. Os pontos envolvidos pelo retângulo em vermelho representam as amostras que foram submetidas ao pirosequenciamento (ver item 5.4.3).....31
- Figura 7. Diferenças entre os valores de condutividade elétrica da água nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO) mensurados entre os meses de maio de 2014 a março de 2015. As diferentes letras indicam as diferenças significativas pelo teste de Friedman ($F = 7,82$; $p = 0,000$) com intervalo de confiança a 95%.40
- Figura 6. Diferenças entre os valores de pH da água nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO) mensurados entre os meses de maio de 2014 a março de 2015. As diferentes letras indicam as diferenças pelo teste Anova fatorial ($F = 46,49$; $p = 0,000$) com intervalo de confiança a 95%.40
- Figura 8. Análise de componentes principais (PCA) representando a distribuição das variáveis físico-químicas da água das lagoas Bonita (azul) e Cabocla (vermelho), nos períodos de transição chuva-seca (CS - triângulo invertido), seca (S - círculo aberto), transição seca-chuva (SC - triângulo preenchido) e chuva (C - círculo preenchido).....42
- Figura 9. Concentrações (mg/kg) de nutrientes no sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita, localizada em Planaltina-DF e Cabocla, localizada na cidade de Formosa-GO. As concentrações foram mensuradas entre maio de 2014 e março de 2015 compreendendo os períodos de transição chuva-seca (CS), seca (S) e chuva (C) em cada lagoa. (A) Fósforo remanescente e fósforo disponível; (B) potássio e magnésio; (C) cálcio e alumínio. A Lagoa Bonita é representada pela letra inicial B nas colunas em preto e a Lagoa Cabocla é representada pela letra inicial C nas colunas sem preenchimento.45

Figura 10. Percentual médio (n=5) das concentrações totais de carbono (A) e nitrogênio (B) e razão C:N (C) no sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita, localizada em Planaltina-DF e Cabocla, localizada na cidade de Formosa-GO. As concentrações foram mensuradas entre maio de 2014 e março de 2015, compreendendo os períodos de transição chuva-seca (CS), seca (S), transição seca-chuva (SC) e chuva (C) em cada lagoa. A Lagoa Bonita é representada pela letra inicial B nas colunas em preto e a Lagoa Cabocla é representada pela letra inicial C nas colunas sem preenchimento..... 47

Figura 11. Diferenças nas concentrações totais (%) (n=5) de carbono (A) e nitrogênio (B) e razão C:N (C) na fração 0-5 cm do sedimento entre as lagoas Bonita, localizada em Planaltina-DF e Cabocla, localizada na cidade de Formosa-GO. Para CT ($F = 0,7114$; $p = 0,552399$) e NT ($F = 5,8368$; $p = 0,021577$) as diferenças foram avaliadas pelo teste Anova Fatorial. Para a razão C:N as diferenças foram dadas pelo teste não paramétrico de Friedman ($F = 7,82$; $p = 0,0000$). As diferentes letras indicam as diferenças. 48

Figura 12. Dendograma dos perfis eletroforéticos de DGGE com base no gene 16S rRNA das comunidades microbianas presentes no sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO). As letras iniciais B e C representam as lagoas Bonita e Cabocla, respectivamente. [A] transição chuva-seca (CS); [B] estação seca (S). Os números entre lagoa e estação indicam o ponto de coleta. Os códigos em negrito indicam os pontos cujas amostras foram submetidas ao pirosequenciamento..... 50

Figura 13. Dendograma dos perfis eletroforéticos de DGGE com base no gene 16S rRNA das comunidades microbianas presentes no sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO). As letras iniciais B e C representam as lagoas Bonita e Cabocla, respectivamente. [A] transição seca-chuva (SC); [B] estação chuvosa (C). Os números entre lagoa e estação indicam o ponto de coleta. Os códigos em negrito indicam os pontos cujas amostras foram submetidas ao pirosequenciamento..... 51

Figura 14. Percentual de classificação das sequências do gene 16S rRNA nos domínios Bacteria e Archaea, após aplicação dos filtros de qualidade por meio do *pipeline* QIIME e atribuição taxonômica por meio do banco de dados SILVA. 52

Figura 15. Percentual relativo ao número de táxons observados para os domínios Bacteria e Archaea após classificação taxonômica baseada no nível taxonômico de gênero em amostras de sedimentos (0-5 cm) coletadas entre maio de 2014 a março de 2015 nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO). 53

Figura 16. Representação dos filamentos menos abundantes no sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO) nos períodos de transição chuva-seca (CS), seca (S), transição seca-chuva (SC) e chuva (C) (maio de 2014 a março de 2015). As letras iniciais B e C representam as lagoas Bonita e Cabocla, respectivamente..... 56

Figura 17. Diferenças ($p < 0,05$) na proporção relativa de sequências dos filamentos bacterianos Chloroflexi (A) e OP8 (B) em cada amostra de sedimento (0-5 cm) coletadas entre maio de 2014 e março de 2015 nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO) utilizando o teste não paramétrico White's t-teste com correção de Bonferroni no programa STAMP. O valor médio para cada grupo é demonstrado em forma de linha. 58

Figura 18. Diferenças ($p < 0,05$) na proporção relativa de sequências dos filios bacterianos WD272 (A) e do grupo não classificado Bacteria;NC (B) em cada amostra de sedimento (0-5 cm) coletadas entre maio de 2014 e março de 2015 nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO) utilizando o teste não paramétrico White's t-teste com correção de Bonferroni no programa STAMP. O valor médio para cada grupo é demonstrado em forma de linha..... 59

Figura 19. Diferenças ($p < 0,05$) na proporção relativa de sequências dos filios bacterianos BD1-5 (A) e Gemmatimonadetes (B) em cada amostra de sedimento (0-5 cm) coletadas entre maio de 2014 e março de 2015 nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO) utilizando o teste não paramétrico White's t-teste com correção de Bonferroni no programa STAMP. O valor médio para cada grupo é demonstrado em forma de linha..... 60

Figura 20. Importância relativa das variáveis ambientais da água (temperatura, pH, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido) e do sedimento (carbono e nitrogênio totais e razão C:N) sobre a abundância dos filios bacterianos mais representativos identificados no sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO), entre os meses de maio de 2014 e março de 2015. A importância das variáveis foi dada por meio da seleção de modelos realizada através do teste GLM. Os efeitos positivo e negativo das variáveis sobre os grupos de organismos são indicados acima das colunas pelos sinais "+" e "-", respectivamente. OD – oxigênio dissolvido na água, CT – carbono total no sedimento, NT – nitrogênio total no sedimento, CN – razão C:N no sedimento. 63

Figura 21. Importância relativa das variáveis ambientais da água (temperatura, pH, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido) e do sedimento (carbono e nitrogênio totais e razão C:N) sobre a abundância dos filios bacterianos com frequência acima de 1% em pelo menos estação, identificados no sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO), entre os meses de maio de 2014 e março de 2015. A importância das variáveis foi dada por meio da seleção de modelos realizada através do teste GLM. Os efeitos positivo e negativo das variáveis sobre os grupos de organismos são indicados acima das colunas pelos sinais "+" e "-", respectivamente. OD – oxigênio dissolvido na água, CT – carbono total no sedimento, NT – nitrogênio total no sedimento, CN – razão C:N no sedimento. 63

Figura 22. Importância relativa das variáveis ambientais da água (temperatura, pH, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido) e do sedimento (carbono e nitrogênio totais e razão C:N) sobre a abundância dos filios bacterianos com frequência acima de 1% em pelo menos estação, identificados no sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO), entre os meses de maio de 2014 e março de 2015. A importância das variáveis foi dada por meio da seleção de modelos realizada através do teste GLM. Os efeitos positivo e negativo das variáveis sobre os grupos de organismos são indicados acima das colunas pelos sinais "+" e "-", respectivamente. OD – oxigênio dissolvido na água, CT – carbono total no sedimento, NT – nitrogênio total no sedimento, CN – razão C:N no sedimento. 64

Figura 23. Importância relativa das variáveis ambientais da água (temperatura, pH, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido) e do sedimento (carbono e nitrogênio totais e razão C:N) sobre dois filios bacterianos menos abundantes identificados no sedimento (0-5

cm) das lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO), entre os meses de maio de 2014 e março de 2015. A importância das variáveis foi dada por meio da seleção de modelos realizada através do teste GLM. Os efeitos positivo e negativo das variáveis sobre os grupos de organismos são indicados acima das colunas pelos sinal “+” e “-”, respectivamente. OD – oxigênio dissolvido na água, CT – carbono total no sedimento, NT – nitrogênio total no sedimento, CN – razão C:N no sedimento. 65

Figura 24. Representação dos filos menos abundantes (frequência < 1%) pertencentes ao domínio Archaea no sedimento (0-5 cm) coletado entre maio de 2014 e março de 2015, compreendendo os períodos de transição chuva-seca (CS), seca (S), transição seca-chuva (SC) e chuva (C), nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO). As letras iniciais B e C representam as lagoas Bonita e Cabocla, respectivamente, seguida das iniciais que representam as estações. 67

Figura 25. *Heatmap* construído no programa STAMP com a abundância dos filos pertencentes à Archaea classificados a partir na análise do gene 16S rRNA em cada amostra de sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita (letra inicial B) (Planaltina-DF) e Cabocla (letra inicial C) (Formosa-GO), nos períodos de transição chuva-seca (CS), seca (S), transição seca-chuva (SC) e chuva (C)..... 68

Figura 26. Diferenças ($p < 0,05$) na proporção relativa de sequências dos filos Euryarchaeota (A) e Thaumarchaeota (B) em cada amostra de sedimento (0-5 cm) coletado entre maio de 2014 e março de 2015, compreendendo os períodos de transição chuva-seca (CS), seca (S), transição seca-chuva (SC) e chuva (C), nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO) utilizando o teste não paramétrico White's t-teste com correção de Bonferroni no programa STAMP. O valor médio para cada grupo é demonstrado em forma de linha. Amostras da Lagoa Bonita são demonstradas em azul e da Lagoa Cabocla em rosa. 69

Figura 27. Importância relativa das variáveis ambientais da água (temperatura, pH, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido) e do sedimento (carbono e nitrogênio totais e razão C:N) sobre a abundância dos filos pertencentes ao domínio Archaea mais representativos identificados no sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO), entre os meses de maio de 2014 e março de 2015. A importância das variáveis foi dada por meio da seleção de modelos realizada através do teste GLM. Os efeitos positivo e negativo das variáveis sobre os grupos de organismos são indicados acima das colunas pelos sinal “+” e “-”, respectivamente. OD – oxigênio dissolvido na água, CT – carbono total no sedimento, NT – nitrogênio total no sedimento, CN – razão C:N no sedimento. 70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características das Lagoas Bonita (ESECAE, Planaltina-DF) e Cabocla (CIF, Formosa-GO).....	29
Tabela 2. Sequência dos adaptadores (A e B) e <i>barcodes</i> (M1 - M13) ligados aos iniciadores forward (787F) e reverse (1492R) adotados para construção da biblioteca de <i>amplicons</i> sequenciados na plataforma 454.	35
Tabela 3. Caracterização das propriedades físico-químicas da água nas Lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO), nos períodos de transição chuva-seca (CS), seca (S), transição seca-chuva (SC) e chuva (C) (maio/2014 - março/2015). Valores médios e seus respectivos desvios são demonstrados para temperatura da água, pH, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido. Diferenças são indicadas para a comparação entre as estações pelas diferentes letras.	41
Tabela 4. Coeficientes de explicação da variância dos dois primeiros eixos de ordenação da análise de componentes principais (n=5) para as variáveis abióticas medidas para a água nas lagoas Bonita e Cabocla nos quatro diferentes períodos.....	42
Tabela 5. Análise granulométrica de amostras de sedimento (0-5 cm) nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO) coletadas no mês de maio de 2014 (transição chuva-seca).....	43
Tabela 6. Características químicas das lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO) nos períodos de transição chuva-seca, seca e chuva (maio de 2014 a março de 2015). São demonstrados pH, matéria orgânica (MO), soma de bases trocáveis (SB), índice de saturação por bases (V), capacidade de troca catiônica efetiva (t), potencial de acidez (H + Al) e índice de saturação por alumínio (m). Em negrito estão indicados os valores máximos e mínimos dos diferentes parâmetros.	44
Tabela 7. Abundância relativa dos filos com frequência $\geq 1\%$ no sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO), nos períodos de transição chuva-seca, seca, transição seca-chuva e chuva (maio de 2014 a março de 2015), acessados através de pirosequenciamento do gene 16S rRNA.....	54
Tabela 8. Filos bacterianos considerados abundantes (frequência $\geq 1\%$) em pelo menos um dos quatro períodos (transição chuva-seca, seca, transição seca-chuva e chuva) avaliados entre maio de 2014 a março 2015 para o sedimento (0-5 cm) nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO). Bacteria;NC – grupo não classificado.....	54
Tabela 9. Filos bacterianos únicos recuperados em baixa abundância (frequência $< 1\%$) a partir de amostras de sedimento (0-5 cm) coletadas entre maio de 2014 e março de 2015, compreendendo os períodos de transição chuva-seca, seca, transição seca-chuva e chuva nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO). O sinal “+” indica a presença dos respectivos filos.....	57

Tabela 10. Abundância relativa dos filos pertencentes a Archaea com frequência $\geq 1\%$ no sedimento (0-5 cm) coletado entre maio de 2014 e março de 2015, compreendendo os períodos de transição chuva-seca, seca, transição seca-chuva e chuva, nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO), acessados através de pirosequenciamento do gene 16S rRNA.....67

Tabela 11. Sumário das medidas de diversidade relacionadas aos gêneros do domínio Bacteria com base em dados de sequências do gene 16S rRNA nas amostras de sedimento (0-5 cm) coletadas entre maio de 2014 e março de 2015 nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO).....72

Tabela 12. Sumário das medidas de diversidade relacionadas aos gêneros do domínio Bacteria com base em dados de sequências do gene 16S rRNA nas amostras de sedimento (0-5 cm) coletadas entre maio de 2014 e março de 2015 nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO).....72

Tabela 13. Sumário das medidas de diversidade relacionadas aos gêneros do domínio Archaea com base em dados de sequências do gene 16S rRNA nas amostras de sedimento (0-5 cm) coletadas entre maio de 2014 e março de 2015 nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO).....73

Tabela 14. Sumário das medidas de diversidade relacionadas aos gêneros do domínio Archaea com base em dados de sequências do gene 16S rRNA nas amostras de sedimento (0-5 cm) coletadas entre maio de 2014 e março de 2015 nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO).....73

SUMÁRIO

RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	14
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 JUSTIFICATIVA.....	22
3 OBJETIVOS.....	23
3.1 Objetivo geral	23
3.2 Objetivos específicos.....	23
4 HIPÓTESES.....	24
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
5.1 Área de estudo.....	25
5.2 Coletas de água e sedimento.....	29
5.3 Análise de nutrientes no sedimento.....	31
5.4 Análise das comunidades de Bacteria e Archaea.....	32
5.4.1 Extração de DNA total.....	32
5.4.2 Eletroforese em gel de gradiente desnaturante – PCR/DGGE.....	33
5.4.3 Pirosequenciamento.....	34
5.4.4 Análise das sequências.....	35
5.5 Análises de diversidade.....	36
5.6 Análises estatísticas.....	37
6 RESULTADOS.....	39
6.1 Avaliação das variáveis físicas e químicas da água.....	39
6.2 Avaliação dos parâmetros físico-químicos do sedimento.....	42

6.3 Análise do perfil das comunidades microbianas por meio de DGGE.....	49
6.4 Descrição das comunidades microbianas.....	52
6.5 Composição da comunidade Bacteriana.....	53
6.5.1 Filos.....	53
6.5.2 Interações entre a composição bacteriana em nível de filo e variáveis ambientais.....	61
6.5.3 Classes e gêneros.....	65
6.6 Composição da comunidade Archaea.....	66
6.6.1 Interações entre a composição de Archaea em nível de filo e variáveis ambientais.....	70
6.6.2 Classes e gêneros.....	71
6.7 Análises de diversidade.....	71
6.7.1 Diversidade dos gêneros relacionados ao domínio Bacteria.....	71
6.7.2 Diversidade dos gêneros relacionados ao domínio Archaea.....	72
7 DISCUSSÃO.....	74
7.1 Biodiversidade de Bacteria e Archaea no sedimento.....	82
8 CONCLUSÕES.....	86
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87
ANEXOS.....	93

Silveira, Rafaella Sousa. **Caracterização sazonal de comunidades de Bacteria e Archaea em sedimentos de lagoas naturais rasas no Cerrado**. Mestrado acadêmico em Biologia Microbiana do Programa de Pós-Graduação em Biologia Microbiana, defendido dia 21 de março de 2016, sob orientação da Prof^a. Dr^a. Mercedes Maria da Cunha Bustamante.

RESUMO

Lagoas naturais rasas e oligotróficas do Cerrado abrigam elevada biodiversidade. No entanto, ainda não existem estudos sobre as comunidades microbianas presentes no sedimento desses ambientes aquáticos. O objetivo deste estudo foi caracterizar a diversidade dos domínios Bacteria e Archaea presentes no sedimento de duas lagoas naturais do Cerrado (Lagoa Bonita na Estação de Águas Emendadas - Planaltina/DF e Lagoa Cabocla no Campo de Instrução de Formosa - Formosa/GO). Água e sedimento (0-5 cm) foram coletados em diferentes estações (transição chuva-seca, seca, transição seca-chuva e chuva) entre maio de 2014 e março de 2015. As características físicas e químicas das amostras de água e sedimento foram avaliadas. O perfil das comunidades bacterianas foi analisado usando PCR/DGGE e a riqueza e diversidade de grupos do domínio Bacteria e Archaea por meio de pirosequenciamento do gene 16S rRNA. A água nas duas lagoas apresentou pH levemente ácido, baixa condutividade elétrica, concentrações de oxigênio dissolvido menores que 7,19 mg/L e temperatura entre 21 e 28°C. O sedimento apresentou pH ácido, altos teores de matéria orgânica, baixa saturação por bases e elevada acidez potencial. As análises da estrutura da comunidade bacteriana avaliada (Dice/UPGMA) a partir dos perfis de géis DGGE indicaram alta similaridade entre as comunidades das duas lagoas com maior diferenciação em relação às estações. A partir da análise de sequências do gene 16S rRNA, foram identificados o total de 45 filós bacterianos e um grupo de bactérias não classificadas na hierarquia taxonômica inferior. Seis filós (Proteobacteria, Acidobacteria, Chloroflexi, Firmicutes, Planctomycetes e Nitrospirae) foram considerados abundantes, com frequência $\geq 1\%$ em todas as estações, nas duas lagoas. Foram encontrados outros nove filós abundantes (Actinobacteria, Bacteroidetes, OP8, Chlamydiae, Chlorobi, Spirochaetae, TM6, Verrucomicrobia e WD272) e o grupo não classificado (unclassified Bacteria) em pelo menos uma estação nas duas lagoas. Foi observada ainda a presença de quatro filós bacterianos únicos (Caldiserica, KB1, e WS6 e Synergistetes) em menor abundância na Lagoa Bonita, enquanto na Lagoa Cabocla foi recuperado apenas um filo bacteriano único (BHI80-139). Quanto aos grupos pertencentes ao domínio Archaea, foram identificados três filós (Crenarchaeota, Euryarchaeota e Thaumarchaeota) e dois grupos de Archaea não classificadas (uncultured archaeon e unclassified Archaea). Apenas Euryarchaeota e Thaumarchaeota foram considerados abundantes nas duas lagoas e nos diferentes períodos. Relações dos filós de Bacteria e Archaea foram avaliadas em associação com as variáveis da água (temperatura, pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido e profundidade da coluna d'água), bem como carbono e nitrogênio totais no sedimento, além da razão C:N. O pH da água, a condutividade elétrica e a profundidade foram as variáveis de maior importância relativa sobre a abundância da maioria dos filós testados. A riqueza de bactérias foi maior na Lagoa Cabocla, enquanto a riqueza e a diversidade de arqueias foram maiores na Lagoa Bonita. Nas duas lagoas, a sazonalidade influenciou a riqueza de arqueias e teve efeito sobre diversidade de bactérias, que foram maiores na estação seca em relação ao período de transição chuva-seca. A presença de microrganismos aeróbios e anaeróbios encontrados no sedimento destas lagoas pode ser um indicativo da ocorrência de interações entre o sedimento e corpo d'água gerando micro sítios heterogêneos para o estabelecimento de grupos com uma ecologia tão diferenciada. Os resultados deste estudo compreendem um conjunto de informações básicas e inéditas a respeito dos ambientes aquáticos prístinos no Cerrado contribuindo na ampliação dos conhecimentos sobre a diversidade e ecologia dos organismos que são importantes componentes das funções ecossistêmicas. Essa informação pode contribuir para a avaliação e planejamento de estratégias de conservação dos ecossistemas aquáticos no Cerrado.

Palavras-chave: Lagos tropicais, pirosequenciamento, variação temporal, diversidade microbiana, Brasil Central.

ABSTRACT

Natural shallow and oligotrophic lakes of Cerrado harbor high biodiversity. However, there are no studies about the microbial communities present in the sediment of these aquatic environments. The objective of this work was to characterize the diversity of the Bacteria and Archaea domains in the sediment of two natural lakes of Cerrado (Lagoa Bonita located in Estação de Águas Emendadas – Planaltina/DF and Lagoa Cabocla located in Campo de Instrução de Formosa – Formosa/GO). Water and sediment (0-5 cm) samples were collected from different seasons (transition rainy-dry, dry, transition dry-rainy and rainy season) between May 2014 and March 2015. Physical and chemical characteristics of water and sediment samples were evaluated. Bacterial communities profile was analyzed using PCR/DGGE and the richness and diversity of Bacteria and Archaea domains by pyrosequencing of the 16S rRNA gene. The water in the both lakes showed lightly acidic pH, low electrical conductivity, dissolved oxygen concentrations less than 7.19 mg/L and temperature between 21 and 28°C. The sediment showed acid pH, high organic matter content, low base saturation and high potential acidity. The analysis of the structure of the evaluated bacterial community (Dice/UPGMA) from profiles of DGGE gels showed high similarity between the communities of the two lakes with greater differentiation in relation to the seasons. From the sequence analyses of 16S rRNA gene, were identified a total of 45 phyla and a group of bacteria not classified in the lower taxonomic hierarchy. Six phyla (Proteobacteria, Acidobacteria, Chloroflexi, Firmicutes, Planctomycetes and Nitrospirae) were considered abundant, with frequency $\geq 1\%$ in all seasons, in the two lakes. Nine abundant phyla (Actinobacteria, Bacteroidetes, OP8, Chlamydiae, Chlorobi, Spirochaetae, TM6, Verrucomicrobia and WD272) and the bacterial group not classified (Unclassified Bacteria) were found in the two lakes at least in one season. We observed the presence of four single bacterial phyla (Caldiserica, KB1, e WS6 and Synergistetes) in lower abundance in the Lagoa Bonita, while in Lagoa Cabocla only one single bacterial phyla (BHI80-139) was recovered. Regarding the groups belonging to the Archaea domain, were identified three phyla (Crenarchaeota, Euryarchaeota and Thaumarchaeota) and two archaeal groups not classified (uncultured archaeon and Unclassified Archaea). Only Euryarchaeota and Thaumarchaeota were considered abundant in the two lakes and in different periods. Relationship of the Bacteria and Archaea phyla were evaluated in combination with water variables (temperature, pH, electrical conductivity, dissolved oxygen and depth of water column) as well as carbon and total nitrogen in the sediment, besides the C:N ratio. The water pH, the electrical conductivity and the depth were the variables of greater relative importance on the abundance of most phyla tested. The bacterial richness was greater in the Lagoa Cabocla, while the archaeal richness and diversity were greater in the Lagoa Bonita. In the two lakes, the seasonality influenced the archaeal richness and had effect on the diversity of Bacteria, which was higher in the dry season compared to transition rain-dry period. The presence of aerobic and anaerobic microorganisms found in the sediment of these lakes, may be indicative the occurrence of interactions between sediment and water body generating heterogeneous microsites for the establishment of groups with such a differentiated ecology. The results of this study include a set of basic and novel information about pristine aquatic environments in the Cerrado, contributing to the expansion of knowledge about the diversity and ecology of the organisms that are important components of ecosystem functions. This information can contribute to the evaluation and planning of conservation strategies for aquatic environments in the Cerrado.

Key-words: tropical lakes, pyrosequencing, temporal variation, microbiota diversity, Central Brazil.

1 INTRODUÇÃO

O Cerrado ocupa cerca de 24% do território brasileiro, sendo o segundo maior bioma do país (IBGE 2004). É representado por um mosaico de fitofisionomias com a maior diversidade biológica entre as savanas do mundo (Mendonça et al. 1998; Klink & Machado 2005) e se destaca por abrigar as nascentes de três das principais bacias hidrográficas da América do Sul, a bacia do São Francisco, bacia do Paraná e bacia do Araguaia/Tocantins, além de outros cursos d'água (Lima & Silva 2008). Diante da vasta rede hidrográfica que compreende doze bacias no Brasil, oito dependem de recursos do Cerrado (MMA 2009). A atividade geológica dessa rede hidrográfica no Brasil é responsável pela gênese da maioria dos lagos e lagoas brasileiras (Esteves 1998). Estruturalmente, estes sistemas lacustres são formados por uma depressão natural do relevo onde a água é retida (Odum & Barrett 2007), formando um corpo de água doce com pouca ou nenhuma corrente (ambientes lênticos) e sem continuidade com o mar (Mackenzie et al. 1998), caracterizando-se como ecossistemas pequenos e de pouca profundidade (Esteves 1998). Estas paisagens estão distribuídas em diferentes áreas úmidas ainda pouco compreendidas, principalmente em relação à descrição das comunidades microbianas que compõem seus ecossistemas aquáticos.

De acordo com a definição pela Convenção de Ramsar, tratado intergovernamental estabelecido em 1971, as áreas úmidas ocorrem sob superfícies cobertas de água, abrangendo tanto áreas artificiais quanto áreas naturais, tais como represas (artificiais), pântanos, sistemas lóticos e lênticos de água doce ou salobra e açudes, que apresentem no máximo 6 metros de profundidade. No Cerrado, as áreas úmidas são encontradas especialmente em veredas, matas de galeria e campos úmidos (Ribeiro & Walter 1998), se estendendo em diversificadas formações de ecossistemas aquáticos naturais de pequeno a médio porte pouco explorados e cujas características peculiares exercem forte influência sobre a biodiversidade nesses ambientes (Padovesi-Fonseca 2005).

No Cerrado, as lagoas naturais são formadas pelo afloramento do lençol freático e apresentam vasta colonização por macrófitas aquáticas (Padovesi-Fonseca 2005). Algumas propriedades peculiares das lagoas naturais rasas e oligotróficas neste bioma incluem águas transparentes, ligeiramente ácidas, com baixo teor de nutrientes e baixa condutividade elétrica (Gomes et al. 2010). Também são baixas as concentrações de nutrientes como nitrogênio e fósforo total (Fonseca & Estrela 2015).

Nas lagoas naturais do Cerrado a compartimentalização das zonas litoral, pelágica e profunda é quase atípica. Todas as regiões do sistema aquático são componentes biogeoquímicos que mantêm elevada comunicação entre si através de trocas de matéria e energia (Esteves 1998). Carpenter (1988) descreve que estas complexas interações

resultam das múltiplas vias que ligam os organismos aos recursos abióticos. A relação sedimento e corpo d'água, por exemplo, ocorre com a atuação do sedimento como habitat e substrato para inúmeros organismos e estes, por sua vez, recebem da coluna d'água a influência direta da sua composição física e química (Mackenzie et al. 1998).

Nos ecossistemas lacustres rasos, as flutuações entre coluna d'água e sedimento de fundo são extremamente dinâmicas, garantindo rápida recirculação de gases e nutrientes (Likens 2010). Essa interação é determinada especialmente pela relação da pouca profundidade com a ação do vento, e, associada à transparência da água, pode caracterizar a coluna d'água como inteiramente representada pela zona eufótica. Este tipo de ambiente não forma estratificação vertical e não há, portanto, a separação da coluna d'água por gradientes químico ou físico (Esteves 1998).

Considerando a temperatura mais elevada dos sistemas tropicais, lagos e lagoas dessa região podem apresentar grandes déficits de oxigênio (O_2), o qual é melhor dissolvido em baixas temperaturas (Nilssen 1984). Nesses casos, o vento tem também um importante papel na distribuição e aumento da concentração desse gás por toda a coluna d'água (Esteves 1998).

Tanto as condições bióticas quanto as condições abióticas controlam processos dos lagos e lagoas de sistemas naturais (Brönmark & Hansson 2002). Alguns fatores como acidez, teor de componentes húmicos, carbono, concentrações de nutrientes, por exemplo, montam uma dimensão abiótica que pode ser característica da zona de influência do lago ou lagoa (Brönmark & Hansson 2005). A zona de influência é a região de entorno do sistema aquático pela qual a chuva, o solo e a vegetação são responsáveis por grande parte das entradas de nutrientes, pH e cor da água da lagoa (Scheffer & Van Nes 2007).

A transparência é característica da baixa concentração de substâncias dissolvidas e suspensas na água (baixa turbidez e baixos níveis de nutrientes), fazendo com que a luz consiga penetrar a coluna d'água até chegar ao sedimento (Brönmark & Hansson 2005). A penetração da luz até o fundo da lagoa permite um elevado crescimento de vegetação enraizada e algas por toda extensão do ambiente aquático (Esteves 1998). A maior abundância de plantas submersas contribui na redução da turbidez por meio de um conjunto de mecanismos que diminuem a ressuspensão excessiva do sedimento (Scheffer & Van Nes 2007).

Além da coluna de água, o sedimento de fundo que forma o leito da lagoa é um importante compartimento dos ambientes aquáticos. É constituído por materiais sólidos que se encontram assentados ao fundo do sistema (Kemker 2014) e pode proporcionar condições favoráveis ao estabelecimento de muitos organismos, incluindo populações microbianas (Roske et al. 2008). De acordo com Roske et al. (2008), o sedimento é possivelmente o maior compartimento dos ecossistemas de água doce e como descrito

anteriormente, mantêm complexas interações com o corpo d'água (Esteves 1998) podendo ser nele ressuspenso (Kemker 2014). É nesta interface sedimento-água que ocorre expressiva e importante parte da atividade biológica dos sistemas lacustres (Pace & Prairie 2005).

A estrutura química do sedimento que integra os processos biológicos é constituída por um conjunto de materiais orgânicos e inorgânicos derivados do influxo de rios das bacias hidrográficas que alimentam o sistema aquático, do arraste de partículas através da enxurrada das chuvas ou da decomposição de organismos (Pace & Prairie 2005). Segundo Kalff (2002), os solos, a vegetação de cobertura e o intemperismo de rochas na zona de influência, fornecem ao sistema aquático algumas frações de partículas orgânicas e inorgânicas que se depositam no fundo e atribuem ao sedimento a condição de substrato físico e químico com a maior retenção de nutrientes para a vida aí existente. Dessa forma, além de atuar como habitat, cumpre ainda a importante função ecológica de servir como depósito de nutrientes para as comunidades e tem alta capacidade de reter produtos tóxicos.

Estruturalmente, o sedimento de fundo é constituído por uma camada recente ou biológica e uma camada permanente. A primeira está em contato direto com a água detendo maior concentração de matéria orgânica e atividade microbiana enquanto a camada permanente está localizada abaixo da camada biológica, apresentando potencial condição de anaerobiose (Brönmark & Hansson 2005). Eventualmente, o acúmulo de matéria orgânica morta, contribui para manter condições anóxicas na superfície do sedimento (Scheffer & Van Nes 2007). Porém, quando o sistema é raso e com águas transparentes o suficiente para que a luz chegue ao fundo, o crescimento de algas e cianobactérias que realizam fotossíntese podem agregar maiores concentrações de O₂ ao sedimento, juntamente com a ação do vento (Wetzel 2001).

Nos ecossistemas tropicais rasos em que o corpo d'água não apresenta estratificação térmica e a luz solar chega ao fundo, o sedimento mantém temperaturas acima de 20°C. Essa característica associada a um grande estoque de matéria orgânica (MO) leva ao aumento das taxas de mineralização e conseqüentemente a uma maior disponibilização de nutrientes do sedimento (Likens 2010), que por sua vez, aumenta o consumo do oxigênio disponível no sedimento se o ambiente não for redutor. Essa dinâmica se estabelece a partir de interações específicas que envolvem a deposição de material particulado da coluna de água, sua decomposição no sedimento e a reposição dessas substâncias ao corpo d'água, já disponíveis para aproveitamento pela biota (Roske et al. 2008).

Parte do carbono e da matéria orgânica depositada é liberada no sistema aquático a partir do metabolismo de organismos aquáticos, caracterizando a porção autóctone deste

material. No entanto, uma porção relativa destes compostos, incluindo o material húmico, é oriunda da zona de influência da lagoa, o que geralmente é chamado de material alóctone (Carpenter 1988). Se por um lado as elevadas concentrações destes constituintes levam a diminuição do pH e do oxigênio, por outro, caracteriza uma potencial fonte de energia para a biota onde o baixo teor de nutrientes é comumente limitante (Brönmark & Hansson 2005).

A degradação ou decomposição da matéria orgânica alóctone e autóctone no sedimento é resultado da atividade microbiana, pela qual os compostos já mineralizados são liberados (Torres et al. 2011). Além da temperatura que induz maior atividade catabólica, entre os outros fatores que contribuem na aceleração do processo de decomposição, destacam-se a qualidade da matéria orgânica, pela qual fontes menos recalcitrantes sofrem decaimento com maior facilidade e o pH, que condiciona a ocorrência das comunidades e atuação de enzimas (Bianchini 1999). Quanto às características dos detritos orgânicos, suas frações são quimicamente diversas e sua composição depende da origem e fonte do material depositado. Macrófitas e fitoplâncton, por exemplo, podem ser importantes fontes de nitrogênio e fósforo para o sedimento, enquanto a matéria orgânica é a principal fonte de carbono nesses ambientes (Scheffer & Van Nes 2007), que também é oriundo de macrófitas, do fitoplâncton, metafíton e o perifíton.

De acordo com Bianchini (1999), na maioria dos ecossistemas aquáticos, o carbono também pode ser encontrado como constituinte dos organismos vivos e nos detritos em suspensão. Na fração inorgânica, o carbono está na forma de carbonatos enquanto na porção orgânica, se apresenta na forma de aminoácidos, carboidratos, ácidos orgânicos, celulose, lignina, entre outros, cujas transformações envolvem processos de assimilação na sua forma inorgânica através da fotossíntese e quimiossíntese e o processo de decomposição aeróbia e anaeróbia. A decomposição aeróbia resulta em produtos finais mais estáveis enquanto o fracionamento da matéria orgânica por vias metabólicas anaeróbias gera principalmente metano (CH_4) e gás carbônico (CO_2).

O sedimento compreende dessa forma, um habitat heterogêneo capaz de abrigar inúmeros organismos em diferentes nichos ecológicos e em escala de milímetros. A microbiota do sedimento apresenta alta complexidade, com participação nos processos metabólicos na superfície do sedimento que estão fortemente relacionados ao ciclo de nutrientes nesses ambientes (Spring et al. 2000).

Toda essa dinâmica representa uma rede de interações altamente complexa dentro do ecossistema, afetando tanto os organismos aquáticos superiores, quanto as comunidades microbianas presentes, que respondem de diferentes maneiras às características ambientais. Existem pouquíssimos estudos em sedimentos de lagoas naturais no Cerrado (Rodrigues et al. 2014), embora haja grande diversidade de sistemas

aquáticos neste bioma (Sousa 2012) e, portanto, é escasso o conhecimento em relação à microbiota que participa de processos importantes na manutenção destes ecossistemas.

Apesar do reconhecimento do papel biogeoquímico de bactérias e arqueias em sistemas de água doce desde 1940 (Newton et al. 2011) os principais estudos envolvendo os sistemas lênticos do Cerrado estão fortemente relacionados à riqueza dos grupos de dinoflagelados (Gomes 2007), cladóceros (Sousa et al. 2013; Sousa et al. 2014), desmídeas (Estrela et al. 2011; Fonseca & Estrela 2014) e outros organismos aquáticos típicos. No entanto, microrganismos são seres ubíquos com alto potencial fisiológico para explorar os mais diversos ambientes (Madsen 2008). Estes organismos foram os primeiros agentes modificadores das condições geoquímicas da biofera, participando de processos fundamentais para a manutenção dos ecossistemas (Newton et al. 2011). Em áreas úmidas, grupos de bactérias e arqueias realizam serviços ecossistêmicos fundamentais, sendo considerados os agentes mais importantes nos processos de decomposição da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes (Liu et al. 2009). Além disso, associações entre estes organismos garantem a produtividade no sistema aquático (Paerl & Pinckney 1996).

Somente em 1977, quando Woese e Fox propuseram uma nova divisão em domínios para os procariotos baseando-se em análises moleculares do gene 16S rRNA, a biologia e os aspectos ecológicos de bactérias e arqueias começaram a ser melhor elucidados (Madigan et al. 2012). A divisão dos procariotos nos domínios Bacteria e Archaea, assim como a classificação dos eucariotos no domínio Eukarya, é resultado do sucesso das ferramentas moleculares em estudos de metagenômica que tornaram possível a referida proposta de diferenciação dos seres vivos.

A metagenômica, termo utilizado para designar o conjunto de genomas de diferentes organismos em uma amostra ambiental, é um campo de estudo que explora as mais recentes tecnologias de sequenciamento de nova geração (NGS) a fim de caracterizar comunidades microbianas abrigadas em todos os ecossistemas (Hunter et al. 2014). As abordagens metagenômicas têm revolucionado a área da ecologia microbiana, com emprego de metodologias rápidas, precisas e de custo atualmente acessível (Oulas et al. 2015).

Antes do avanço das ferramentas moleculares, a caracterização dos microrganismos era realizada principalmente a partir do emprego de métodos baseados em cultivo e microscopia (Ogunseitan 2005). Essas técnicas se utilizavam de comparações morfológicas e fenotípicas que exigiam do pesquisador uma enorme precisão para descrição das cepas capazes de crescer em meio de cultura (Clarridge 2004). Apesar da enorme contribuição que tiveram para os estudos microbiológicos, isoladamente, os métodos tradicionais tem baixo alcance na análise da diversidade de microrganismos no ambiente, considerando a estimativa de que menos de 1% do total de bactérias, arqueias e

outros grupos microbianos são passíveis de cultivo em *in vitro*, fato que ocorre especialmente devido às exigências metabólicas destes organismos (Madgan 2012).

Assim como a separação dos três domínios da vida, novos padrões para identificação de bactérias e arqueias também começaram a ser explorados entre 1970 e 1980, quando Woese e outros pesquisadores conseguiram demonstrar que as relações filogenéticas entre os organismos poderiam ser determinadas pela comparação da parte estável do código genético dos seres vivos (Clarridge 2004). Este código genético, também descrito como DNA (ácido desoxirribonucleico), contém toda a informação genética nos procariotos e eucariotos (Madgan 2012). Para procariotos, os genes candidatos a inferências filogenéticas são o 5S rRNA, o 16S rRNA e também o gene 23S rRNA e os espaços intergênicos (ITS) entre eles (Clarridge 2004). Esses genes codificam RNA para as subunidades que compõem o ribossomo (16S para subunidade menor e o 23S para subunidade maior) em procariotos e são os cronômetros moleculares mais utilizados desde sua descoberta (Yarza et al. 2014).

O 16S rRNA, contém cerca de 1500 pares de bases (pb). É um gene evolutivamente conservado entre os microrganismos, sendo um bom marcador molecular para estudos taxonômicos de grupos bacterianos e arqueias (Oulas et al. 2015). O gene 16S rRNA é constituído por regiões extremamente conservadas e regiões hipervariáveis. As regiões hipervariáveis desse gene são pequenas suficiente para serem cobertas pelas novas tecnologias de sequenciamento, com cerca de 100 – 350 bases, mas também suficientemente grandes para serem informativas (Cardenas & Tiedje 2008).

Yarza et al. (2014) apontam que a quantidade de sequências do gene 16S rRNA tem superado em grande magnitude o número de microrganismos cultivados. Mas o conhecimento sobre o papel e a dinâmica das comunidades microbianas em ambientes naturais é ainda um dos maiores desafios para a ciência moderna. Com o crescente avanço da biologia molecular, uma gama de abordagens pode ser empregada no campo da metagenômica, incluindo estudos de diversidade genética dos organismos, identificação de táxons, predição de genes codificadores de proteínas e mesmo inferência funcional da comunidade em um dado ecossistema. Desta maneira, estudos em ecologia microbiana vêm ampliando o número de dados e informações geradas a partir dos trabalhos que visam o acesso à diversidade de comunidades microbianas, resultando em uma melhor compreensão da sua função no ambiente, além de permitir relacionar evolutivamente esses organismos com base em características genéticas das populações.

Considerando a importância ecológica dos microrganismos para o funcionamento dos ecossistemas, este trabalho descreve pela primeira vez a composição, abundância, riqueza e diversidade das comunidades microbianas pertencentes aos domínios Bacteria e Archaea no sedimento de dois sistemas aquáticos lânticos, rasos e oligotróficos do

bioma Cerrado em quatro diferentes períodos: transição chuva/seca (CS), estação seca (S), transição seca/chuva (SC) e estação chuvosa (C).

2 JUSTIFICATIVA

O menor número de estudos relacionados às comunidades microbianas aquáticas em escalas temporais e/ou espaciais em comparação àqueles aplicados aos organismos de grande porte se dá principalmente devido as presentes limitações das técnicas que permitem o acesso a esses organismos. Todavia essa qualidade contrasta com a abundância e com a elevada atividade que os microrganismos desempenham nos ecossistemas.

Na contramão dos desafios associados à abertura da chamada “caixa preta” dos microrganismos, sabe-se que conhecer a composição e a diversidade desses seres nos ambientes naturais é o primeiro passo para o entendimento e caracterização das principais funções ecológicas e serviços ecossistêmicos mediados por eles. Assim, uma investigação sistemática da estrutura temporal e da diversidade, riqueza e abundância de comunidades microbianas presentes no sedimento de lagoas do Cerrado resulta em uma melhor compreensão do perfil dessas comunidades, sua ecologia e seu potencial dentro desse habitat.

Considerando o importante papel ecológico dos grupos de bactérias e arqueias, devemos ponderar a respeito do aumento populacional e da intensificação das atividades agropecuárias e industriais nas cidades, vistas cada vez mais frequentes no bioma Cerrado. Isto porque essas atividades podem representar fortes pressões sobre os recursos naturais.

Os resultados obtidos a partir deste trabalho poderão ser utilizados como referência para sistemas lacustres preservados, subsidiando futuros estudos em ecossistemas naturais. Além de ampliar o conhecimento sobre a diversidade e papel dos microrganismos presentes nestes sistemas, espera-se ainda que as informações aqui discutidas possam em algum momento fornecer suporte no planejamento e gestão de políticas voltadas para as áreas úmidas do Cerrado.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar a variação sazonal na estrutura e riqueza das comunidades de bactérias e arqueias presentes no sedimento de duas lagoas naturais rasas, ácidas e oligotróficas da região Brasil Central.

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar os sedimentos e a água das lagoas em relação às características físicas e químicas em diferentes estações do ano;
- Investigar potenciais associações das características variáveis físicas e químicas da água e do sedimento com as comunidades de bactérias e arqueias estabelecidas no sedimento;
- Comparar a abundância, riqueza e diversidade de bactérias e arqueias entre as lagoas Bonita e Cabocla;
- Verificar se existe variação sazonal na abundância, riqueza e diversidade de bactérias e arqueias no sedimento das duas lagoas.

4 HIPÓTESES

1 - A diversidade taxonômica de bactérias e arqueias no sedimento será maior na lagoa com maior profundidade.

A maior profundidade nos ambientes aquáticos favorece a heterogeneidade espacial, que por sua vez leva ao aumento da diversidade de espécies em microescalas. Dessa forma, o aumento da heterogeneidade pode fazer com que o ambiente suporte maiores populações e maior diversidade de organismos.

2 – A maior diversidade de bactérias e arqueias ocorrerá no início do período chuvoso.

As comunidades microbianas do sedimento apresentam variações sazonais em função da sazonalidade da precipitação no bioma Cerrado. Durante as primeiras chuvas ocorrem maiores entradas de matéria orgânica e inorgânica oriunda dos solos da zona de influência que provocam alterações na composição química do sedimento. Tais alterações levam à formação diferentes nichos pelo aumento da heterogeneidade espacial, que por sua vez leva ao aumento da diversidade.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Área de estudo

Este estudo foi realizado em duas lagoas oligotróficas naturais do bioma Cerrado localizadas em duas áreas de proteção na região central do Brasil (Figura 1): a Lagoa Bonita ($15^{\circ}35'01''\text{S } 47^{\circ}41'19''\text{W}$), localizada na Estação Ecológica de Águas Emendadas (ESECAE, Planaltina-DF) e a Lagoa Cabocla I ($15^{\circ}48'03''\text{S } 47^{\circ}15'10''\text{W}$), aqui chamada apenas por Cabocla, no Centro de Instrução de Formosa (CIF, Formosa-GO).

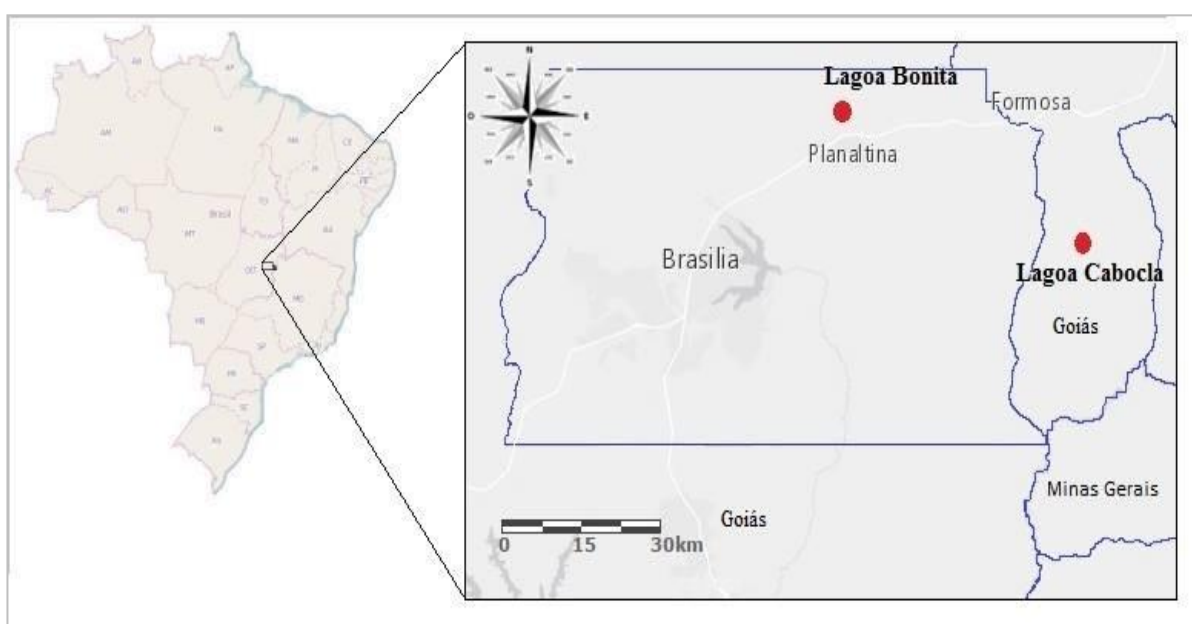


Figura 1. Localização das áreas de estudo. Lagoa Bonita, ESECAE (Planaltina-DF) e Lagoa Cabocla, no CIF (Formosa-GO).

O clima da região de acordo com a classificação de Köppen é descrito como Aw, caracterizado por apresentar um clima tropical quente, com duas estações bem definidas: uma chuvosa e outra seca. Segundo Silva et al. (2008), a estação chuvosa é quente, com duração de outubro a março, enquanto na seca predominam temperaturas e umidade mais baixas entre os meses de abril e setembro. Dentro desses períodos, são estabelecidas duas transições. A transição seca-chuva compreende os meses de outubro e novembro, em que a precipitação já ocorre, mas ainda é baixa. A transição chuva-seca é atribuída entre os meses de abril e maio, quando as chuvas são mais escassas dando início à estação seca. Ainda de acordo com os autores, a pluviosidade média anual no Cerrado é do tipo sazonal e varia entre 1400 mm e 1600 mm no Distrito Federal e entre 1200 mm a 1400 mm na porção do entorno onde a cidade de Formosa está inserida. O período mais

quente concentra cerca de 80% da pluviosidade anual e a temperatura média varia entre 20 - 22°C nestas duas porções do bioma (Silva et al. 2008). Dados de precipitação no Distrito Federal e Formosa obtidos do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), para o período de coleta são demonstrados (Figura 2).

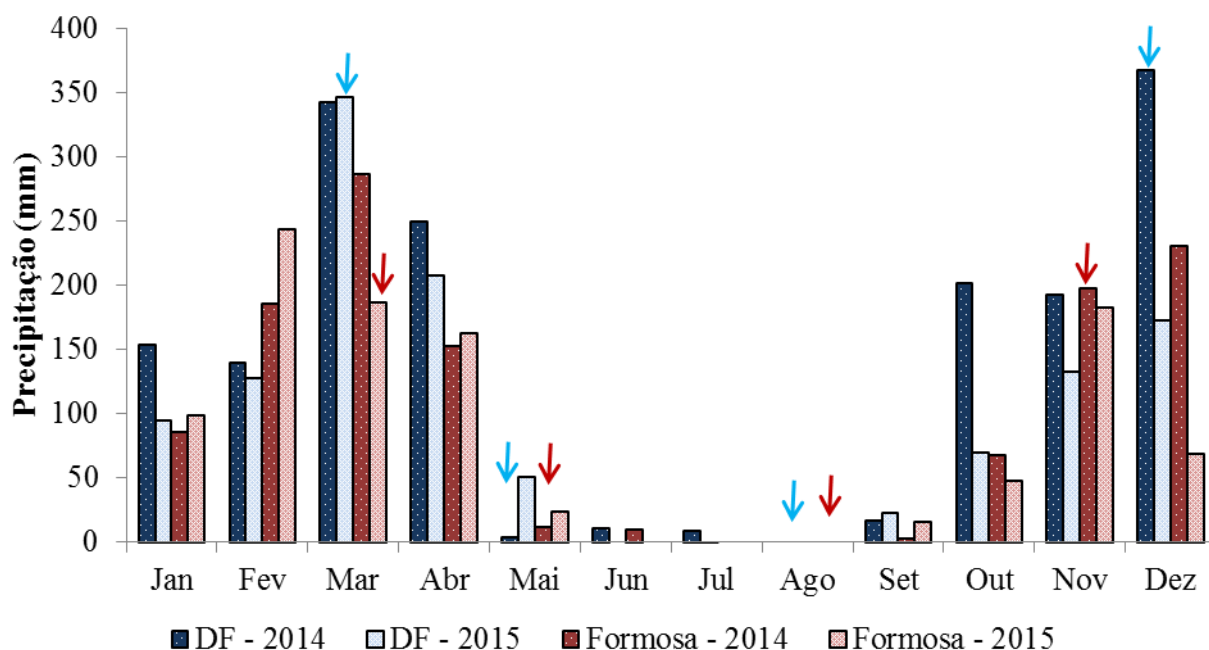


Figura 2. Distribuição da precipitação mensal (mm) durante o período de janeiro de 2014 a dezembro de 2015. Dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET < <http://www.inmet.gov.br/porta1/>>). As setas azuis e vermelhas representam os meses de coleta nas lagoas Bonita e Cabocla, respectivamente.

A Lagoa Bonita (Figura 3 A) encontra-se dentro da Estação Ecológica de Águas Emendadas (ESECAE). Essa estação foi instituída em 1988 com objetivo de delimitar uma área para preservação da biodiversidade no Distrito Federal. Dessa forma, compreendendo 10.547 hectares, a ESECAE é uma unidade de conservação ambiental localizada na porção extremo nordeste do Distrito Federal, na Região Administrativa de Planaltina. Essa estação é delimitada por dois polígonos, onde ocorre o encontro de águas das bacias Tocantins-Araguaia e Platina (Seduma 2008). No polígono menor da ESECAE, como resultado do afloramento do lençol freático, está a Lagoa Bonita (Figura 3A) um exutório da Bacia do Rio São Bartolomeu onde se insere a microbacia Mestre D'Armas, pertencente à bacia do Alto Rio Paraná, à aproximadamente 954 metros de altitude (Seduma 2008). É considerada a maior lagoa natural do Distrito Federal, com 1.700 m de comprimento, 1.390 m de largura e perímetro de 4.800 m e uma profundidade que pode alcançar até 3,5 m (Campos & Senna 1988 *apud* Fernandes 1981).

Embora ocorram pequenas variações no seu formato entre os períodos de seca e chuva, o espelho d'água da Lagoa Bonita é predominantemente circular e seu fundo e superfície são recobertos por macrófitas aquáticas (Fernandes 1981). Em sua zona litoral, o pH da água varia entre 5,3 e 6,4, apresentando baixa condutividade elétrica ($3,2 - 12,8 \mu\text{S cm}^{-1}$), baixas concentrações de oxigênio dissolvido (4,5 a 8,9 mg/L), de nitrogênio (238 - 757 $\mu\text{g/L}$) e de fósforo total (3 - 66 $\mu\text{g/L}$), segundo dados apontados por Gomes et al. (2010). Apesar de estar inserida em uma área de preservação, observa-se intenso processo de ocupação agrícola e crescimento urbano nas áreas de entorno da ESECAE (consultar Apêndice A).

O Campo de Instrução de Formosa (CIF) está localizado em Formosa no Estado de Goiás, com limite a leste pelo Distrito Federal. É uma área que se encontra sob o gerenciamento do Exército brasileiro desde 1972 e que detém um grande fragmento preservado de Cerrado, com diferentes ecossistemas aquáticos, tais como sistemas lóticos e lênticos pertencentes à bacia do rio São Francisco (Sousa 2012). A Lagoa Cabocla (Figura 3 B) localizada nesta área, é originária de uma leve depressão topográfica em uma área envolta por campos murundus, e do afloramento do lençol freático, detendo uma área de 0,97 km² (Sousa 2012). Com uma profundidade de até 0,55 m, demonstra em seu espelho d'água uma vasta colonização por macrófitas aquáticas; apresenta baixo pH (5,0), baixa condutividade elétrica ($5,74 \mu\text{S cm}^{-1}$), e baixas concentrações de oxigênio dissolvido (4,73 mg/L), nitrogênio (123,8 $\mu\text{g/L}$) e fósforo (15,3 $\mu\text{g/L}$) (Sousa 2012). Diferentemente do que ocorre na Lagoa Bonita, a Lagoa Cabocla apresenta área de entorno mais preservada (consultar Apêndice A).

A Tabela 1 apresenta as características das duas lagoas.



Figura 3. (A) Lagoa Bonita, localizada na Estação Ecológica de Águas Emendadas (ESECAE), em Planaltina-DF. (B) Lagoa Cabocla localizada no Campo de Instrução de Formosa (CIF), na cidade de Formosa-GO. As imagens de satélite foram obtidas através do Google Earth.

Tabela 1. Características das Lagoas Bonita (ESECAE, Planaltina-DF) e Cabocla (CIF, Formosa-GO).

Características	Lagoa Bonita	Lagoa Cabocla
Unidade	ESECAE/DF	CIF/GO
Bacia	Alto Rio Paraná	Rio São Francisco
Origem	Lençol freático	Lençol freático
Área aproximada (km ²)	1,2	0,97
Entorno	Crescimento urbano e aumento das atividades antrópicas	Pouca interferência antrópica
Profundidade média (m)	1,80	0,39
Profundidade máxima (m)	3,50	0,55
pH	5,3 - 6,4	5,0
Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	3,20 - 12,80	5,74 $\mu\text{S cm}^{-1}$
Oxigênio dissolvido (mg/L)	4,50 - 8,90	4,73 mg/L
Nitrogênio total ($\mu\text{g/L}$)	238,0 – 757,0	123,8 $\mu\text{g/L}$
Fósforo total ($\mu\text{g/L}$)	3,0 – 66,0	15,3 $\mu\text{g/L}$

Os dados da Lagoa Bonita foram obtidos de (Campos & Senna 1988) *apud* Fernandes (1981) e as faixas de variação para esta lagoa, foram demonstradas por Gomes (2010), por meio de avaliações realizadas na zona litorânea da lagoa a cada 15 dias durante o período de abril de 2005 a março de 2006. Os dados da Lagoa Cabocla foram obtidos de (Sousa 2012), representando a média entre as estações seca (julho e agosto de 2009) e chuvosa (novembro e dezembro de 2009).

5.2 Coletas de água e sedimento

Amostras de água e sedimento foram coletadas nas referidas áreas, em quatro campanhas de coleta, compreendendo os períodos: transição chuva-seca (CS - maio de 2014), seca (S – agosto de 2014), transição seca-chuva (SC – novembro/dezembro de 2014) e chuva (C - março de 2015).

Em cada lagoa foram sorteados por período, cinco pontos amostrais baseados em malhas georreferenciadas de no mínimo 20 metros de distância. O gradeamento foi elaborado no programa ArcGis por Alvim (2014, em preparação). A coordenada geográfica de cada malha gradeada no programa recebeu um número de identificação para sorteio através do site <sorteador.com.br>. Para cada lagoa, foram sorteados dez números entre 1 e o número máximo de coordenadas. Após o sorteio, o número era verificado quanto a sua coordenada geográfica no programa ArcGis e se um ponto fosse muito próximo ao anterior na sequência dos números sorteados, o número seguinte e sua respectiva coordenada

foram adotadas (Figura 4). Durante a estação chuvosa, para ambas as lagoas, os pontos foram coletados especialmente nas regiões de margem e suas coordenadas não foram identificadas (ver Apêndice B). A localização dos pontos amostrados nas três primeiras campanhas é demonstrada na Figura 4.

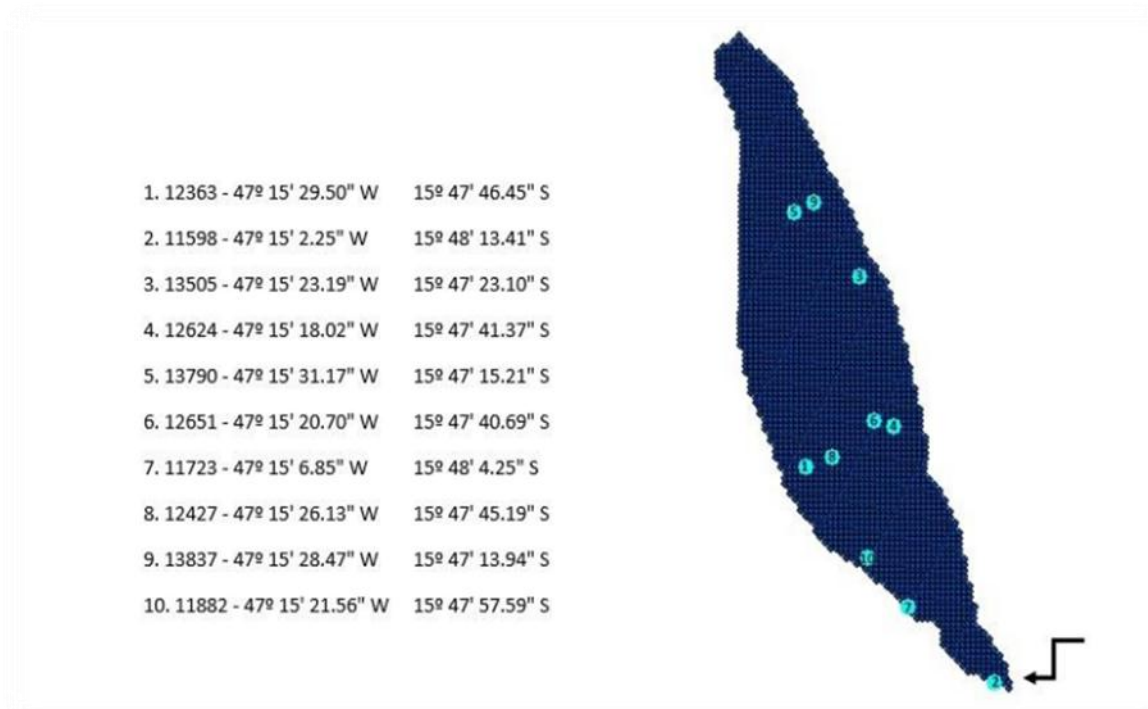


Figura 4. Exemplo de sorteio dos pontos de coleta na Lagoa Cabocla (CIF, Formosa-GO), com georreferenciamento em malhas de no mínimo 20m de distância, segundo Alvim (2014, em preparação).

As amostras de água foram coletadas em frascos plásticos de 5 litros, com tampa, previamente higienizados e imediatamente levados à margem para realização das aferições *in situ* de pH, oxigênio dissolvido (OD), condutividade elétrica e temperatura. Esses valores de foram medidos por meio de instrumentos portáteis multiparâmetro para medições eletroquímicas em campo.

Utilizando-se um amostrador Kajak, em cada ponto sorteado (Figura 5) foi coletado o intervalo de profundidade de 0-5 cm do sedimento em sacos plásticos, mantidos refrigerados até a chegada ao laboratório para posterior análise de nutrientes, matéria orgânica e parâmetros físico-químicos, bem como para análise da diversidade das comunidades bacterianas presentes nesse compartimento. As amostras para análise de nutrientes foram secas em estufa à temperatura de 60°C, enquanto as amostras para análise de diversidade foram armazenadas e mantidas no freezer à -20°C até a realização das análises moleculares.


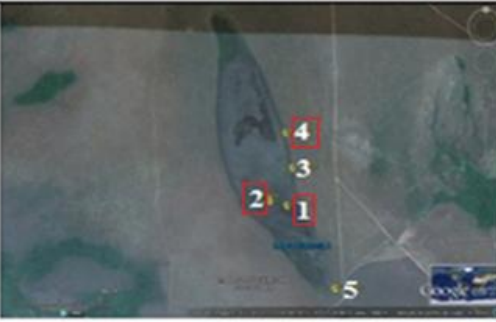

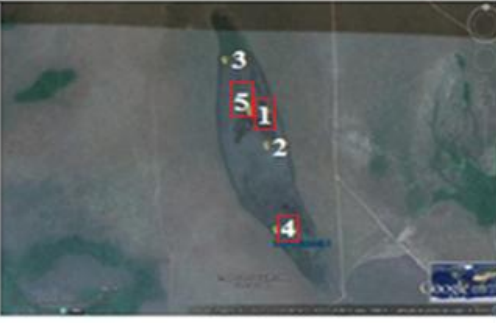


Período	Lagoa Bonita	Lagoa Cabocla
Chuva-seca		
Seca		
Seca-chuva		
Chuva	xxx	xxx

Figura 5. Localização dos pontos sorteados para coleta de água e sedimento das Lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO), nos três primeiros períodos amostrados. Na estação chuvosa as coordenadas não foram marcadas. Os pontos envoltos pelo retângulo em vermelho representam as amostras que foram submetidas ao pirosequenciamento (ver item 5.4.3).

5.3 Análise de nutrientes no sedimento

As amostras de cada ponto de coleta já secas em estufa a 60°C, passaram por destorroamento em peneiras com malha de 2 mm. Composições de 100 gramas do sedimento seco, com 20 gramas de cada um dos cinco dos pontos amostrais das lagoas, foram feitas para mensurar o pH e as concentrações dos nutrientes fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e do metal alumínio (Al). O sedimento composto também foi utilizado para determinação da matéria orgânica e análise granulométrica.

Os elementos P, K foram extraídos com o extrator Mehlich1 e os elementos Ca, Mg e Al com o extrator KCl (1mol/L). Para determinação do carbono orgânico foi empregado o método Walkley-Black. A concentração de P disponível foi determinada por colorimetria, K trocável por fotometria de chama, Ca e Mg trocáveis por espectrofotometria de absorção atômica. O elemento Al por titulometria. As análises realizadas seguiram o protocolo estabelecido por Embrapa (1997). Não houve material suficiente para perfazer estas análises no período de transição seca-chuva e, portanto, as análises foram realizadas somente para os períodos de transição chuva-seca, seca e chuva.

A granulometria foi determinada pelo método do densímetro (Bouyoucos, 1926) apenas no período de transição chuva-seca. As análises químicas do sedimento em cada ponto de coleta e a avaliação da granulometria do sedimento composto foram realizadas na Universidade Federal de Viçosa (UFV-MG), no laboratório de Solos Florestais.

Análises adicionais de carbono e nitrogênio totais de cada ponto de coleta nas Lagoas, nos diferentes períodos (transição chuva-seca, seca, transição seca-chuva e chuva), foram realizadas em triplicatas utilizando o método de combustão total em Analisador Elementar CN 628 da Leco.

5.4 Análise das comunidades de Bacteria e Archaea

As análises para avaliação do perfil e estrutura das comunidades microbianas (Bacteria e Archaea) presentes no sedimento das duas lagoas foram realizadas no Laboratório de Enzimologia da Universidade de Brasília, sob orientação do Prof. Ricardo Kruger. Para esta avaliação, foram realizadas as etapas de extração de DNA, reação de polimerase em cadeia (PCR) do gene 16S rRNA, DGGE e posterior sequenciamento, pela técnica de pirosequenciamento.

5.4.1 Extração de DNA total

As extrações de DNA foram realizadas utilizando o kit de extração FastDNA™ SPIN Kit for Soil da MP Biomedicals segundo recomendações do fabricante, com uso do equipamento Fast Prep® 24 (MP Bio, USA). A eficiência da extração do material genético obtido foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 0,8% contendo brometo de etídeo (2µg/ml) e o tamanho do DNA foi estimado por comparação com o marcador 1kb *plus ladder* (Invitrogen®).

Confirmada a presença de material genético na amostra, estas foram submetidas à purificação utilizando-se o PowerClean® DNA Clean-Up Kit da Mo Bio Laboratories, Inc. A purificação foi necessária porque uma vez que o kit utilizado para extração de DNA emprega o princípio de extração direta, a lise celular ocorre junto à matriz do sedimento,

fazendo com que ácidos húmicos e outras substâncias orgânicas presentes na amostra fiquem retidas, inibindo procedimentos posteriores, tais como a submissão do DNA a PCR, por exemplo. A presença desses componentes pode ser detectada visualmente quando há coloração marrom no produto da extração. Após a purificação, as concentrações dos ácidos nucleicos foram mensuradas por fluorometria através do Qubit® (Life Technologies) e padronizadas a 3,5 ng e 5,0 ng antes da submissão à amplificação via PCR para emprego no DGGE e pirosequenciamento, respectivamente.

5.4.2 Eletroforese em gel de gradiente desnaturante – PCR/DGGE

As reações de PCR foram realizadas utilizando 28,12 µL de água ultra pura (MilliQ®), solução tampão 10X (Invitrogen®), 50 mM de MgCl₂ (Invitrogen®), 2,5 mM de dNTP, 5,0 pmol de cada um dos iniciadores para DGGE específicos para o domínio Bacteria, 968F (5'-AACGCGAAGAACCTTAC-3') com cauda GC (5'-CGCCCGGGGCGCGCCCCG GGCGGGGCGGGGGCACGGGGGG-3') e 1392R (5'-ACGGGCGGTGTGTAC-3') (Ferris et al. 1996), 2,5 U de taq DNA polimerase Platinum® (Invitrogen®) e 3,5 ng de DNA em um volume total de 50 µL. A amplificação foi realizada em termociclador *Veriti 96 well thermal cycler* da *Applied Biosystems*, com o seguinte programa: 5 minutos de desnaturação inicial a 94°C, seguida de 30 ciclos de desnaturação de 45 segundos a 94°C, anelamento (1 minuto a 63°C), extensão (2 minutos a 72°C), e posteriormente a extensão final por 10 minutos a 72°C (Moreira 2013).

Para cada reação de PCR, houve um controle negativo, sem acréscimo de qualquer amostra de DNA, a fim de se verificar possível contaminação. Os *amplicons* gerados foram submetidos a uma corrida eletroforética em gel de agarose 1%, com 10% do volume final do produto de PCR obtido e as bandas foram visualizadas em transluminador U.V. (Alpha Innotech®) após coloração do gel com brometo de etídeo.

Para *screening* e análise da diversidade bacteriana nas lagoas, foi empregada a técnica da eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE). Os géis de poliacrilamida a 6% foram feitos com o gradiente de desnaturação ureia (40%) e formamida (70%), e os produtos de PCR foram aplicados na quantidade de 20 µl adicionados a 20 µl de corante (2% de azul de bromofenol, 2% de xileno cianol, glicerol 100%, água Mili-Q) (Sartori Silva 2004).

Para corrida eletroforética foi utilizado o sistema de eletroforese vertical Bio-Rad Dcode Dcode™ Universal Mutation Detection (fonte Bio-Rad Power Pac 1000), com voltagem constante de 60V e temperatura de 55°C por um período de 18 horas em tampão 1X TAE. Uma pré-corrida de 1 hora foi realizada com os mesmos parâmetros para uma limpeza inicial do gel (Sartori Silva 2004). Após a corrida, os géis foram devidamente

corados com brometo de etídeo (2µg/mL) por 20 minutos e posteriormente descorados em água destilada por igual período. As bandas foram visualizadas em transiluminador U.V. (Alpha Innotech®) com posterior fotografia do gel através do programa *Alphaview*.

Os perfis obtidos através dos géis de DGGE foram analisados com o *software* BioNumerics (Applied Maths), com base no coeficiente Dice de similaridade e a partir do método da distância média não ponderada ou UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic*) para análise dos agrupamentos.

5.4.3 Pirosequenciamento

Para as análises de pirosequenciamento, três das cinco réplicas das amostras de sedimento em cada período amostrado, foram selecionadas para submissão ao sequenciamento. As amostras enviadas foram escolhidas a partir do *screening* inicial pela técnica de DGGE, na tentativa de identificar maior número de grupos microbianos com base nos perfis mais diferenciados das comunidades. Essa seleção de amostras foi necessária devido ao custo deste tipo de sequenciamento.

Antes do envio para sequenciamento, fragmentos do gene 16S rRNA das amostras de sedimento de cada lagoa foram amplificados utilizando-se os oligonucleotídeos iniciadores que flanqueiam as regiões hipervariáveis V5 a V9 desse gene (Roesch et al. 2007). Os pares de oligonucleotídeos iniciadores utilizados foram 787F (5'-ATTAGATACCCNGGTAG - 3') e 1492 R (5'- GNTACCTTGTTACGACTT - 3'), desenhados com os adaptadores A ou B da 454 Life Sciences, que são apropriados para pirosequenciamento (Roesch et al. 2007) e os *barcodes* identificadores apresentados na Tabela 2.

Para cada amostra, dez reações de PCR com volume final de 20µL, cada, foram realizadas e reunidas em tubos Eppendorf estéreis de 1,0 mL, a fim de se alcançar a concentração adequada para o pirosequenciamento. As reações foram feitas utilizando solução tampão 10X (Invitrogen®), 0,25 mM dNTP, 3 mM MgCl₂, 0,175 pmol de cada primer, 1,5 U de Taq DNA polimerase Recombinante (Invitrogen®) e 5,0 ng de DNA em um *mix* com água deionizada ultra pura (MilliQ®). Em cada conjunto de reações, um controle negativo foi inferido contendo todos os reagentes da reação, exceto o DNA. A amplificação foi realizada em termociclador *Veriti 96 well thermal cycler* da *Applied Biosystems®*, com as seguintes condições: 7 minutos de desnaturação inicial a 95°C, seguida de 25 ciclos de desnaturação por 30 segundos a 95°C, anelamento a 57°C por 30 segundos, extensão por 2 minutos a 72°C e extensão final a 72°C durante 7 minutos (Santana et al. 2015).

Tabela 2. Sequência dos adaptadores (A e B) e *barcodes* (M1 - M13) ligados aos iniciadores forward (787F) e reverse (1492R) adotados para construção da biblioteca de *amplicons* sequenciados na plataforma 454.

Adaptador da 454 Life Sciences	<i>Barcodes</i>	Sequência dos iniciadores (5' – 3')
A-787F-M1	cgtatcgcctccctcgcgcatcag {ACGAGTGCGT}	ATTAGATACCCNGGTAG
A-787F-M2	cgtatcgcctccctcgcgcatcag {ACGCTCGACA}	ATTAGATACCCNGGTAG
A-787F-M3	cgtatcgcctccctcgcgcatcag {AGACGCACTC}	ATTAGATACCCNGGTAG
A-787F-M4	cgtatcgcctccctcgcgcatcag {AGCACTGTAG}	ATTAGATACCCNGGTAG
A-787F-M5	cgtatcgcctccctcgcgcatcag {ATCAGACACG}	ATTAGATACCCNGGTAG
A-787F-M6	cgtatcgcctccctcgcgcatcag {ATATCGCGAG}	ATTAGATACCCNGGTAG
A-787F-M7	cgtatcgcctccctcgcgcatcag {CGTGTCTCTA}	ATTAGATACCCNGGTAG
A-787F-M8	cgtatcgcctccctcgcgcatcag {CTCGCGTGTC}	ATTAGATACCCNGGTAG
A-787F-M9	cgtatcgcctccctcgcgcatcag {TAGTATCAGC}	ATTAGATACCCNGGTAG
A-787F-M10	cgtatcgcctccctcgcgcatcag {TCTCTATGCG}	ATTAGATACCCNGGTAG
A-787F-M11	cgtatcgcctccctcgcgcatcag {TGATACGTCT}	ATTAGATACCCNGGTAG
A-787F-M13	cgtatcgcctccctcgcgcatcag {CATAGTAGTG}	ATTAGATACCCNGGTAG
B-1492R-M12	ctatgcgccttgccagcccgcctcag {TACTGAGCTA}	GNTACCTTGTTACGACTT

Após amplificação e agrupamento das amostras, estas foram purificadas usando o Kit de purificação de PCR GeneJET® (Fermentas Life Sciences, Lithuania). Os produtos de PCR purificados foram quantificados através do Qubit® (Life Technologies). Para sequenciar mais de uma amostra em uma única corrida, todos os *barcodes* demonstrados na Tabela 2 foram utilizados. O pirosequenciamento dos *amplicons* de cada lagoa foi realizado em 1/8 de placa usando GS-FLX Titanium (454 Life Sciences; Roche, Basel, Switzerland) pela empresa Macrogen Inc. (Seoul, Korea).

5.4.4 Análise das sequências

O processamento dos dados foi realizado por meio do *pipeline* QIIME (*Quantitative Insights Into Microbial Ecology*) (Caporaso et al. 2010), com a versão 1.9.1 do programa. O QIIME contém um pacote completo de programas livres utilizados para comparação e análises de sequências das comunidades microbianas obtidas a partir de plataformas de sequenciamento de alto desempenho, como a 454. As análises foram realizadas empregando os principais filtros para redução de vieses.

Inicialmente, as sequências foram demultiplexadas e os *reads* foram renomeados de acordo com a identificação das amostras através do processo *split_libraries.py*. Sequências menores que 200 pares de bases (bp) e com índice de qualidade inferior a 30 foram removidas. Também foram removidas sequências ambíguas com mais de 6 pb e os homopolímeros com mais de 6 pb. Um segundo filtro de qualidade para remoção de resíduos gerados durante o processo de sequenciamento foi empregado através do algoritmo *denoise_wrapper.py*. O processo *truncate_reverse_primer.py* foi utilizado para remoção dos iniciadores reversos e sequências subsequentes.

Para construção da tabela de unidades taxonômicas operacionais (OTUs), o algoritmo *pick_otus.py* foi empregado. Sequências representativas foram classificadas usando o parâmetro *uclust_ref* (Edgar 2010) contra o conjunto de referências do banco de dados SILVA (versão 119), adotando-se o limiar $\geq 97\%$ de similaridade entre as sequências. O conjunto de sequências representativas foi selecionado baseando-se no parâmetro de maior abundância de sequências de cada OTU. O passo de alinhamento múltiplo das sequências representativas de cada OTU foi realizado pelo método PyNAST (Caporaso et al. 2010) com o arquivo *core_set_aligned* do SILVA, disponível em <http://www.arb-silva.de/download/archive/qiime/>, e o tamanho mínimo de sequência para incluir no alinhamento foi de 150 nucleotídeos.

Posteriormente ao alinhamento, uma busca para identificação e exclusão de sequências quiméricas foi realizada através do método *Chimera Slayer* (Haas et al. 2011) com o script *identify_chimeric_seqs.py*. O comando *filter_alignment.py* foi utilizado para filtrar as sequências alinhadas a partir da remoção de lacunas (*gaps*) com limiar de 0.99, remoção das sequências com falhas geradas no *align_seqs.py* e remoção das sequências identificadas como quimeras pelo método *Chimera Slayer*.

A taxonomia foi atribuída com o sistema de classificação RDP (Wang et al. 2007) baseado no banco de dados SILVA (versão 119), com limiar de confiança de 80%. A árvore filogenética foi construída pelo método FastTree (Price et al. 2010). Finalmente, a tabela de OTUs foi gerada através do script *make_otu_table.py*, contendo a quantidade de OTUs em cada amostra e sua atribuição taxonômica. A tabela de OTU's produzida no QIIME contendo a abundância dos táxons foi utilizada como arquivo de entrada no programa STAMP® (versão 2.1.3).

5.5 Análises de diversidade

Os índices de diversidade *alpha* correspondentes à dominância, equabilidade (Simpson 1-D), riqueza (Chao-1) e diversidade (Shannon-Weiner) foram calculados no programa Past (versão 3.10) (Hammer et al. 2001). Para avaliar diferenças entre os

índices, os dados obtidos foram testados quanto à normalidade através da análise dos gráficos de resíduos gerados e homocedasticidade da variância pelo teste de Levene. Os dados que obedeceram aos pressupostos da normalidade foram testados quanto às interações dos fatores lagoa e estação pelo teste Anova fatorial no programa Statistica (versão 13). Para os dados que não apresentaram distribuição normal, foi aplicado o teste não paramétrico de Friedman utilizando o pacote “agricolae” no software R (versão 3.2.3).

5.6 Análises estatísticas

Os dados referentes às características da água, bem como os dados de carbono e nitrogênio total, além da razão C:N no sedimento foram testados quanto à normalidade por meio da análise dos gráficos de resíduos gerados e homocedasticidade da variância usando teste de Levene. Os dados que atenderam aos pressupostos referidos foram submetidos à análise de variância por meio de Anova fatorial para testar a significância das interações entre lagoa e estação do ano no software Statistica (versão 13). Os dados que não apresentaram homogeneidade da variância foram testados pelo teste não paramétrico de Friedman utilizando o pacote “agricolae” no programa R (versão 3.2.3). Para determinar a distribuição das variáveis associadas à água entre as lagoas e estações do ano, os dados de oxigênio dissolvido, temperatura, condutividade elétrica e pH da água foram utilizados também para gerar uma análise de componentes principais (PCA) no software Past (versão 3.10) (Hammer et al. 2001).

Para verificar se haviam diferenças na abundância dos grupos de bactérias e Archaea entre as estações, foi aplicado o teste não paramétrico Kruskal-Wallis H-test ($p < 0,05$) para múltiplas categorias, com teste *Post-hoc* Tukey-Kramer e método de correção de Bonferroni. Para testar diferenças na abundância dos grupos apenas entre as lagoas, pares de grupos foram comparados por meio do teste não paramétrico White’s t-test ($p < 0,05$) que também assume uma distribuição não-normal dos dados. Este teste foi empregado em conjunto com o clássico método de correção Bonferroni para determinação da significância. O intervalo de confiança adotado para todas as comparações (estações e lagoas) foi de 95% no programa STAMP® (versão 2.1.3).

Para descrever quais variáveis ambientais preditoras (profundidade da coluna d’água, temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica da água, carbono, nitrogênio totais e razão C:N do sedimento) melhor explicam a abundância dos principais grupos pertencentes a Bacteria e Archaea em nível taxonômico de filo, os dados correspondentes foram submetidos à uma seleção de modelos GLM (*Generalized linear model*) utilizando o pacote “glmulti” no software R (versão 3.2.3). Os modelos são ordenados pelo menor valor do AIC (*Akaike information criterion*) (Calcagno &

Mazancourt). A construção do gráfico de importância relativa das variáveis que representam o melhor modelo explicativo (parâmetros ambientais) para a variável resposta (abundância dos grupos) foi realizada através do pacote “MuMIn” e da função “dredge” para comparações de modelos Calcagno & Mazancourt).

6 RESULTADOS

6.1 Avaliação das variáveis físicas e químicas da água

As análises físicas e químicas da água indicaram temperaturas elevadas, pH ligeiramente ácido, baixa condutividade elétrica e concentrações de oxigênio dissolvido (OD) abaixo de 7,19 mg/L. A temperatura média da água variou entre 25°C e 28°C na Lagoa Bonita e entre 21°C e 28°C na Lagoa Cabocla. Os menores valores de temperatura coincidiram com o período mais seco e frio do ano. Dessa maneira, a temperatura foi maior na estação chuvosa quando comparada à seca ($F = 9$; $p = 0,0003$), mas não houve diferença entre as duas transições ou entre as lagoas ($F = 0$; $p = 1$) (Tabela 3).

O pH foi levemente ácido variando entre 6,13 e 6,40 na Lagoa Bonita, enquanto na Lagoa Cabocla, o pH foi mais ácido, variando entre 5,42 e 6,22. Para as duas lagoas, os valores de pH tem seus extremos nas duas transições, sendo a transição chuva-seca com característica mais ácida enquanto na transição seca-chuva os valores são mais elevados. O pH foi significativamente diferente entre as estações ($F = 10,758$; $p = 0,00005$) e entre as lagoas ($F = 46,487$; $p = 0,00000$), mas não houve interação entre os efeitos lagoa e estação ($F = 2,6767$; $p = 0,06386$). Assim, podemos afirmar que durante o período de transição chuva-seca e chuvoso, o pH nessas lagoas diminui tornando a água ligeiramente mais ácida, enquanto na transição seca-chuva e na seca, a água apresenta menor acidez. Podemos inferir ainda que a Lagoa Cabocla detém águas mais ácidas que a Lagoa Bonita (Figura 7).

Quanto à condutividade elétrica da água, os maiores valores foram observados na Lagoa Bonita, variando entre 6,02 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e 11,28 $\mu\text{S}/\text{cm}$ enquanto na Lagoa Cabocla os valores variaram de 4,62 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 10,64 $\mu\text{S}/\text{cm}$. A condutividade elétrica foi significativamente maior na Lagoa Bonita ($F = 7,820$; $p = 0,000000$) (Figura 6). Nas duas lagoas, as maiores médias na condutividade elétrica, assim como observado para os valores de pH da água, foram registradas no período de transição seca-chuva, sendo significativamente diferentes das demais estações ($F = 9$; $p = 0,000269$), exceto na comparação com a seca.

As concentrações médias de oxigênio dissolvido na água variaram entre 5,40 mg/L e 6,88 mg/L na Lagoa Bonita, enquanto na Lagoa Cabocla foi observada uma variação de 5,51 mg/L a 7,19 mg/L. Não foram encontradas diferenças estatísticas entre as médias de OD na água entre as lagoas ($F = 1$; $p = 0,3298768$) ou entre as estações ($F = 0,4285714$; $p = 0,7341595$) (Tabela 3).

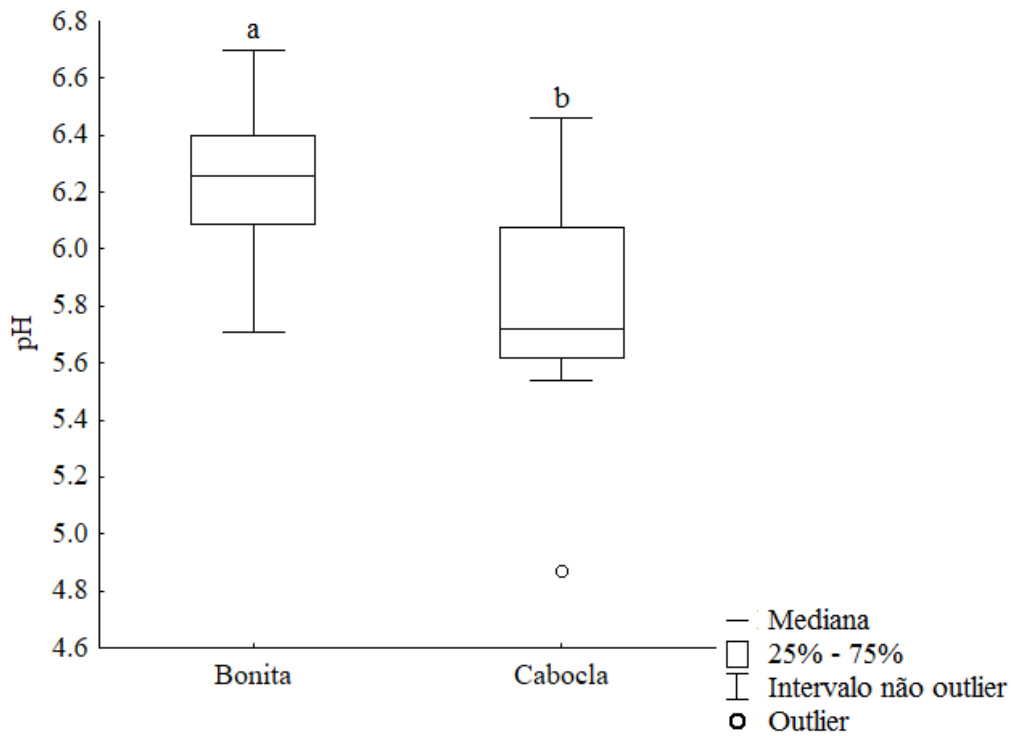


Figura 7. Diferenças entre os valores de pH da água nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO) mensurados entre os meses de maio de 2014 a março de 2015. As diferentes letras indicam as diferenças pelo teste Anova fatorial ($F = 46,49$; $p = 0,000$) com intervalo de confiança a 95%.

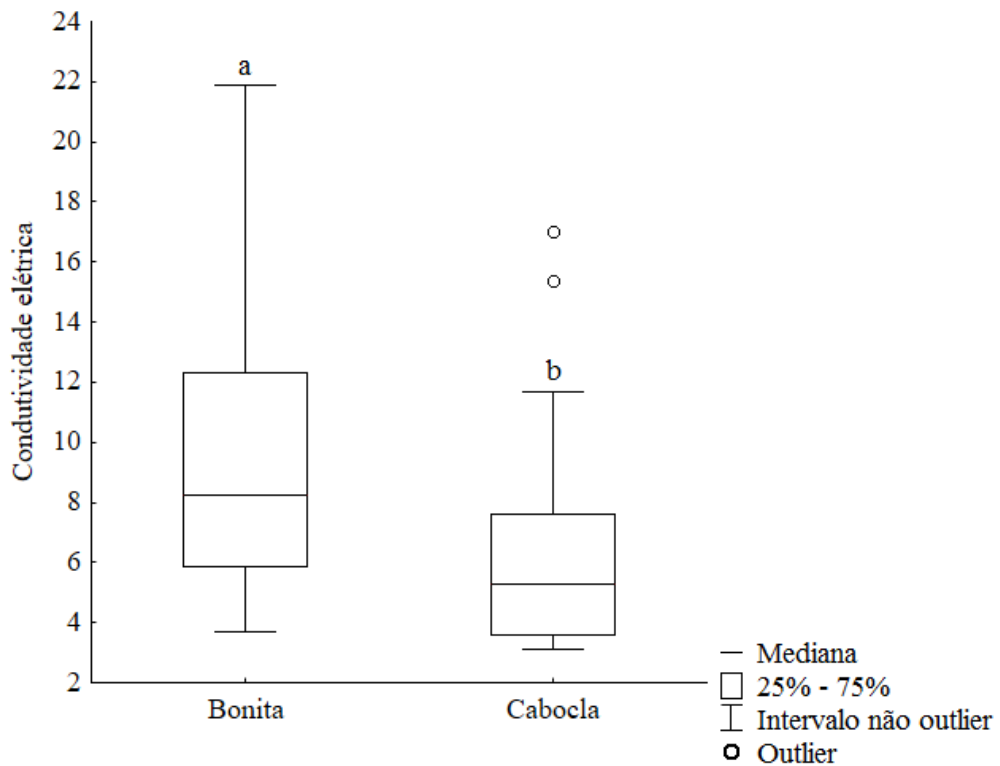


Figura 6. Diferenças entre os valores de condutividade elétrica da água nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO) mensurados entre os meses de maio de 2014 a março de 2015. As diferentes letras indicam as diferenças significativas pelo teste de Friedman ($F = 7,82$; $p = 0,000$) com intervalo de confiança a 95%.

Tabela 3. Caracterização das propriedades físico-químicas da água nas Lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO), nos períodos de transição chuva-seca (CS), seca (S), transição seca-chuva (SC) e chuva (C) (maio/2014 - março/2015). Valores médios e seus respectivos desvios são demonstrados para temperatura da água, pH, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido. Diferenças são indicadas para a comparação entre as estações pelas diferentes letras.

Lagoa	Período	Temperatura (°C)	pH	Condutividade elétrica (µS/cm)	Oxigênio Dissolvido (mg/L)
Bonita	CS	26 ± 1,23ab	6,13 ± 0,10ad	6,02 ± 1,57b	5,40 ± 1,29a
	S	25 ± 1,21b	6,37 ± 0,23bcd	10,70 ± 6,72ab	6,88 ± 0,30a
	SC	26 ± 0,63ab	6,40 ± 0,40bc	11,28 ± 6,59a	5,83 ± 0,56a
	C	28 ± 1,22a	6,17 ± 0,12abd	10,52 ± 2,36b	6,11 ± 0,30a
Cabocla	CS	26 ± 1,33ab	5,42 ± 0,31ad	4,82 ± 1,92b	7,19 ± 0,72a
	S	21 ± 1,61b	5,82 ± 0,15bcd	6,72 ± 4,22ab	5,76 ± 0,86a
	SC	27 ± 1,88ab	6,22 ± 0,14bc	10,64 ± 5,15a	5,51 ± 0,37a
	C	28 ± 0,70a	5,73 ± 0,06abd	4,62 ± 1,32b	5,86 ± 0,21a

Diferentes letras indicam diferenças entre as médias pelos testes Anova fatorial e método *Post-hoc* com correção de Bonferroni na determinação das diferenças entre as médias de pH e teste não paramétrico de Friedman com diferenças entre as médias de condutividade elétrica, OD e temperatura da água.

Uma análise de componentes principais (PCA) para caracterização da influência dessas variáveis sobre as duas lagoas nas diferentes estações é demonstrada na Figura 8. Percebe-se que o OD foi a variável que melhor explicou a separação da Lagoa Cabocla em relação à Lagoa Bonita (PC2 – 28,7%), exceto na transição seca-chuva. As demais variáveis (pH, condutividade elétrica e temperatura) explicaram melhor a variação na distribuição dos pontos relacionados à Lagoa Bonita (PC1 – 31,5%), entretanto, sem demonstrar algum agrupamento referente às estações.

Os dois primeiros eixos da PCA explicaram 60,2% da variabilidade dos dados físicos e químicos da água relacionados às diferenças entre as lagoas Bonita e Cabocla nas diferentes estações. O primeiro eixo apresenta o pH como variável mais importante na separação das amostras da Lagoa Bonita, enquanto a condutividade elétrica, a temperatura da água e o oxigênio dissolvido foram mais representativos no segundo eixo, com OD sendo a principal variável na separação das amostras da Lagoa Cabocla. Os coeficientes gerados pela análise são demonstrados na Tabela 4.

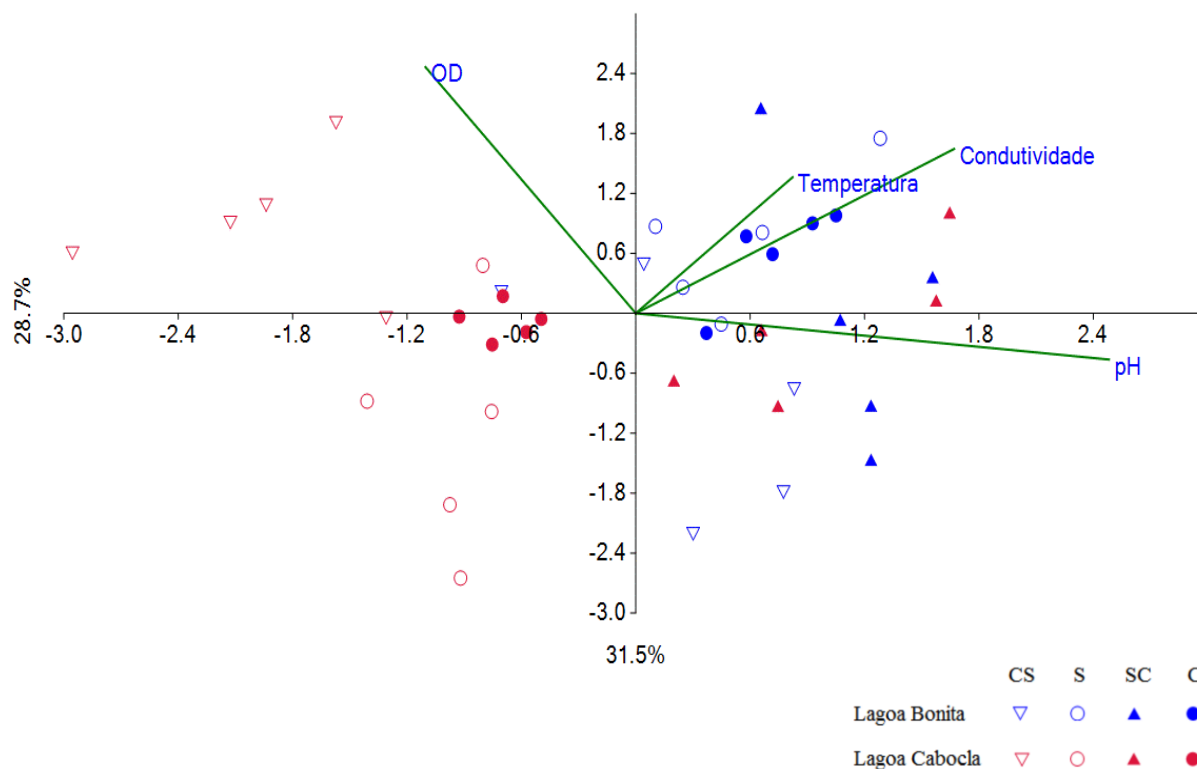


Figura 8. Análise de componentes principais (PCA) representando a distribuição das variáveis físico-químicas da água das lagoas Bonita (azul) e Cabocla (vermelho), nos períodos de transição chuva-seca (CS - triângulo invertido), seca (S - círculo aberto), transição seca-chuva (SC - triângulo preenchido) e chuva (C - círculo preenchido).

Tabela 4. Coeficientes de explicação da variância dos dois primeiros eixos de ordenação da análise de componentes principais (n=5) para as variáveis abióticas medidas para a água nas lagoas Bonita e Cabocla nos quatro diferentes períodos.

Variáveis	PC 1	PC 2
pH	0.75377	-0.14048
Condutividade	0.50711	0.49945
OD	-0.33506	0.74822
Temperatura	0.24982	0.41350

6.2 Avaliação dos parâmetros físico-químicos do sedimento

A análise granulométrica do sedimento (0-5 cm) a partir de uma amostra composta pelos cinco pontos de cada lagoa no período de transição chuva-seca demonstrou que

ambas as lagoas apresentam sedimento argiloso, com pequenas frações de silte e areia (Tabela 5).

Tabela 5. Análise granulométrica de amostras de sedimento (0-5 cm) nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO) coletadas no mês de maio de 2014 (transição chuva-seca).

Granulometria	Lagoa	
	Bonita	Cabocla
Areia grossa (dag/kg)	14	13
Areia fina (dag/kg)	6	8
Silte (dag/kg)	24	32
Argila (dag/kg)	56	47
Classe textural	Argilosa	Argilosa

Nas lagoas Bonita e Cabocla, no período de transição chuva-seca e nas estações seca e chuvosa, o sedimento apresentou pH ácido. Na Lagoa Bonita os valores de pH variaram entre 5,21 (seca) e 4,90 (chuva) e na Lagoa Cabocla a variação foi de 5,33 (seca) a 4,74 (chuva-seca) (Tabela 6).

A matéria orgânica (MO) variou entre 16,48% e 42,22% na Lagoa Bonita. Nos períodos de transição chuva-seca, seca e seca-chuva, a Lagoa Cabocla parece apresentar teores de MO mais elevados que a Lagoa Bonita, variando entre 42,29 % e 49,26 % (Tabela 6).

A soma de bases (SB) variou entre 0,71 cmolc/dm³ (chuva-seca) e 0,88 cmolc/dm³ (seca) na Lagoa Bonita, enquanto na Lagoa Cabocla, os valores variaram entre 0,26 cmolc/dm³ (seca) e 0,65 cmolc/dm³ (chuva). A saturação por bases (V%) foi menor que 7% no sedimento das duas lagoas, com valor mais representativo na Lagoa Bonita durante a seca (6,80%). Na Lagoa Cabocla, o valor máximo foi determinado na estação chuvosa (5,40%). A capacidade de troca catiônica efetiva foi mais acentuada na Lagoa Bonita, variando entre 1,48 cmolc/dm³ (chuva-seca) e 2,02 cmolc/dm³ (chuva) enquanto na Lagoa Cabocla a variação foi de 1,32 cmolc/dm³ (chuva-seca) a 1,55 cmolc/dm³ (chuva) (Tabela 6).

A acidez potencial (H + Al) em ambas as lagoas foi maior que 11 cmolc/dm³, com maiores índices na primeira transição (chuva-seca) para as duas lagoas. A saturação por alumínio (m%) na Lagoa Bonita variou entre 50% e 64,20% nas estações seca e chuvosa, respectivamente. Na Lagoa Cabocla, os valores variaram entre 58,10% na chuva e 83%, na seca (Tabela 6).

Tabela 6. Características químicas das lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO) nos períodos de transição chuva-seca, seca e chuva (maio de 2014 a março de 2015). São demonstrados pH, matéria orgânica (MO), soma de bases trocáveis (SB), índice de saturação por bases (V), capacidade de troca catiônica efetiva (t), potencial de acidez (H + Al) e índice de saturação por alumínio (m). Em negrito estão indicados os valores máximos e mínimos dos diferentes parâmetros.

Lagoa	Bonita			Cabocla		
	chuva-seca	seca	chuva	chuva-seca	seca	Chuva
pH	5,05	5,21	4,90	4,74	5,33	5,20
MO (dag/kg)	42,22	16,48	31,00	49,26	42,29	45,21
SB (cmolc/dm ³)	0,71	0,88	0,72	0,36	0,26	0,65
V (%)	4,50	6,80	5,20	2,40	2,00	5,40
t (cmolc/dm ³)	1,48	1,76	2,02	1,32	1,53	1,55
H + Al (cmolc/dm ³)	14,90	12,10	13,00	14,80	12,60	11,40
m (%)	52,00	50,00	64,40	72,70	83,00	58,10

As concentrações de fósforo remanescente (P-Rem) no sedimento da Lagoa Bonita variaram entre 7,30 mg/kg durante a seca e 16,50 mg/kg na estação chuvosa, enquanto na Lagoa Cabocla as concentrações variaram entre 9,50 mg/kg e 20,10 mg/kg no período de transição chuva-seca e chuva, respectivamente. As concentrações de fósforo disponível aumentaram da estação seca para a estação chuvosa no sedimento das lagoas Bonita (2,1 – 4,3 mg/kg) e Cabocla (4,3 – 7,6 mg/kg). De modo geral, para os períodos avaliados (exceto na transição seca-chuva), as concentrações de P disponível no sedimento da Lagoa Cabocla foram aproximadamente o dobro em relação às da Lagoa Bonita (Figura 9 A).

Maiores concentrações de potássio foram observadas no sedimento da Lagoa Cabocla durante a estação chuvosa (32 mg/kg) e na transição chuva-seca (13 mg/kg). Na Lagoa Bonita, as maiores concentrações desse nutriente foram de 8 mg/kg (transição chuva seca e estação chuvosa) e 9 mg/kg (seca). As concentrações de magnésio variaram de 9,7 mg/kg (chuva) a 14,6 mg/kg (transição chuva-seca e seca) na Lagoa Bonita e de 7,3 mg/kg (seca) a 13,4 mg/kg (transição chuva-seca e chuva) na Lagoa Cabocla (Figura 9 B).

Entre os cátions básicos, as concentrações de cálcio apresentaram os maiores valores no sedimento de ambas as lagoas. As concentrações de Ca²⁺ no sedimento da Lagoa Bonita (114,22 – 148,29 mg/kg) em todas as estações foram maiores que no sedimento da Lagoa Cabocla (36,07 – 88,17 mg/kg). A avaliação das concentrações de alumínio no sedimento demonstrou uma variação de 69,25 mg/kg (transição chuva-seca) a

116,92 mg/kg (chuva) na Lagoa Bonita e de 80,94 mg/kg (transição chuva-seca) a 114,22 mg/kg (seca) na Lagoa Cabocla (Figura 9 C).

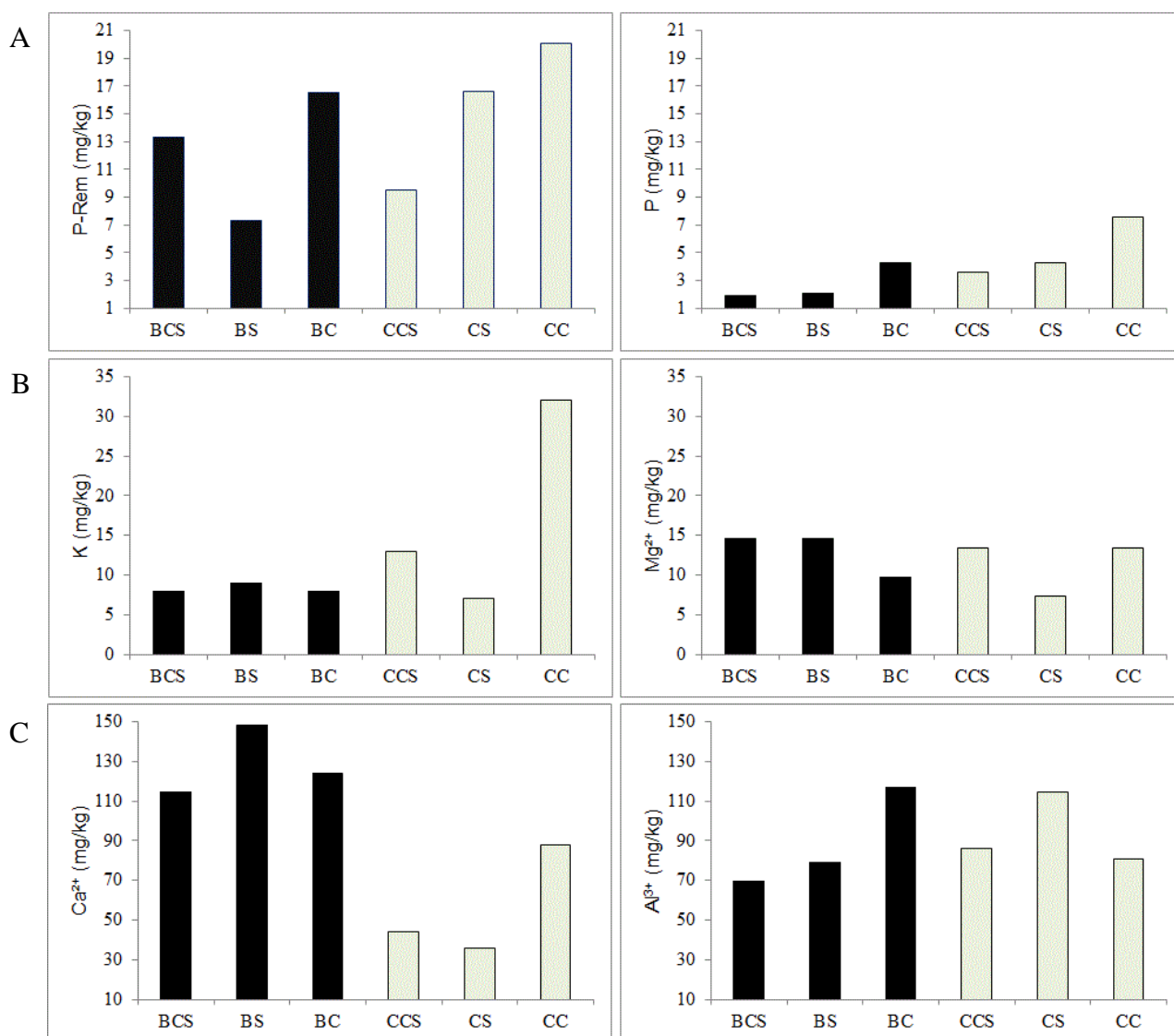


Figura 9. Concentrações (mg/kg) de nutrientes no sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita, localizada em Planaltina-DF e Cabocla, localizada na cidade de Formosa-GO. As concentrações foram mensuradas entre maio de 2014 e março de 2015 compreendendo os períodos de transição chuva-seca (CS), seca (S) e chuva (C) em cada lagoa. (A) Fósforo remanescente e fósforo disponível; (B) potássio e magnésio; (C) cálcio e alumínio. A Lagoa Bonita é representada pela letra inicial B nas colunas em preto e a Lagoa Cabocla é representada pela letra inicial C nas colunas sem preenchimento.

As aferições de carbono total (CT), nitrogênio total (NT) e a razão carbono-nitrogênio (C:N) foram realizadas para os quatro períodos. Na Lagoa Bonita, a concentração de CT variou entre 14% (chuva) e 24% (transição seca-chuva), enquanto na Lagoa Cabocla a variação foi de 21% (seca) a 23% (chuva). Em relação às concentrações de nitrogênio total (NT), a variação na Lagoa Bonita esteve entre 1% (chuva) e 1,6% (transição seca-chuva) e na Lagoa Cabocla a variação foi de 1,6% (transição seca-chuva) a 2% (chuva). Na Lagoa Bonita, a razão C:N variou entre 14 (transição chuva-seca) e 15 (chuva). Já na Lagoa Cabocla os valores foram inferiores, variando entre 12 (chuva) e 13 (transição seca-chuva). Esses resultados são apresentados na Figura 10 A-C.

Para as concentrações de CT, não foi encontrada interação entre lagoa e estações pelo teste ANOVA fatorial ($F = 0,7114$; $p = 0,552399$). Do mesmo modo, não houve diferenças entre as médias de CT observadas entre as lagoas ($F = 1,8992$; $p = 0,177726$) (Figura 11 A) nem entre as estações ($F = 0,3321$; $p = 0,802176$).

Para as concentrações de NT também não houve interação entre lagoa e estações ($F = 0,9450$; $p = 0,430470$) e não diferiram entre as estações ($F = 0,1587$; $p = 0,923296$). No entanto, considerando apenas as lagoas, as concentrações médias de NT apresentaram diferenças ($F = 5,8368$; $p = 0,021577$), sendo maior na Lagoa Cabocla (Figura 11 B). Diferenças na razão C:N também foram encontradas apenas entre as lagoas ($F = 7,82$; $p = 0,0000$), sendo menor na Lagoa Cabocla (Figura 11 C).

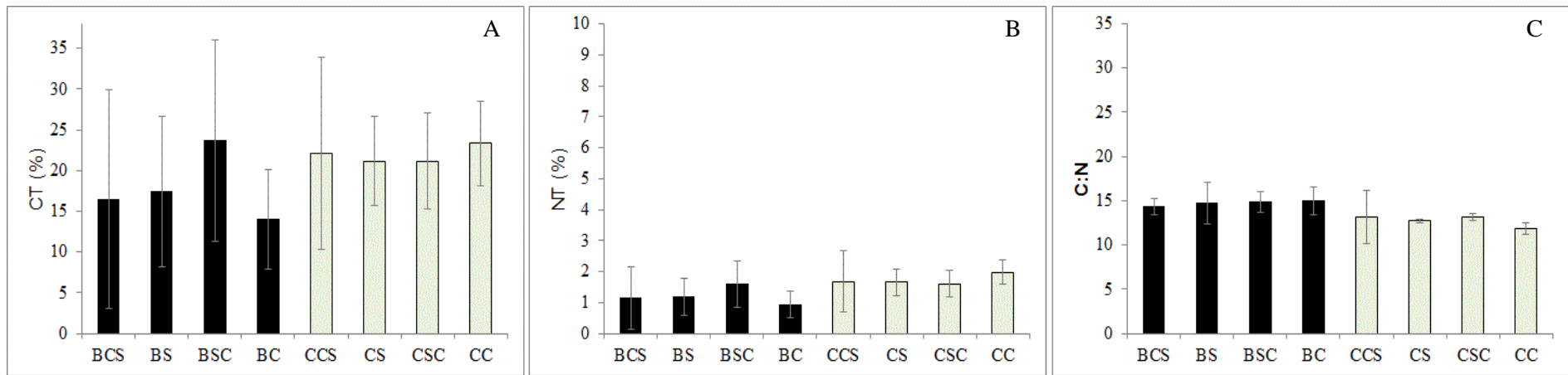


Figura 10. Percentual médio (n=5) das concentrações totais de carbono (A) e nitrogênio (B) e razão C:N (C) no sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita, localizada em Planaltina-DF e Cabocla, localizada na cidade de Formosa-GO. As concentrações foram mensuradas entre maio de 2014 e março de 2015, compreendendo os períodos de transição chuva-seca (CS), seca (S), transição seca-chuva (SC) e chuva (C) em cada lagoa. A Lagoa Bonita é representada pela letra inicial B nas colunas em preto e a Lagoa Cabocla é representada pela letra inicial C nas colunas sem preenchimento.

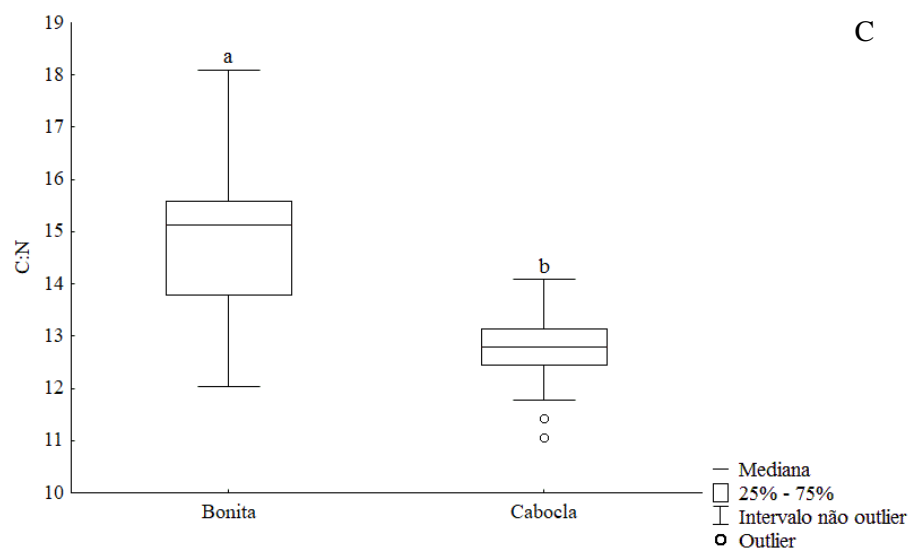
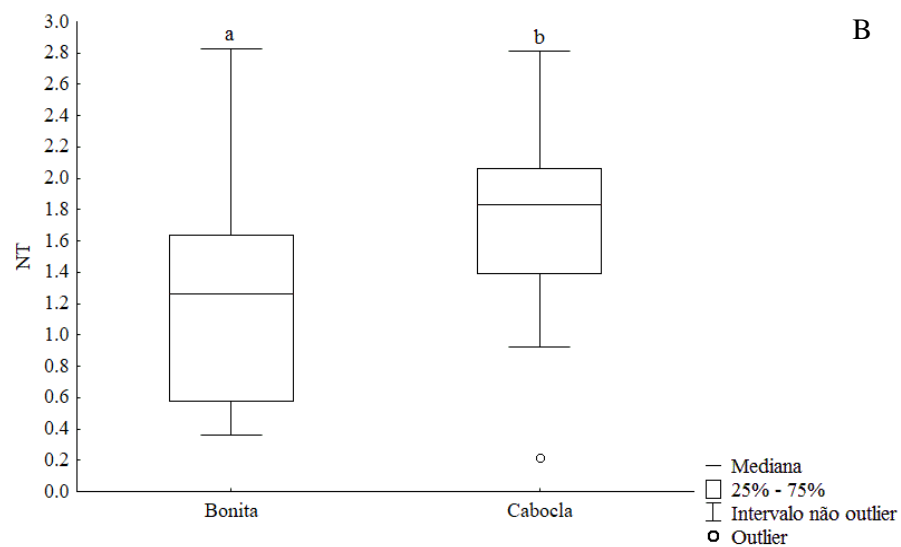
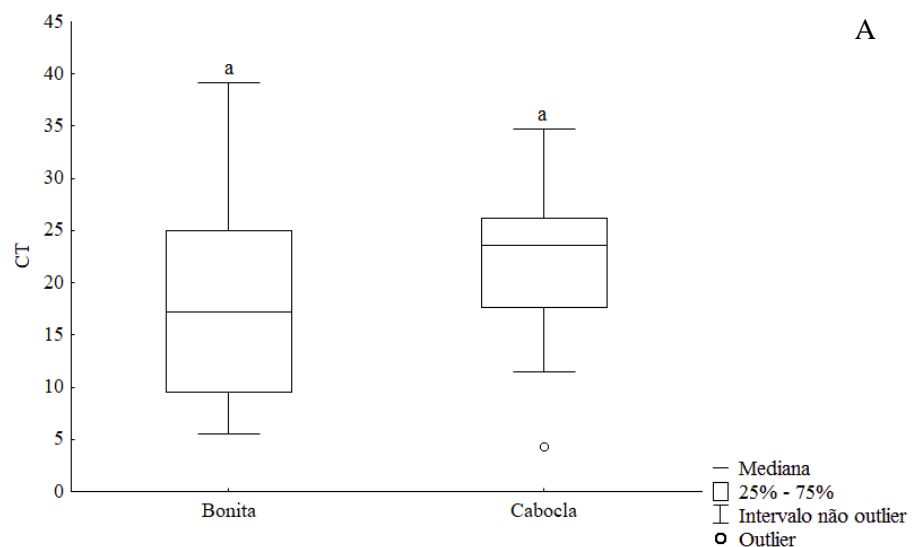


Figura 11. Diferenças nas concentrações totais (%) (n=5) de carbono (A) e nitrogênio (B) e razão C:N (C) na fração 0-5 cm do sedimento entre as lagoas Bonita, localizada em Planaltina-DF e Cabocla, localizada na cidade de Formosa-GO. Para CT ($F = 0,7114$; $p = 0,552399$) e NT ($F = 5,8368$; $p = 0,021577$) as diferenças foram avaliadas pelo teste Anova Fatorial. Para a razão C:N as diferenças foram dadas pelo teste não paramétrico de Friedman ($F = 7,82$; $p = 0,0000$). As diferentes letras indicam as diferenças.

6.3 Análise do perfil das comunidades microbianas por meio de DGGE

Nas duas lagoas e em todas as estações (transição chuva-seca, seca e transição seca-chuva e chuva), os perfis eletroforéticos das comunidades microbianas obtidos por meio de PCR-DGGE apresentaram grande número de bandas para a maioria das amostras.

Na transição chuva-seca, as duas lagoas mantêm cerca de 70% de similaridade para o cluster que as agrupa. Neste período as maiores distâncias de similaridade são observadas entre as amostras da Lagoa Bonita (aproximadamente 42%), enquanto na Lagoa Cabocla os perfis gerados das comunidades são altamente similares entre as amostras avaliadas (cerca de 80%).

Na estação seca, as amostras foram agrupadas claramente em dois clusters principais que separam as duas lagoas com aproximadamente 65% de similaridade. Nesta estação, a distribuição das amostras entre os agrupamentos gerados revela um perfil de distribuição dos agrupamentos das amostras mais homogêneo dentro de cada lagoa, porém com menor similaridade.

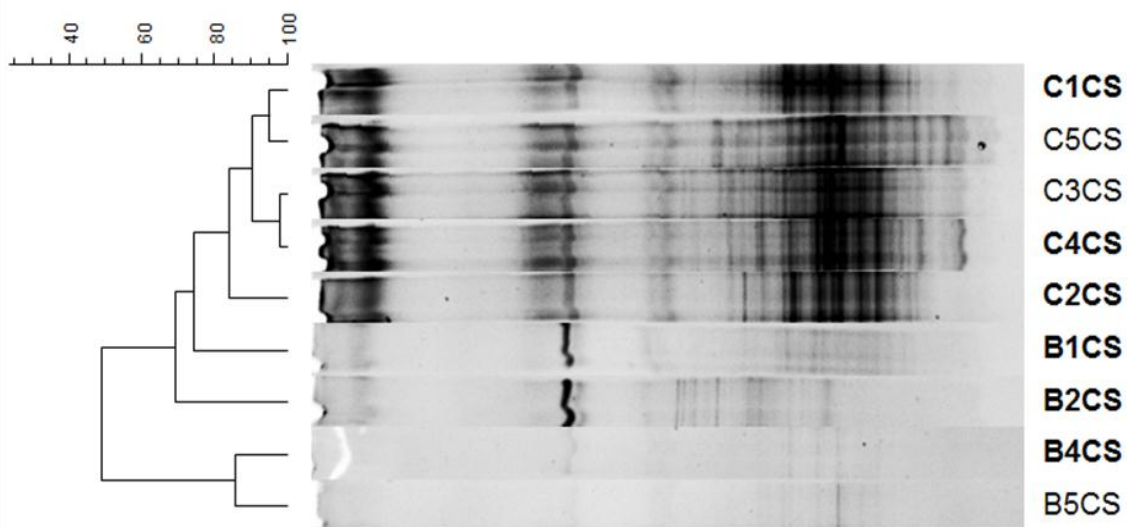
Na segunda transição (seca-chuva), as lagoas foram agrupadas com 85% de similaridade. No entanto, duas amostras da Lagoa Bonita se agruparam em um cluster separado que compartilha cerca de 80% de similaridade com o cluster de agrupamento das duas lagoas.

Na estação chuvosa, as lagoas se agrupam com aproximadamente 73% de similaridade. Uma amostra da Lagoa Cabocla foi melhor agrupada com as amostras da Lagoa Bonita. Ao contrário do padrão observado nos períodos anteriores em que a Lagoa Cabocla apresenta maior similaridade entre os agrupamentos das suas amostras, na estação chuvosa, o perfil observado aponta para maior diversidade de bandas nesta lagoa quando comparada a Lagoa Bonita no mesmo período.

As análises multivariadas dos perfis da comunidade microbiana avaliada com base no coeficiente Dice de similaridade e método UPGMA para construção dos agrupamentos no programa BioNumerics® são representadas nas Figuras 13 e 14.

Transição chuva-seca

A



Seca

B

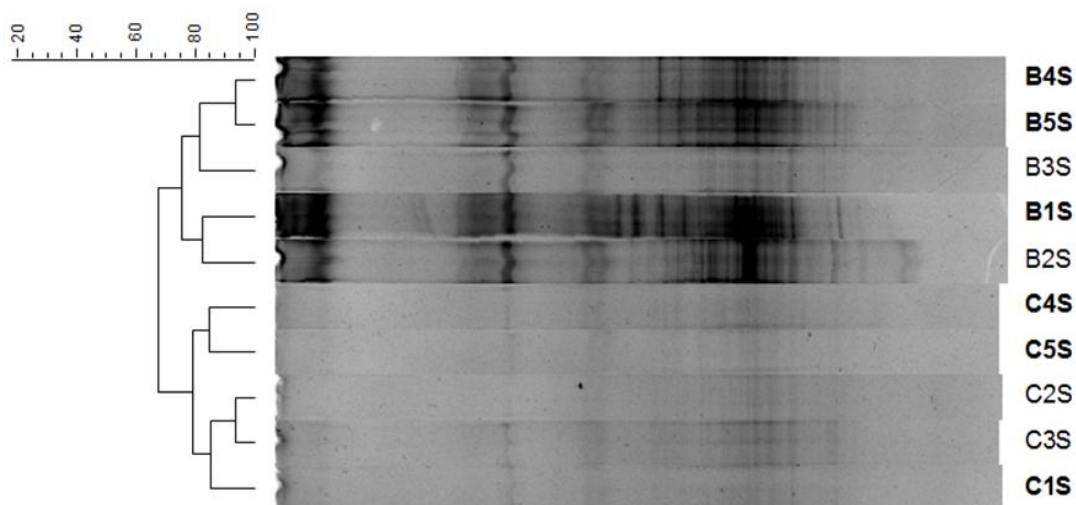
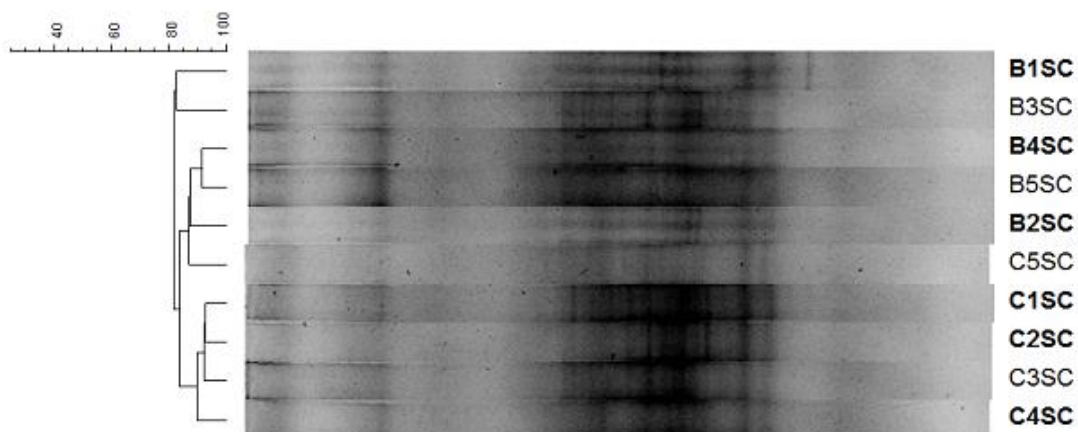


Figura 12. Dendrograma dos perfis eletroforéticos de DGGE com base no gene 16S rRNA das comunidades microbianas presentes no sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO). As letras iniciais B e C representam as lagoas Bonita e Cabocla, respectivamente. [A] transição chuva-seca (CS); [B] estação seca (S). Os números entre lagoa e estação indicam o ponto de coleta. Os códigos em negrito indicam os pontos cujas amostras foram submetidas ao pirosequenciamento.

Transição seca-chuva

A



Chuva

B

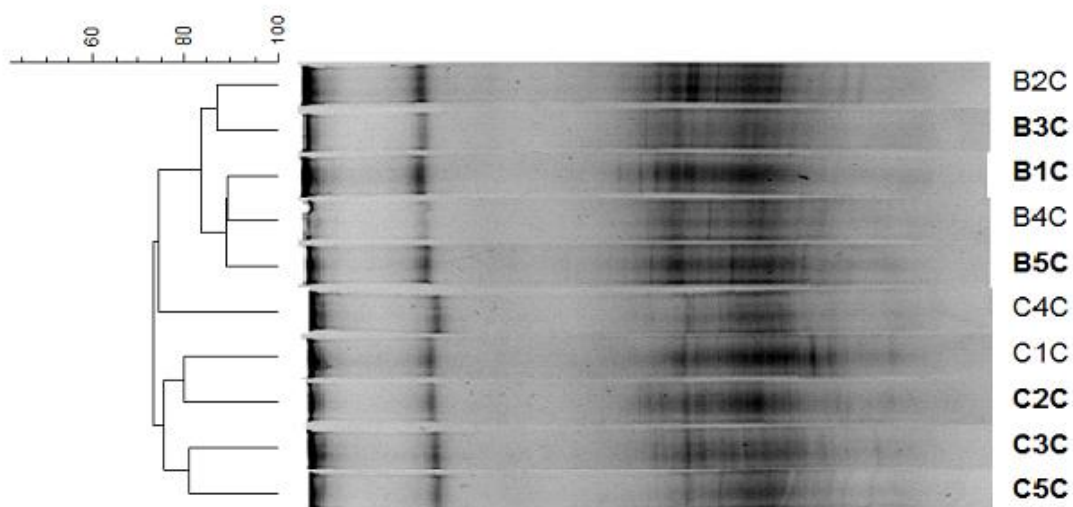


Figura 13. Dendrograma dos perfis eletroforéticos de DGGE com base no gene 16S rRNA das comunidades microbianas presentes no sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO). As letras iniciais B e C representam as lagoas Bonita e Cabocla, respectivamente. [A] transição seca-chuva (SC); [B] estação chuvosa (C). Os números entre lagoa e estação indicam o ponto de coleta. Os códigos em negrito indicam os pontos cujas amostras foram submetidas ao pirosequenciamento.

6.4 Descrição das comunidades microbianas

O pirosequenciamento gerou um total de 281.205 sequências (132.326 da Lagoa Bonita e 148.879 da Lagoa Cabocla) a partir das 12 amostras de cada lagoa (três amostras por período de coleta). Após aplicação dos filtros e checagem de quimeras, aproximadamente 19% do total de sequências foram descartadas, enquanto 103.896 e 125.148 sequências de alta qualidade das lagoas Bonita e Cabocla, respectivamente, com comprimento médio de 400 pb, foram mantidas e analisadas.

A taxonomia atribuída aos grupos microbianos a partir da comparação com sequências representativas do banco de dados SILVA (2013) abrangeu os domínios Bacteria e Archaea, como demonstra a Figura 14.

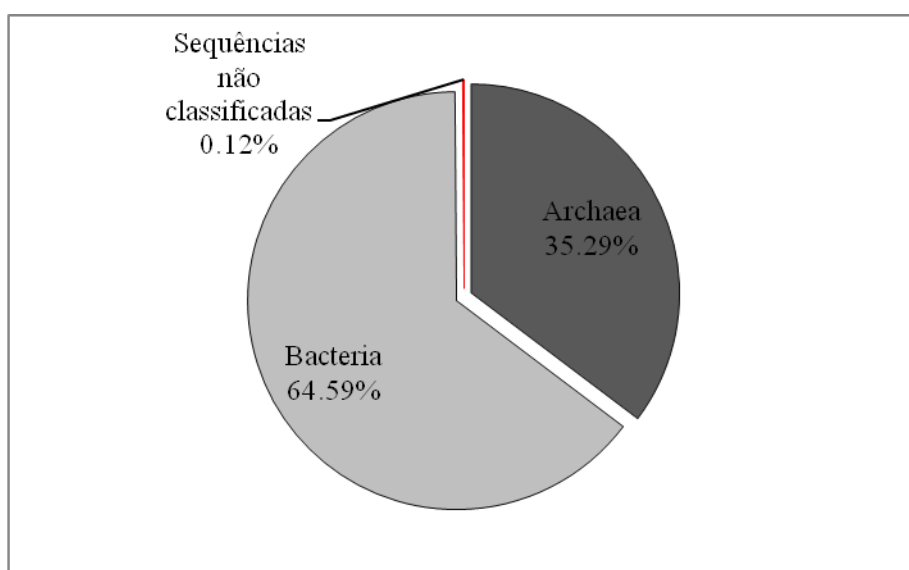


Figura 14. Percentual de classificação das sequências do gene 16S rRNA nos domínios Bacteria e Archaea, após aplicação dos filtros de qualidade por meio do *pipeline* QIIME e atribuição taxonômica por meio do banco de dados SILVA.

O número total de táxons bacterianos foi 943, enquanto para Archaeas foram observados 78 táxons (Figura 15). Esses números equivalem à quantidade de táxons determinados a partir da análise taxonômica do conjunto de sequências, considerando 3% de distância evolutiva (nível taxonômico de gênero).

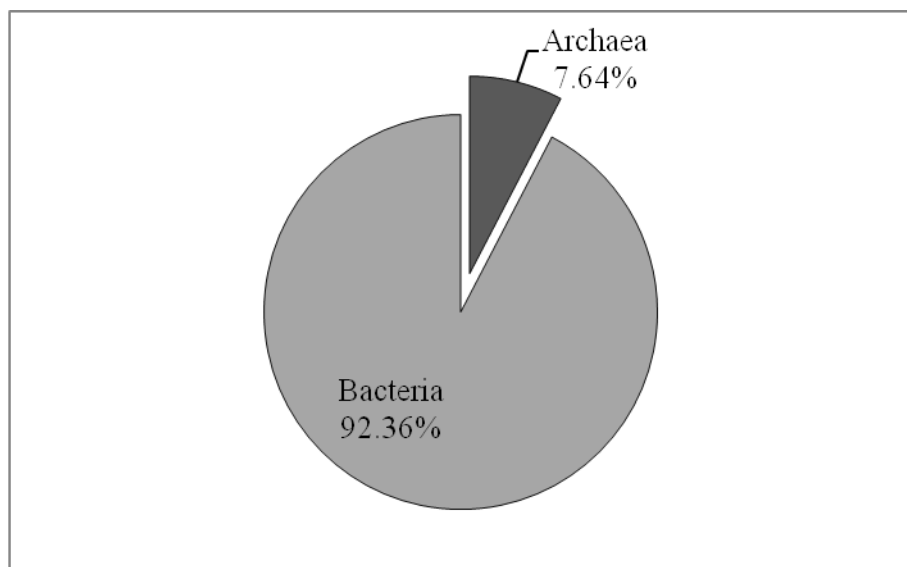


Figura 15. Percentual relativo ao número de táxons observados para os domínios Bacteria e Archaea após classificação taxonômica baseada no nível taxonômico de gênero em amostras de sedimentos (0-5 cm) coletadas entre maio de 2014 a março de 2015 nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO).

6.5 Composição da comunidade Bacteriana

6.5.1 Filos

Foram identificados 45 filios bacterianos e um grupo de bactérias não classificado. Destes filios, apenas seis (Proteobacteria, Acidobacteria, Firmicutes, Chloroflexi, Planctomycetes e Nitrospirae) foram abundantes (frequência igual ou superior a 1%) em todas as lagoas e em todas as estações (Tabela 7).

Outros nove filios (Verrucomicrobia, Actinobacteria, Chlorobi, Spirochaetae, OP8, Chlamydiae, WD272, Bacteroidetes, TM6) e o grupo não classificado (Bacteria; NC) foram abundantes em pelo menos um dos quatro períodos avaliados (Tabela 8).

Tabela 7. Abundância relativa dos filos com frequência $\geq 1\%$ no sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO), nos períodos de transição chuva-seca, seca, transição seca-chuva e chuva (maio de 2014 a março de 2015), acessados através de pirosequenciamento do gene 16S rRNA.

Filo	Lagoa Bonita				Lagoa Cabocla			
	chuva-seca	seca	seca-chuva	chuva	chuva-seca	seca	seca-chuva	chuva
Proteobacteria	11,04	19,90	14,01	14,30	17,17	24,72	22,98	22,94
Acidobacteria	5,50	9,45	6,82	10,07	13,81	13,43	17,55	20,75
Firmicutes	22,41	7,24	4,59	9,37	10,29	2,40	2,24	1,75
Chloroflexi	1,73	2,61	2,11	2,68	11,32	4,28	3,90	6,00
Planctomycetes	3,92	5,50	3,60	5,06	7,89	4,67	5,20	4,87
Nitrospirae	1,70	1,92	1,08	1,33	2,32	2,72	3,30	4,38

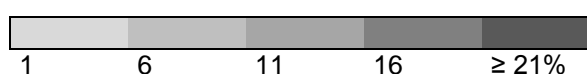


Tabela 8. Filos bacterianos considerados abundantes (frequência $\geq 1\%$) em pelo menos um dos quatro períodos (transição chuva-seca, seca, transição seca-chuva e chuva) avaliados entre maio de 2014 a março 2015 para o sedimento (0-5 cm) nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO). Bacteria;NC – grupo não classificado.

Filo	Lagoa Bonita				Lagoa Cabocla			
	chuva-seca	seca	seca-chuva	chuva	chuva-seca	seca	seca-chuva	chuva
Verrucomicrobia	1,39	2,62	0,82	1,31	1,63	2,84	3,09	2,42
Actinobacteria	0,72	1,04	0,56	0,77	2,37	1,82	1,45	1,43
Chlorobi	0,61	1,24	0,85	1,34	0,68	2,06	1,40	1,56
Spirochaetae	0,76	1,81	1,11	1,70	0,34	1,42	1,12	1,38
Bacteria;NC	0,70	1,65	0,96	2,18	0,56	1,06	0,89	0,80
OP8	0,41	1,28	1,05	1,39	0,18	0,47	0,50	0,34
Chlamydiae	0,22	0,70	0,20	0,34	1,16	0,79	0,68	1,12
WD272	0,01	0,15	0,01	0,01	1,00	0,37	0,28	0,25
Bacteroidetes	4,08	0,92	0,35	0,53	0,30	0,97	0,74	0,36
TM6	0,08	0,39	0,09	0,20	0,46	1,09	0,43	0,31



Outros filios bacterianos menos abundantes e comuns nas duas lagoas (Figura 16) foram Armatinomadetes, candidatos às divisões BD1-5, BRC1, OD1, OP11, OP3, SR1, TM7, WS3, Cyanobacteria, Deferribacteres, Deinococcus-Thermus, Dictyoglomi, Elusimicrobia, Fibrobacteres, GAL08, GOUTA4, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, NPL-UPA2, SHA-109, TA06, Thermatogae, WCHB1-60.

SR1 foi recuperado somente na estação chuvosa na Lagoa Bonita e no período de transição seca-chuva na Lagoa Cabocla. Dictyoglomi foi identificado na Lagoa Bonita somente na seca e na transição entre esta estação e o período chuvoso, enquanto na Lagoa Cabocla, foi observado na mesma transição e na chuva. Na Lagoa Bonita o filo GAL08 não aparece na estação seca e na Lagoa Cabocla, o mesmo filo não aparece na estação chuvosa. SHA-109 também não aparece na Lagoa Bonita no período de transição seca-chuva. Thermatogae não foi recuperado na estação chuvosa na Lagoa Bonita e finalmente WCHB1-60 não foi identificado na estação seca e na chuva, nesta lagoa, bem como também não foi observado na estação seca na Lagoa Cabocla.

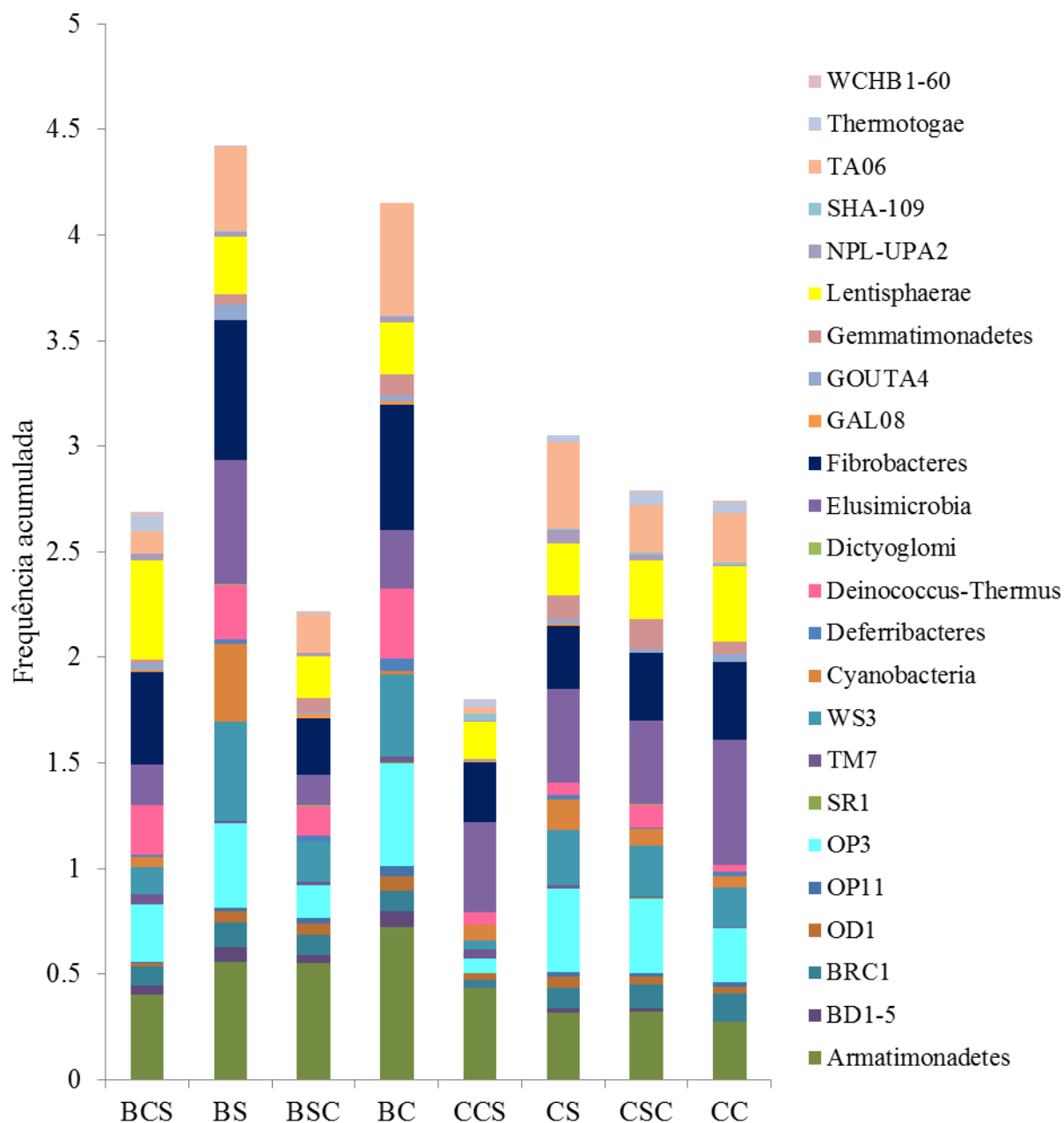


Figura 16. Representação dos filos menos abundantes no sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO) nos períodos de transição chuva-seca (CS), seca (S), transição seca-chuva (SC) e chuva (C) (maio de 2014 a março de 2015). As letras iniciais B e C representam as lagoas Bonita e Cabocla, respectivamente.

Apesar da variação na abundância relativa dos filamentos entre as estações, não foi encontrada diferença estatística ($p > 0,05$) na abundância de nenhum grupo quando os períodos foram associados na análise. Por outro lado, foram observadas diferenças na abundância de alguns filamentos entre as lagoas. Entre os grupos mais abundantes nas duas lagoas, houve diferenças estatísticas na proporção de sequências apenas dos filamentos Chloroflexi ($p = 0,015$), WD272 ($p = 0,015$) que apresentaram maior proporção na Lagoa Cabocla, OP8 ($p = 0,015$) e do grupo não classificado denominado como Bacteria;NC ($p = 0,030$), que ao contrário, foram maiores na Lagoa Bonita (Figura 17 e Figura 18). Entre os filamentos menos abundantes, foram observadas diferenças nas proporções de sequências afiliadas a BD1-5 ($p = 0,030$), com maior proporção na Lagoa Bonita e Gemmatimonadetes ($p = 0,030$), com maior proporção de sequências na Lagoa Cabocla (Figura 19).

Observou-se ainda a presença de quatro filamentos bacterianos únicos (Caldiserica, KB1, e WS6 e Synergistetes) na Lagoa Bonita, enquanto na Lagoa Cabocla foi recuperado apenas um filamento bacteriano único (BHI80-139). Todos esses grupos tiveram frequência inferior a 1% e não apareceram em todas as estações, como demonstra a Tabela 9. A maior presença de filamentos únicos na Lagoa Bonita é observada especialmente na estação chuvosa, seguida da estação seca. Somente os filamentos KB1 e Synergistetes são exclusivos nos períodos de chuva e na transição chuva-seca, respectivamente. Já na Lagoa Cabocla, o filamento único recuperado (BHI80-139) aparece na primeira transição (chuva-seca), na seca e na chuva.

Tabela 9. Filamentos bacterianos únicos recuperados em baixa abundância (frequência < 1%) a partir de amostras de sedimento (0-5 cm) coletadas entre maio de 2014 e março de 2015, compreendendo os períodos de transição chuva-seca, seca, transição seca-chuva e chuva nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO). O sinal “+” indica a presença dos respectivos filamentos.

Filo	Bonita				Cabocla			
	chuva-seca	seca	seca-chuva	chuva	chuva-seca	seca	seca-chuva	chuva
BHI80-139					+	+		+
Caldiserica		+	+	+				
KB1				+				
WS6		+		+				
Synergistetes	+							

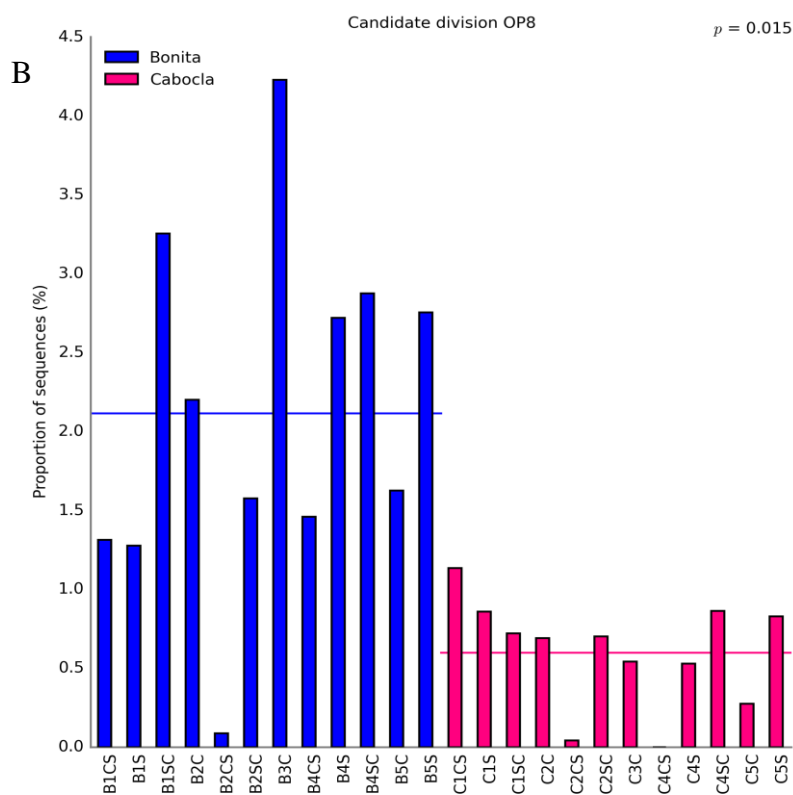
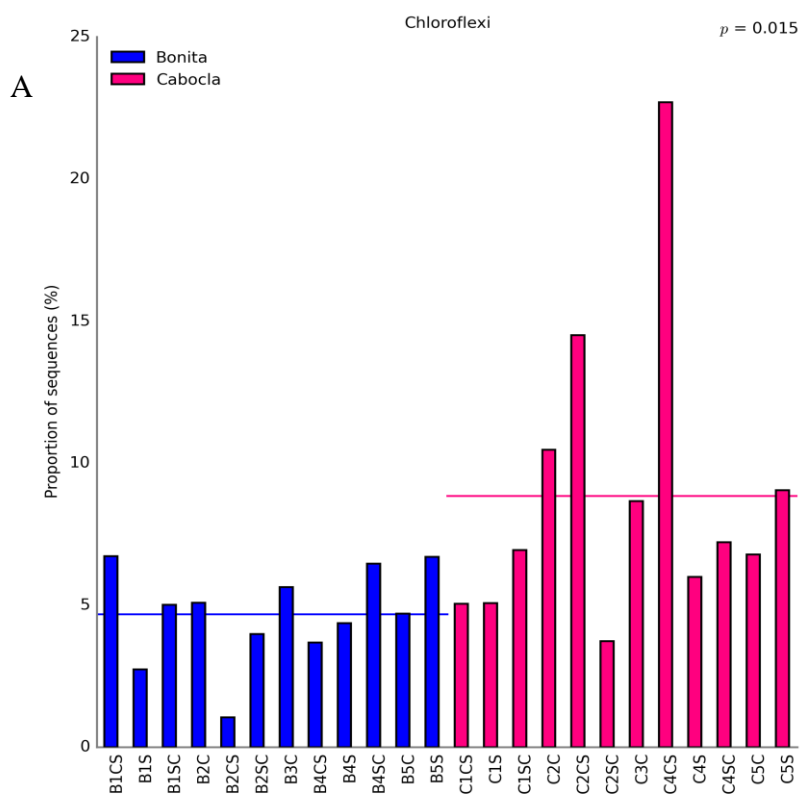


Figura 17. Diferenças ($p < 0,05$) na proporção relativa de seqüências dos filos bacterianos Chloroflexi (A) e OP8 (B) em cada amostra de sedimento (0-5 cm) coletadas entre maio de 2014 e março de 2015 nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO) utilizando o teste não paramétrico White's t-teste com correção de Bonferroni no programa STAMP. O valor médio para cada grupo é demonstrado em forma de linha.

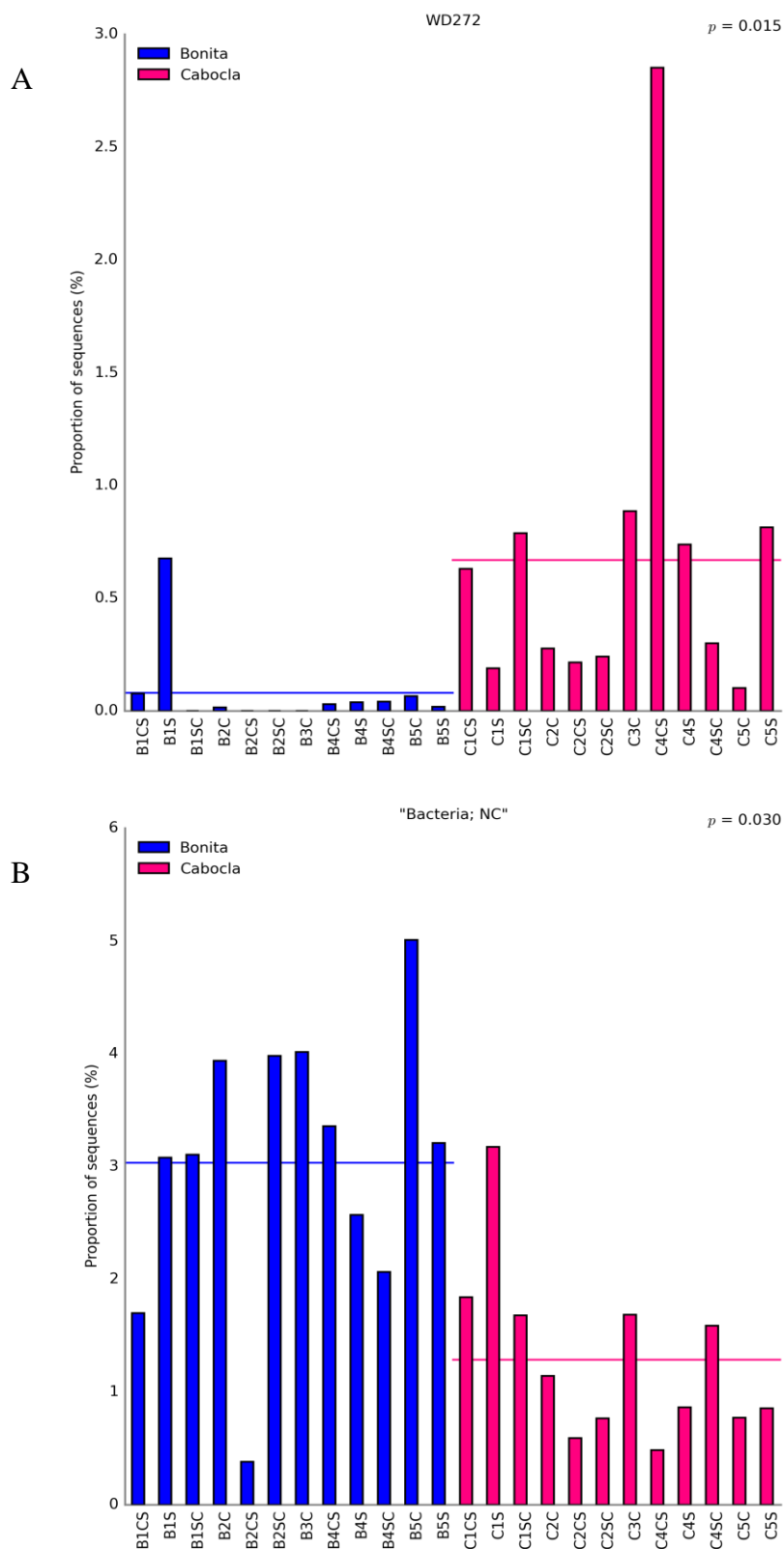
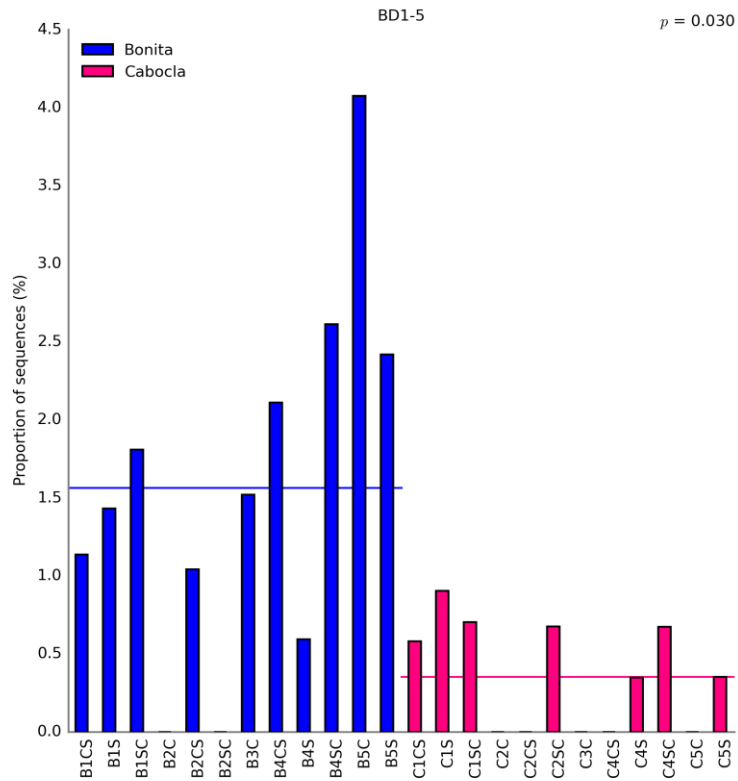


Figura 18. Diferenças ($p < 0,05$) na proporção relativa de seqüências dos filos bacterianos WD272 (A) e do grupo não classificado Bacteria;NC (B) em cada amostra de sedimento (0-5 cm) coletadas entre maio de 2014 e março de 2015 nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO) utilizando o teste não paramétrico White's t-teste com correção de Bonferroni no programa STAMP. O valor médio para cada grupo é demonstrado em forma de linha.

A



B

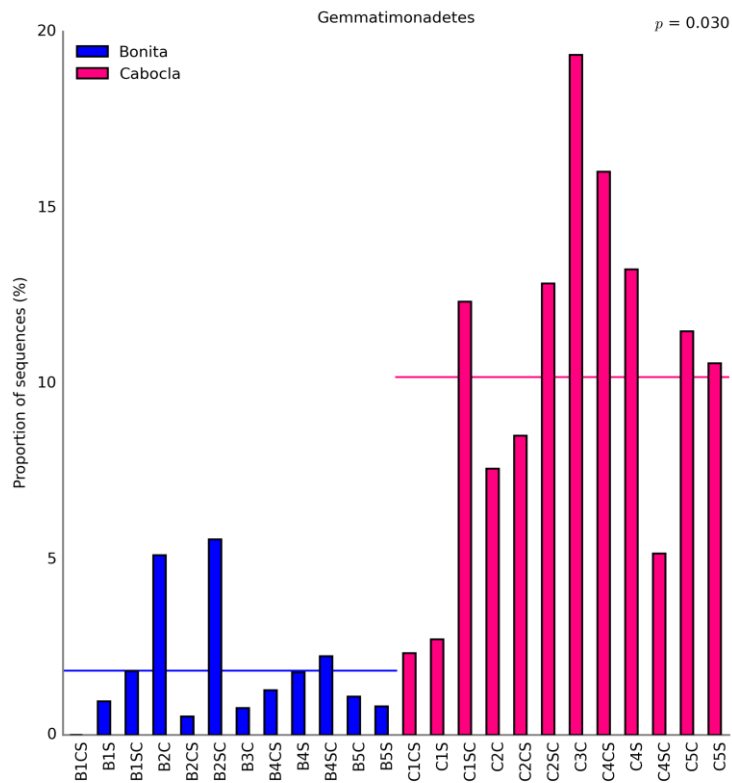


Figura 19. Diferenças ($p < 0,05$) na proporção relativa de seqüências dos filos bacterianos BD1-5 (A) e Gemmatimonadetes (B) em cada amostra de sedimento (0-5 cm) coletadas entre maio de 2014 e março de 2015 nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO) utilizando o teste não paramétrico White's t-teste com correção de Bonferroni no programa STAMP. O valor médio para cada grupo é demonstrado em forma de linha.

6.5.2 Interações entre a composição bacteriana em nível de filo e variáveis ambientais

Demonstramos neste estudo a importância relativa das variáveis ambientais sobre a abundância dos principais filos de bactérias encontrados. Os resultados da seleção de modelos indicou que todas as variáveis da água e do sedimento foram importantes para explicar a abundância dos grupos, embora os diferentes grupos tenham apresentado diferenças na ordem de importância relativa de cada variável mensurada.

A condutividade elétrica da água foi a variável mais importante entre aquelas medidas para explicar a abundância do filo Proteobacteria, seguida da razão C:N no sedimento. Já para Acidobacteria, a profundidade da coluna d'água foi a variável com maior poder explicativo sobre a abundância do grupo, seguida novamente da razão C:N. A abundância do filo Firmicutes foi explicada principalmente pelas variáveis NT e OD. Quanto aos filos Chloroflexi e Planctomycetes, as variáveis de maior importância relativa foram pH e OD da água. Já o filo Nitrospirae foi principalmente associado às variáveis CN e OD. Esses resultados são demonstrados na Figura 20.

Entre os grupos descritos como abundantes em pelo uma estação e lagoa, o filo Verrucomicrobia foi associado especialmente à condutividade elétrica da água, que apresentou influência positiva sobre este filo. O pH foi a variável de maior importância relativa para explicar a abundância do filo Actinobacteria no sedimento, seguido da variável profundidade. A abundância do filo Chlorobi foi melhor explicada pela temperatura da água e NT. Spirochaetae foi determinado principalmente pela condutividade elétrica da água, que apresentou efeito positivo sobre a abundância desse grupo. A abundância do grupo de bactérias não classificadas (Bacteria;NC) foi determinada pela condutividade elétrica da água, seguida da razão C:N, ambas com efeito positivo. Para o filo candidato à divisão OP8, a variável profundidade foi a de maior importância relativa, seguida da condutividade elétrica da água para explicar a abundância deste grupo, ambas com efeito positivo. Em relação ao filo Chlamydiae, as variáveis OD e CN foram as mais importantes sobre a abundância do filo. WD272 foi melhor determinado pelo pH, NT e CT. A abundância de Bacteroidetes foi melhor explicada pelo OD. Finalmente, a abundância filo TM6 foi melhor descrita pela temperatura da água, seguida das concentrações de. Os resultados podem ser visualizados nas Figuras 21 e 22.

Devido à quantidade de dados gerados, entre os filos menos abundantes, a seleção de modelos foi realizada apenas para o grupo BD1-5 e Gemmatimonadetes, os quais apresentaram diferenças na proporção de sequências entre as lagoas. A razão C:N no sedimento, seguida da condutividade elétrica da água e do CT no sedimento, foram as variáveis que melhor explicaram a abundância do filo BD1-5. Somente o CT apresentou

efeito negativo sobre o grupo. Já a profundidade e o pH da água e mais uma vez a razão C:N foram determinantes na abundância do filo Gemmatimonadetes. Para este grupo, o CT no sedimento teve efeito positivo. Para estes dois grupos os resultados são demonstrados na Figura 23.

As tabelas do teste de seleção de modelos podem ser consultadas no Apêndice C.

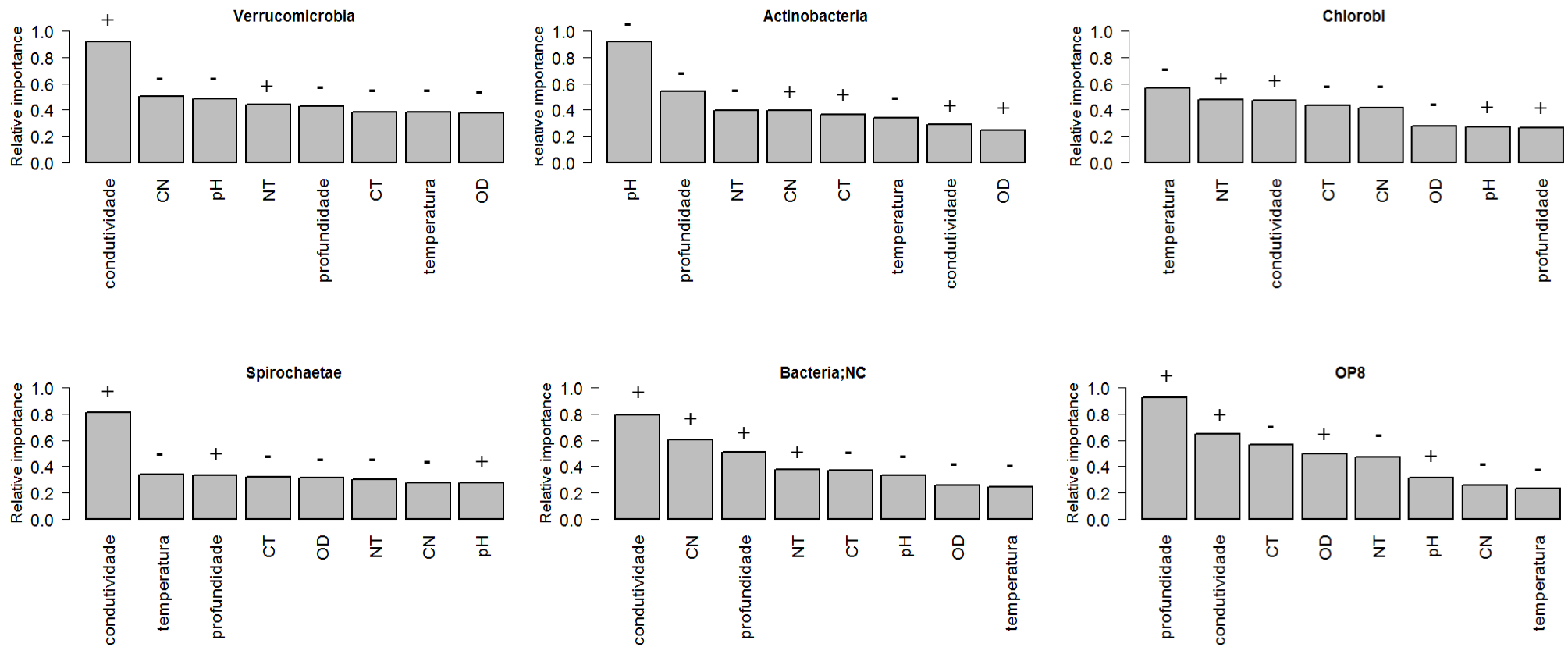


Figura 21. Importância relativa das variáveis ambientais da água (temperatura, pH, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido) e do sedimento (carbono e nitrogênio totais e razão C:N) sobre a abundância dos filis bacterianos com frequência acima de 1% em pelo menos estação, identificados no sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO), entre os meses de maio de 2014 e março de 2015. A importância das variáveis foi dada por meio da seleção de modelos realizada através do teste GLM. Os efeitos positivo e negativo das variáveis sobre os grupos de organismos são indicados acima das colunas pelos sinal “+” e “-”, respectivamente. OD – oxigênio dissolvido na água, CT – carbono total no sedimento, NT – nitrogênio total no sedimento, CN – razão C:N no sedimento.

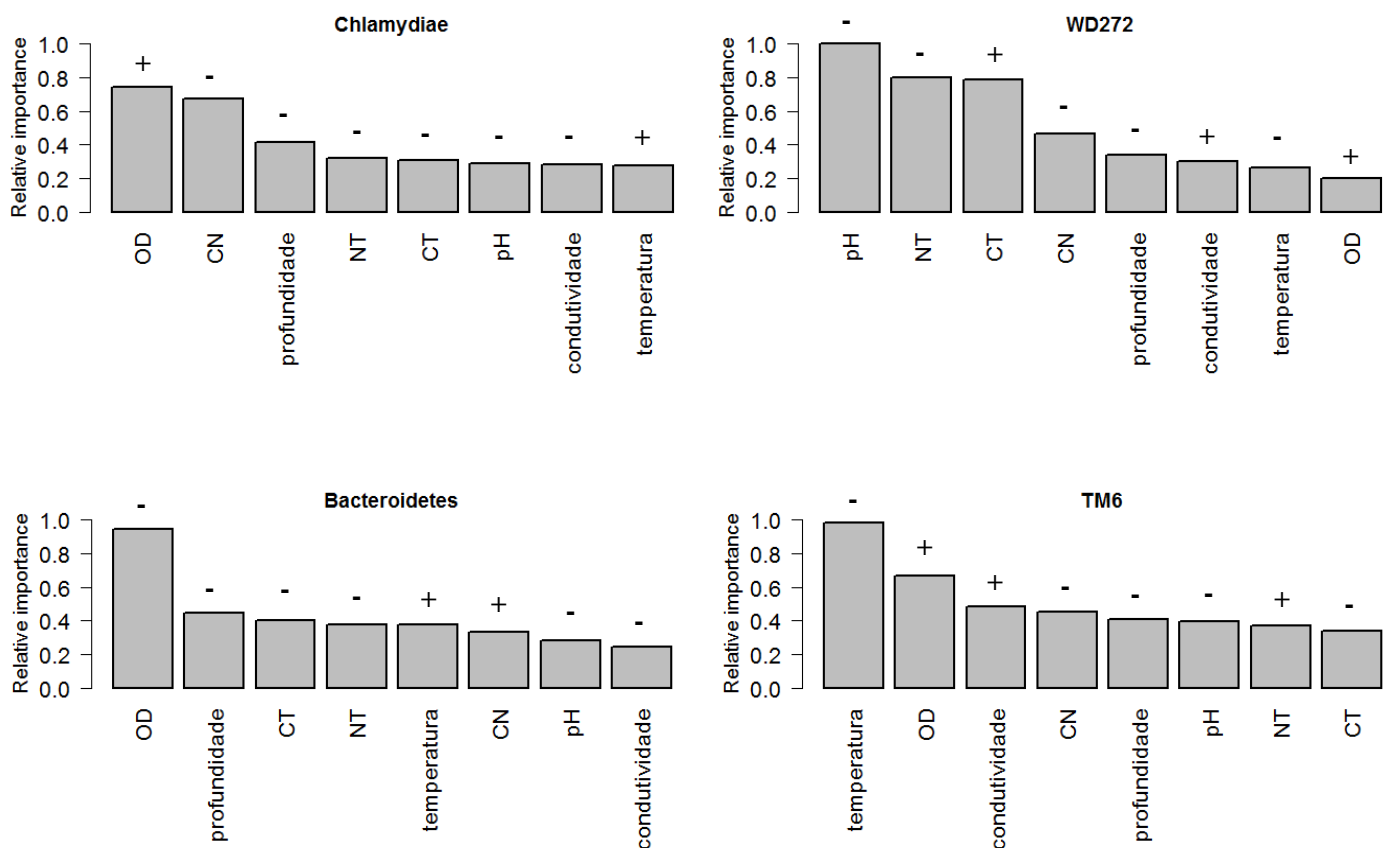


Figura 22. Importância relativa das variáveis ambientais da água (temperatura, pH, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido) e do sedimento (carbono e nitrogênio totais e razão C:N) sobre a abundância dos filos bacterianos com frequência acima de 1% em pelo menos estação, identificados no sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO), entre os meses de maio de 2014 e março de 2015. A importância das variáveis foi dada por meio da seleção de modelos realizada através do teste GLM. Os efeitos positivo e negativo das variáveis sobre os grupos de organismos são indicados acima das colunas pelos sinal “+” e “-”, respectivamente. OD – oxigênio dissolvido na água, CT – carbono total no sedimento, NT – nitrogênio total no sedimento, CN – razão C:N no sedimento.

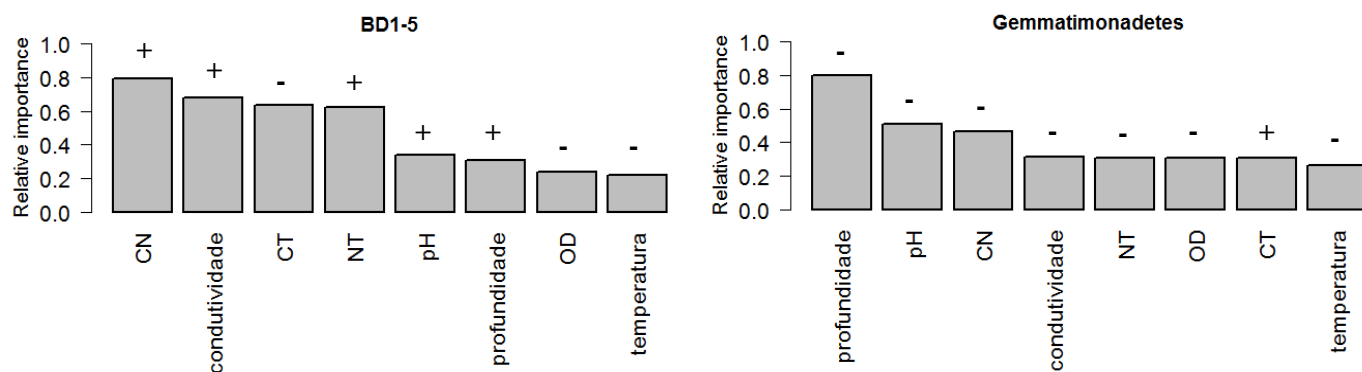


Figura 23. Importância relativa das variáveis ambientais da água (temperatura, pH, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido) e do sedimento (carbono e nitrogênio totais e razão C:N) sobre dois filos bacterianos menos abundantes identificados no sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO), entre os meses de maio de 2014 e março de 2015. A importância das variáveis foi dada por meio da seleção de modelos realizada através do teste GLM. Os efeitos positivo e negativo das variáveis sobre os grupos de organismos são indicados acima das colunas pelos sinal “+” e “-”, respectivamente. OD – oxigênio dissolvido na água, CT – carbono total no sedimento, NT – nitrogênio total no sedimento, CN – razão C:N no sedimento.

6.5.3 Classes e gêneros

As classes mais abundantes do filo Proteobacteria foram Deltaproteobacteria e Alphaproteobacteria, respectivamente. Na classe Deltaproteobacteria, houve dominância dos gêneros *Anaeromyxobacter*, *Desulfobacca* e gêneros indicados como “não cultiváveis”. Na classe Alphaproteobacteria predominaram o gênero *Rhodomicrobium* e gêneros não classificados.

No filo Acidobacteria, predominaram os gêneros *Bryobacter* e *Candidatus Solibacter*, e ainda vários grupos de organismos não cultiváveis pertencentes à classe também denominada Acidobacteria.

As classes mais abundantes dentro do filo Firmicutes foram Clostridia, Negativicutes, Bacilli e OPB54. A análise de frequência dos gêneros afiliados a estas classes indicou a dominância de *Clostridium sensu stricto 1* e de gêneros não cultiváveis e outros três indicados como não classificados dentro da classe Clostridia. Outros gêneros abundantes foram *Bacillus* (classe Bacilli) e grupos não classificados pertencentes às classes Negativicutes e OPB54.

No filo Chloroflexi, diferentes classes de bactérias não cultiváveis foram identificadas, das quais, JG37-AG-4 e Ktedonobacteria, tiveram maior abundância de gêneros indicados apenas como “não cultiváveis”.

O filo Planctomycetes foi principalmente representado pela classe Planctomycetacia. Dentro desta classe, predominou o gênero *Isosphaera* e outros dois grupos com gêneros descritos como não cultiváveis e não classificados. O filo Nitrospirae foi inteiramente representado pela classe Nitrospira, com gêneros bacterianos não cultiváveis.

Dos filios apresentados na Tabela 8, apenas Verrucomicrobia, Chlorobi e Spirochaetae apresentaram classes com frequência igual ou acima de 1%. Análise de frequência das sequências em nível taxonômico de gênero indicou ainda a presença de um gênero desconhecido (não classificado) cuja sequência foi afiliada à classe OPB35 soil group (filio Verrucomicrobia). O gênero *Spirochaeta* (classe Spirochaetes/filio Spirochaetae) e um grupo indicado como não classificado em nível de gênero dentro da classe Ignavibacteria (filio Chlorobi) também foi recuperado em abundância, além de grupos não classificados, indicados apenas como pertencentes ao domínio Bacteria.

6.6 Composição da comunidade Archaea

Foram identificados três filios pertencentes ao domínio Archaea (Crenarchaeota, Euryarchaeota e Thaumarchaeota) e dois grupos de Archaea não classificadas (uncultured archaeon e Archaea;NC). Destes filios, apenas Euryarchaeota e Thaumarchaeota foram considerados abundantes (frequência $\geq 1\%$) nas duas lagoas e nos diferentes períodos (Tabela 10).

Em relação aos grupos menos abundantes, mas comuns nas duas lagoas (Figura 24) foram encontrados o filio Crenarchaeota e um grupo de Archaea não classificado. A Lagoa Bonita apresentou um grupo único do domínio Archaea identificado como não cultivável (uncultured archaeon), exclusivamente na estação chuvosa, em frequência inferior a 1%. Um *heatmap* com o agrupamento e distribuição da abundância de todos os filios em cada amostra é representado na Figura 25.

Tabela 10. Abundância relativa dos filos pertencentes a Archaea com frequência $\geq 1\%$ no sedimento (0-5 cm) coletado entre maio de 2014 e março de 2015, compreendendo os períodos de transição chuva-seca, seca, transição seca-chuva e chuva, nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO), acessados através de pirosequenciamento do gene 16S rRNA.

Filo	Lagoa Bonita				Lagoa Cabocla			
	chuva-seca	seca	seca-chuva	chuva	chuva-seca	seca	seca-chuva	chuva
Euryarchaeota	36,62	32,64	48,88	35,34	22,07	21,02	22,30	17,25
Thaumarchaeota	4,97	4,24	10,01	7,34	4,52	10,56	8,76	8,88

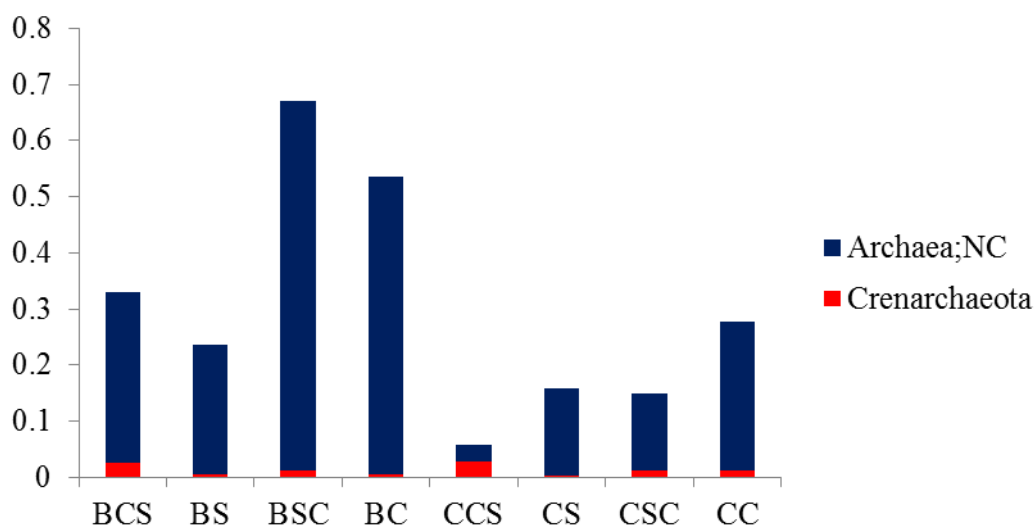
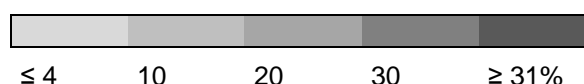


Figura 24. Representação dos filos menos abundantes (frequência $< 1\%$) pertencentes ao domínio Archaea no sedimento (0-5 cm) coletado entre maio de 2014 e março de 2015, compreendendo os períodos de transição chuva-seca (CS), seca (S), transição seca-chuva (SC) e chuva (C), nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO). As letras iniciais B e C representam as lagoas Bonita e Cabocla, respectivamente, seguida das iniciais que representam as estações.

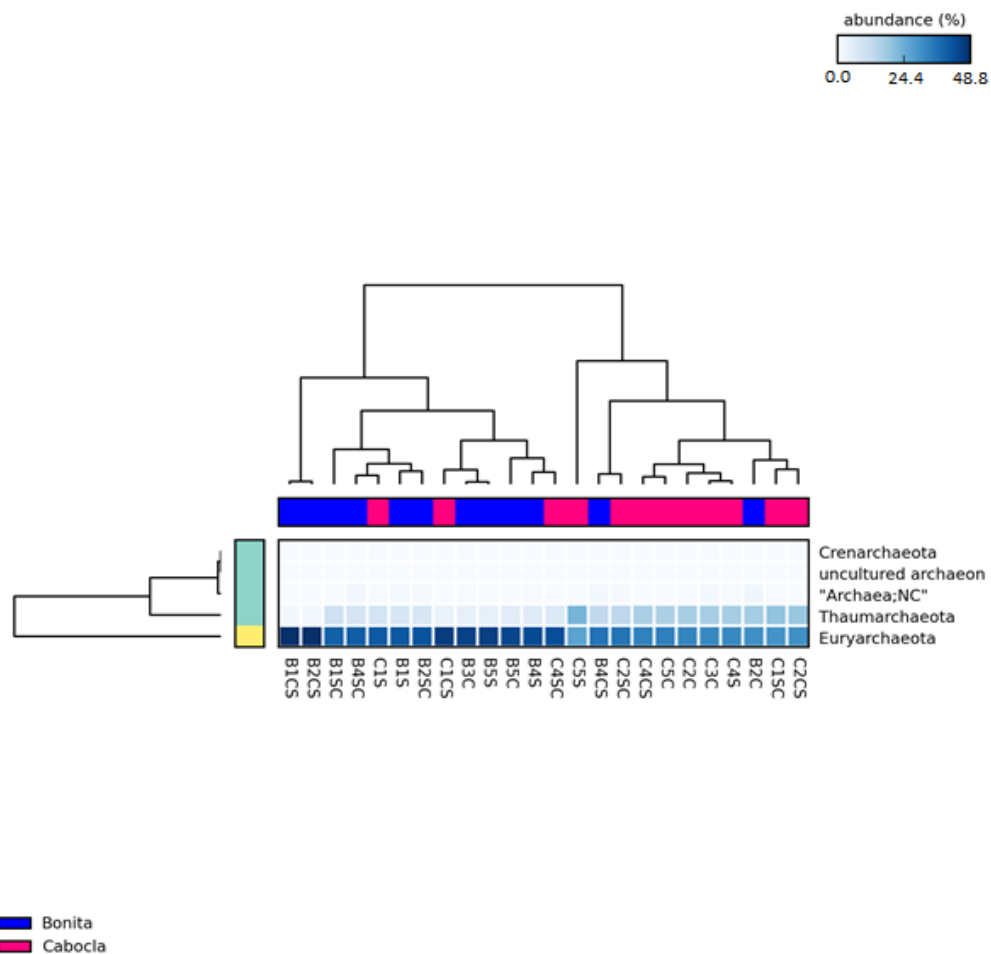


Figura 25. *Heatmap* construído no programa STAMP com a abundância dos filios pertencentes à Archaea classificados a partir na análise do gene 16S rRNA em cada amostra de sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita (letra inicial B) (Planaltina-DF) e Cabocla (letra inicial C) (Formosa-GO), nos períodos de transição chuva-seca (CS), seca (S), transição seca-chuva (SC) e chuva (C).

Assim como para os filios bacterianos, para os filios pertencentes ao domínio Archaea também não houve diferenças estatísticas ($p > 0,05$) na abundância dos filios entre as estações. Entretanto, foram observadas diferenças na proporção de sequências dos dois filios mais abundantes de Archaea entre as lagoas, sendo Euryarchaeota mais abundante na Lagoa Bonita que na Lagoa Cabocla ($p = 0.035$) enquanto Thaumarchaeota, ao contrário, é significativamente mais representativo no sedimento da Lagoa Cabocla ($p = 0.030$). As diferenças nas proporções de sequências afiliadas ao nível taxonômico de filo dentro de cada lagoa são demonstradas na Figura 26.

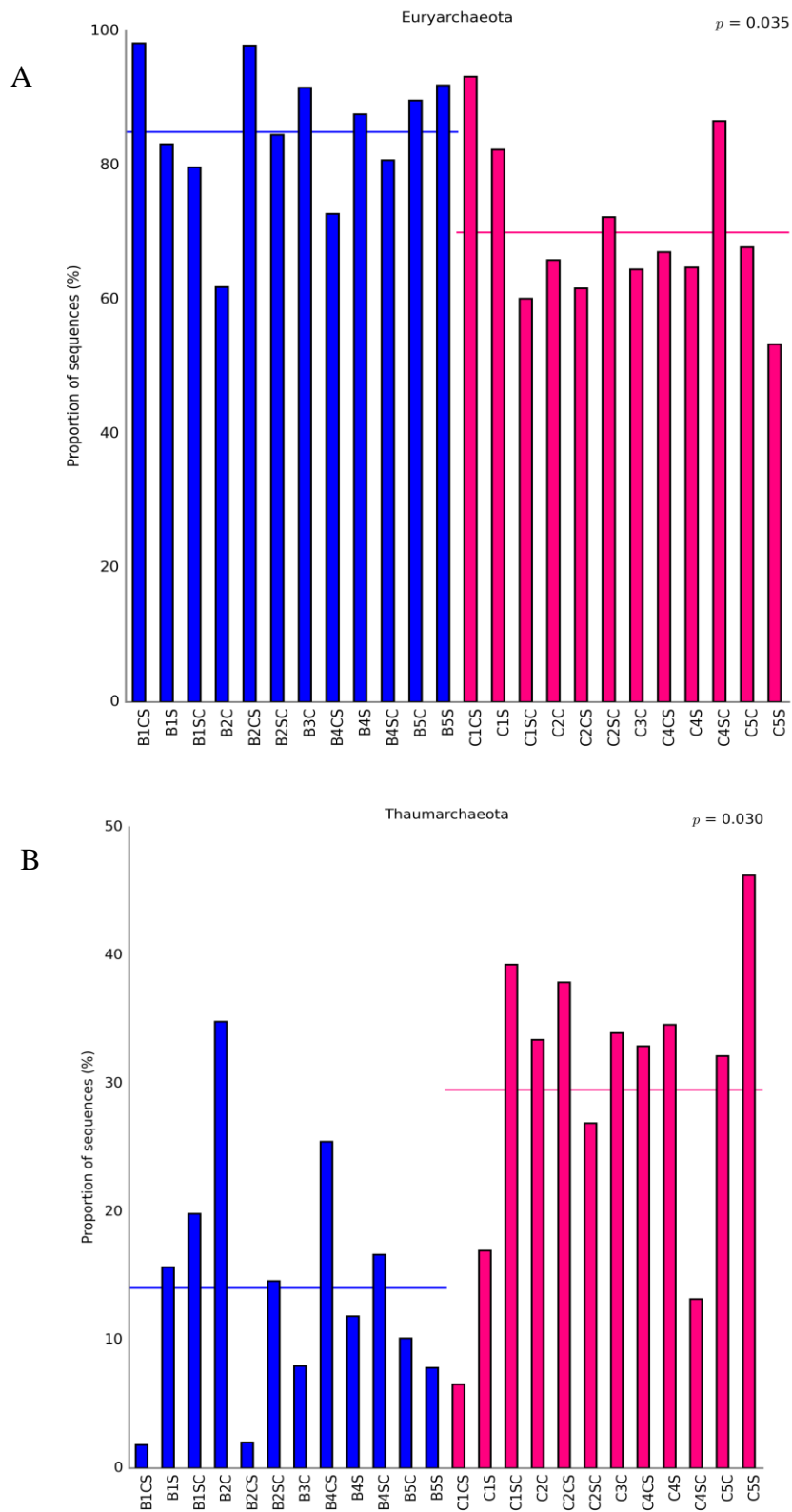


Figura 26. Diferenças ($p < 0,05$) na proporção relativa de seqüências dos filos Euryarchaeota (A) e Thaumarchaeota (B) em cada amostra de sedimento (0-5 cm) coletado entre maio de 2014 e março de 2015, compreendendo os períodos de transição chuva-seca (CS), seca (S), transição seca-chuva (SC) e chuva (C), nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO) utilizando o teste não paramétrico White's t-teste com correção de Bonferroni no programa STAMP. O valor médio para cada grupo é demonstrado em forma de linha. Amostras da Lagoa Bonita são demonstradas em azul e da Lagoa Cabocla em rosa.

6.6.1 Interações entre a composição de Archaea em nível de filo e variáveis ambientais

Por meio do modelo linear generalizado (GLM) demonstramos a importância relativa das variáveis ambientais também sobre a abundância dos dois principais filos de Archaea encontradas. Para o domínio Archaea, assim como foi observado para o domínio Bacteria, todas as variáveis da água e do sedimento foram importantes para explicar a abundância dos grupos, embora os diferentes grupos tenham apresentado diferenças na ordem de importância relativa de cada variável mensurada.

A profundidade da coluna d'água foi o fator mais importante entre aqueles mensurados, com efeito positivo para explicar a abundância do filo Euryarchaeota na fração 0-5 cm do sedimento nas duas lagoas, seguida do pH. Já para o filo Thaumarchaeota, as variáveis NT, CT e pH tiveram maior importância relativa para explicar a abundância desse grupo (Figura 27).

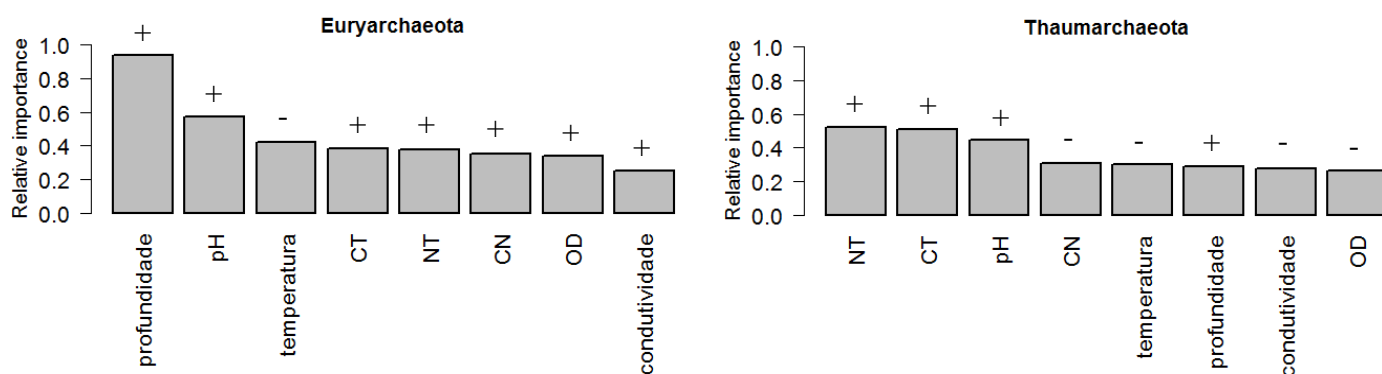


Figura 27. Importância relativa das variáveis ambientais da água (temperatura, pH, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido) e do sedimento (carbono e nitrogênio totais e razão C:N) sobre a abundância dos filos pertencentes ao domínio Archaea mais representativos identificados no sedimento (0-5 cm) das lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO), entre os meses de maio de 2014 e março de 2015. A importância das variáveis foi dada por meio da seleção de modelos realizada através do teste GLM. Os efeitos positivo e negativo das variáveis sobre os grupos de organismos são indicados acima das colunas pelos sinais “+” e “-”, respectivamente. OD – oxigênio dissolvido na água, CT – carbono total no sedimento, NT – nitrogênio total no sedimento, CN – razão C:N no sedimento.

6.6.2 Classes e gêneros

Dentro do filo Euryarchaeota, três classes foram identificadas (Halobacteria, Thermoplasmata e Methanomicrobia), sendo Methanomicrobia a que mais se destacou. Os gêneros mais abundantes afiliados a esta classe foram *Methanocella*, *Rice Cluster I*, *Methanolinea*, *Methanoregula*, *Methanosaeta*, *Methanosarcina* e outros indicados como não cultiváveis e não classificados.

Nas duas lagoas, o filo Thaumarchaeota foi notadamente representado por sequências indicadas como *Miscellaneous Crenarchaeotic* e *Terrestrial group*, com OTU's correspondentes a grupos de arqueias não cultiváveis e sem classificação em níveis inferiores da hierarquia taxonômica.

6.7 Análises de diversidade

6.7.1 Diversidade dos gêneros relacionados ao domínio Bacteria

O cálculo dos índices de alfa-diversidade demonstrou baixo nível de dominância dos gêneros do domínio Bacteria e elevada equitabilidade através do índice de Simpson 1-D. A Lagoa Cabocla apresentou maior riqueza de gêneros bacterianos que a Lagoa Bonita pelo índice Chao-1 ($F = 6,00$; $p = 0,000$). Entretanto, a diversidade medida pelo índice Shannon-Winer não apresentou diferença estatística entre as lagoas ($F = 0,252$; $p = 0,622$).

Considerando a sazonalidade, nas duas lagoas a equitabilidade (Simpson 1-D) foi maior na seca e menor na transição chuva-seca ($F = 9,000$; $p = 0,001$), entretanto não diferiram entre as demais estações. A riqueza (Chao-1) dos gêneros bacterianos não foi diferente entre as estações ($F = 2,333$; $p = 0,115$). Por outro lado, a diversidade (Shannon-Wiener) foi maior na seca e menor na transição chuva-seca para as duas lagoas ($F = 3,614$; $p = 0,036$), não diferindo nas demais estações.

As diferenças entre as medidas de diversidade entre as lagoas e estações são demonstradas nas Tabelas 11 e 12, respectivamente.

Tabela 11. Sumário das medidas de diversidade relacionadas aos gêneros do domínio Bacteria com base em dados de sequências do gene 16S rRNA nas amostras de sedimento (0-5 cm) coletadas entre maio de 2014 e março de 2015 nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO).

Lagoa	Dominância	Simpson 1-D	Chao-1	Shannon-Wiener
Bonita	0.02	0.98a	424.42a	4.71a
Cabocla	0.02	0.98a	496.71b	4.76a

Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Friedman para os índices Simpson e Chao-1 e diferenças ($p < 0,05$) pelo teste Anova Fatorial para o índice Shannon-Wiener.

Tabela 12. Sumário das medidas de diversidade relacionadas aos gêneros do domínio Bacteria com base em dados de sequências do gene 16S rRNA nas amostras de sedimento (0-5 cm) coletadas entre maio de 2014 e março de 2015 nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO).

Lagoa	Estação	Dominância	Simpson 1-D	Chao-1	Shannon-Wiener
Bonita	Chuva-seca	0.03	0.97b	420.47a	4.46a
	Seca	0.01	0.99a	476.23a	5.00b
	Seca-chuva	0.02	0.98ab	371.03a	4.62ab
	Chuva	0.02	0.98ab	429.93a	4.77ab
Cabocla	Chuva-seca	0.03	0.97b	428.87a	4.52a
	Seca	0.01	0.99a	548.67a	4.92b
	Seca-chuva	0.02	0.98ab	519.83a	4.88ab
	Chuva	0.02	0.98ab	489.47a	4.74ab

Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Friedman para os índices Simpson e Chao-1 e diferenças ($p < 0,05$) pelo teste Anova Fatorial para o índice Shannon-Wiener, considerando apenas as estações.

6.7.2 Diversidade dos gêneros relacionados ao domínio Archaea

O cálculo dos índices de alfa-diversidade relacionados aos gêneros pertencentes ao domínio Archaea também demonstrou baixo nível de dominância dos gêneros e elevada equitabilidade através do índice de Simpson 1-D. Para a diversidade de gêneros de Archaea, a Lagoa Bonita apresentou maior equitabilidade ($F = 6,00$; $p = 0,000$) pelo índice Simpson 1-D, maior riqueza ($F = 6,00$; $p = 0,000$) pelo índice Chao-1 e maior diversidade ($F = 506,827$; $p = 0,000$) pelo índice de Shannon-Wiener que a Lagoa Cabocla.

Considerando a sazonalidade, a equitabilidade (Simpson 1-D) não diferiu entre as estações ($F = 1,500$; $p = 0,255$). Já a riqueza (Chao-1) dos gêneros de Archaea, assim

como visto para os grupos bacterianos, foi maior no período de seca ($F = 9$; $p = 0.001$) em relação às duas transições. Por outro lado, a diversidade (Shannon-Wiener) de gêneros do domínio Archaea não foi estatisticamente diferente em nenhuma estação ($F = 3,409$; $p = 0,05$).

As diferenças nos índices de equitabilidade, riqueza e diversidade dos grupos taxonômicos entre lagoas e estações são demonstradas nas Tabelas 13 e 14, respectivamente.

Tabela 13. Sumário das medidas de diversidade relacionadas aos gêneros do domínio Archaea com base em dados de sequências do gene 16S rRNA nas amostras de sedimento (0-5 cm) coletadas entre maio de 2014 e março de 2015 nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO).

Lagoa	Dominância	Simpson 1-D	Chao-1	Shannon-Wiener
Bonita	0.02	0.98a	424.42a	4.71a
Cabocla	0.14	0.86b	51.76b	2.47b

Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Friedman para os índices Simpson e Chao-1 e diferenças ($p < 0,05$) pelo teste Anova Fatorial para o índice Shannon-Wiener.

Tabela 14. Sumário das medidas de diversidade relacionadas aos gêneros do domínio Archaea com base em dados de sequências do gene 16S rRNA nas amostras de sedimento (0-5 cm) coletadas entre maio de 2014 e março de 2015 nas lagoas Bonita (Planaltina-DF) e Cabocla (Formosa-GO).

Lagoa	Estação	Dominância	Simpson 1-D	Chao-1	Shannon-Wiener
Bonita	Chuva-seca	0.03	0.97a	420.47b	4.46a
	Seca	0.01	0.99a	476.23a	5.00a
	Seca-chuva	0.02	0.98a	371.03b	4.62a
	Chuva	0.02	0.98a	429.93ab	4.77a
Cabocla	Chuva-seca	0.16	0.84a	34.94b	2.21a
	Seca	0.14	0.86a	63.11a	2.51a
	Seca-chuva	0.13	0.87a	53.92b	2.58a
	Chuva	0.13	0.87a	55.08ab	2.59a

Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Friedman para os índices Simpson e Chao-1 e diferenças ($p < 0,05$) pelo teste Anova Fatorial para o índice Shannon-Wiener.

7 DISCUSSÃO

A maior dinâmica nas trocas químicas que ocorrem pela interação sedimento – coluna d'água nos sistemas lacustres tropicais rasos influencia a composição e abundância da microbiota estabelecida no sedimento, que também sofre alterações em relação à sazonalidade bem marcada no bioma Cerrado.

As variáveis físicas e químicas da água determinadas neste trabalho, tais como temperatura elevada ($\geq 21^{\circ}\text{C}$) nas duas lagoas, pH levemente ácido, baixa condutividade elétrica e baixas concentrações de oxigênio dissolvido (OD) são características típicas dos ecossistemas aquáticos tropicais, especialmente aqueles oligotróficos (Esteves 1998). Este resultado é coerente com a região de localização e teor de nutrientes que as lagoas Bonita e Cabocla apresentam.

A temperatura mais elevada da água nas duas lagoas ocorreu no período chuvoso (Tabela 3), tipicamente mais quente no bioma Cerrado (Silva et al. 2008). Esse padrão também foi observado por Gomes (2007) em amostras de água da Lagoa Bonita, cuja temperatura foi medida entre as estações seca e chuvosa no ano de 2005. Segundo Esteves (1998), a alta temperatura da água nos ecossistemas lacustres tropicais, aumenta a velocidade das reações químicas, aumentando as taxas de decomposição da matéria orgânica (MO), com conseqüente depleção nas concentrações de oxigênio na coluna d'água e redução do pH. Todos os valores médios de pH da água encontraram-se dentro da faixa de variação apontada por Gomes et al. (2010) para a Lagoa Bonita e por Sousa (2012) para a Lagoa Cabocla.

Dada a importância das interações entre a coluna d'água e o sedimento nos sistemas lacustres rasos, a maior acidez na água da Lagoa Cabocla pode estar associada aos maiores teores de MO no sedimento desta lagoa. Além disso, considerando a menor condutividade elétrica da água encontrada na Lagoa Cabocla, juntamente com as maiores concentrações de nitrogênio e menor razão C:N, é possível inferir que nesta lagoa a troca de nutrientes entre sedimento e coluna d'água, bem como a mineralização da MO sejam mais dinâmicas e rápidas que na Lagoa Bonita.

Quanto à influência da sazonalidade sobre a condutividade elétrica, os maiores valores para este parâmetro durante a segunda transição (seca-chuva) nas duas lagoas, sugere que no início das primeiras chuvas, com antecedência ao período chuvoso, há maior disponibilidade de íons dissolvidos na coluna d'água, provavelmente pela maior entrada de nutrientes do sistema terrestre para o meio aquático por meio da chuva. Este resultado corrobora com a ideia de que no início da estação chuvosa o fluxo e aporte de nutrientes para dentro da lagoa é maior, como também foi demonstrado por Silva (2008) para a água de córregos em áreas urbanas e rurais do Distrito Federal.

Os valores de pH, MO, acidez potencial (H + Al), soma de bases trocáveis (SB), capacidade de troca catiônica efetiva (t), índice de saturação por bases (V), fósforo remanescente (P-Rem) e índice de saturação por alumínio (m) (Tabela 6), não são comumente referidos para amostras de sedimento. Por esta razão, serão discutidos a seguir, à luz das interpretações propostas para solos de Cerrado em Ribeiro et al. (1999), Embrapa (2000) e (Ronquin 2010).

O pH é um importante parâmetro químico no estabelecimento e composição da comunidade microbiana nos diferentes ecossistemas, favorecendo ou dificultando o estabelecimento de um grupo em detrimento de outro (Newton et al. 2011). Os resultados de pH indicaram nível de acidez ativa elevada ($< 5.0 \text{ cmolc/dm}^3$) (Ribeiro et al. 1999) no sedimento das lagoas. Embora esta característica seja típica em solos do bioma Cerrado, segundo Esteves (1998), os baixos níveis de pH em ambientes aquáticos podem ser resultado do aumento nas concentrações do íon H^+ pela dissociação do ácido carbônico em moléculas de H^+ e CO_3^{2-} e também quando há maior quantidade de MO.

Ao contrário do que se espera em sistemas oligotróficos (Esteves 1998), os teores de MO no sedimento foram altos ($> 10\%$ do peso seco). Para este resultado é importante considerar a vasta cobertura por macrófitas aquáticas enraizadas tanto na Lagoa Bonita, quanto na Lagoa Cabocla, que nos permite inferir a grande contribuição da MO de origem autóctone. Dois estudos recentemente publicados demonstraram que a presença de macrófitas nos ecossistemas lacustres rasos constitui a principal fonte de matéria orgânica autóctone encontrada (Fonseca et al. 2015; Marinho et al. 2015).

A SB é determinada pelo somatório das concentrações dos cátions Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} e K^+ , dando uma indicação do número de cargas negativas dos colóides que estão ocupados pelos cátions básicos trocáveis (Ronquin 2010). Os baixos valores encontrados para SB no sedimento das lagoas estão de acordo com a relação entre o baixo pH e as elevadas concentrações de alumínio. Menores valores de SB foram vistos na Lagoa Cabocla, com o mesmo padrão para os valores na saturação por bases (V%). Esta medida expressa a porcentagem da capacidade de troca de cátions representada pela soma das bases trocáveis. De acordo com Ronquin (2010), baixos valores na V% sugerem a existência de pequenas quantidades de cátions como Ca^{2+} , Mg^{2+} e K^+ e maior neutralização das cargas negativas por meio da saturação por H^+ e Al^{3+} , o que representa ainda grande probabilidade de acidez, e relaciona-se aos resultados anteriormente discutidos.

A CTC efetiva (t) ($\text{SB} + \text{Al}^{3+}$) nas amostras do sedimento composto das suas lagoas também apresentou valores considerados baixos ($< 2,31 \text{ cmolc/dm}^3$) segundo comparação com solos em Ribeiro et al. (1999) e Embrapa (2000). Esses valores refletem a baixa capacidade desses sedimentos em reter cátions e conseqüentemente, sua menor

capacidade em reter nutrientes. A baixa CTC efetiva pode estar associada aos elevados teores de MO e ao pH ácido encontrados para o sedimento dessas lagoas.

A acidez potencial (H + Al) em ambas as lagoas foi maior que 5,0 cmolc/dm³, com maiores índices na primeira transição (chuva-seca) para as duas lagoas. Contudo, a alta acidez observada é típica da região de Cerrado. A acidez potencial (H + Al) se refere ao total de íons H⁺ e Al³⁺ retidos e que se encontram ligados à capacidade de troca catiônica (CTC) (Embrapa 2000). A informação de acidez potencial é comumente associada a outras variáveis (saturação por alumínio e por bases e teor de MO) e juntamente com a acidez ativa determinada pelo pH, influencia a disponibilidade de minerais como Ca e Mg. Com o aumento da acidez, aumenta também a solubilidade de metais e a capacidade de transporte desses elementos a outros locais (Amaral et al. 2014).

A variação na saturação por alumínio (m%) no sedimento da Lagoa Bonita pode ser classificada nas categorias médio (30 – 50%) e alto/muito alto (> 50%) segundo Ribeiro et al. (1999) e Embrapa (2000). Comparado às determinações para solos de Cerrado, na Lagoa Cabocla, esses valores para o sedimento foram considerados alto/muito alto (Ribeiro et al. 1999; Embrapa 2000). O percentual de saturação por alumínio indica a proporção de Al em relação à CTC efetiva e sugere os níveis de toxidez que podem ser causados pelo alumínio.

Em solos ácidos como os do Cerrado, Ca²⁺ e Mg²⁺ competem por sítios de adsorção do solo, onde Ca²⁺ geralmente tem preferência no complexo de troca (Salvador & Carvalho 2011). Essa característica pode explicar os maiores teores deste cátion em relação ao magnésio no sedimento das duas lagoas, cujo padrão também foi observado por Amaral et al. (2014) em amostras de sedimento de córregos no Espírito Santo.

O fósforo remanescente (P-Rem) é uma medida que representa a capacidade de retenção do P e está relacionada ao teor de argila (Embrapa 2000). Considerando que o P é um nutriente chave na produtividade primária dos ecossistemas aquáticos (Dodds & Whiles 2010), a disponibilidade de P em função do P-Rem, indicou que as concentrações de P disponível foram muito baixas (< 6,1 mg/kg) nas duas lagoas, exceto no período chuvoso na Lagoa Cabocla, onde o valor é maior, porém ainda considerado baixo. Os maiores valores de P disponível na estação chuvosa, para as duas lagoas, acompanhou o padrão observado para o P-Rem, refletindo novamente que provavelmente, a maior disponibilidade de nutrientes ocorre em função do carreamento de partículas para dentro do sistema por meio da chuva.

Podemos observar que as variações nas características química da água e do sedimento nas duas lagoas são influenciadas pela sazonalidade bem marcada no Cerrado e que as mudanças nesses componentes podem ser capazes de provocar alterações na composição dos grupos de bactérias e arqueias presentes no sedimento. Segundo Zhou et

al. (2015) o entendimento de como as comunidades microbianas se organizam na natureza é um dos maiores desafios para a atual ciência. As ferramentas moleculares têm contribuído para uma melhor abordagem a respeito da diversidade de microrganismos nos mais distintos ecossistemas, mas pouco ainda se sabe a respeito do papel desses organismos e quais fatores ambientais regulam a abundância, riqueza e diversidade dos grupos mais representativos e especialmente daqueles considerados raros.

Numericamente, os procariotos dominam os ecossistemas aquáticos, desempenhando importantes funções para a saúde do ambiente (Hunt & Ward 2015). Vários estudos tem demonstrado a diversa composição de bactérias e de arqueias no sedimento de sistemas lacustres rasos (Liu et al. 2009; Billard & Domaizon 2015; Zhang et al. 2015). A variedade de microrganismos do sedimento divide espaço com macroinvertebrados, moluscos e outros seres aquáticos. Aos grupos de bactérias e arqueias que habitam este compartimento, cabe o papel ecológico de decomposição e mineralização da matéria orgânica depositada, com forte participação na ciclagem de nutrientes. Além disso, estes organismos representam importantes componentes da cadeia alimentar, contribuindo fortemente na manutenção e equilíbrio dos ecossistemas aquáticos (Hunt & Ward 2015).

A maioria dos filos bacterianos identificados neste estudo são grupos ubíquos, já observados em diferentes ambientes. Newton et al. (2011) discutem uma gama de trabalhos que apontam para uma distribuição global de muitos filos microbianos que aparecem em sistemas de água doce. Segundo o autor, após a análise de dados de sequência depositados no GenBank de 69 artigos publicados e dados não publicados de dois laboratórios, 21 filos foram identificados como comuns em amostras de diferentes lagos. Destes 21 grupos, cinco (Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Cyanobacteria e Verrucomicrobia) foram os mais representativos em termos de maior abundância. Com exceção de Cyanobacteria, todos os demais filos também foram identificados como abundantes em pelo menos uma lagoa e estação no presente trabalho.

Neste estudo, dentro do domínio Bacteria, o filo Proteobacteria foi predominante em todas as amostras, seguido do filo Acidobacteria (Tabela 7). Este padrão parece ser comum em sistemas aquáticos, como demonstraram Cheng et al. (2013) ao avaliar a composição da comunidade bacteriana em um reservatório de água potável na China, mas é diferente das observações para solos de Cerrado, onde comumente é relatada a maior dominância do grupo Acidobacteria seguido de Proteobacteria (Araujo et al. 2012; Sartori Silva 2012; Castro et al. 2016). Os grupos pertencentes ao filo Proteobacteria são bactérias gram-negativas amplamente distribuídas em seis classes que compreendem organismos com grande variabilidade morfológica e fisiológica atribuída pela enorme

plasticidade genômica que apresentam e cujos membros podem ter importantes papéis na ciclagem do nitrogênio (Newton et al. 2011).

Nós demonstramos que a abundância do filo Proteobacteria no sedimento das lagoas tem como determinante a condutividade elétrica da água que aparece como variável de maior importância relativa, seguida da razão C:N. Essa determinação sugere que a presença desse grupo está positivamente associada às maiores concentrações de sais ou íons dissolvidos na água que podem atuar como nutrientes para a microbiota do sedimento por meio da constante interação sedimento-coluna d'água. Porém, sendo a condutividade elétrica da água menor na Lagoa Cabocla, onde são observados os maiores números na abundância de Proteobacteria, outras variáveis ainda não estudadas podem ter influência sobre a dominância deste filo. Dado o efeito negativo da maior razão C:N no sedimento como a segunda variável com maior poder explicativo sobre a abundância do grupo, temos um indicativo que maiores concentrações de nitrogênio desfavorecem o sucesso no estabelecimento do filo Proteobacteria nesses ambientes. Esse resultado aponta novamente para a possibilidade de influência de outras variáveis pouco estudadas que possam justificar essa contradição.

O filo Acidobacteria é constituído por um conjunto de bactérias acidófilas cuja elevada abundância nos diferentes ecossistemas sugere traços funcionais importantes nos serviços ecossistêmicos (Madsen 2008). Algumas especulações sobre o papel deste filo na natureza, por exemplo, indicam sua participação na ciclagem do carbono (Ward et al. 2009). Este filo vem sendo bastante descrito em estudos envolvendo solos do Cerrado (Quirino et al. 2009; Araujo et al. 2012), mas também é comum e numericamente importante na maioria dos ecossistemas de água doce (Newton et al. 2011). Nós encontramos o filo Acidobacteria em elevada abundância neste estudo, nas duas lagoas. Por meio de uma seleção de modelos, demonstramos que a maior abundância deste filo está negativamente associada à profundidade da coluna d'água e à razão C:N no sedimento. Este resultado nos ajuda a compreender os maiores valores na abundância deste filo no sedimento da Lagoa Cabocla, que apresenta menor profundidade e menor razão C:N que a Lagoa Bonita.

O filo Firmicutes também tem sido encontrado em abundância em sedimentos de diferentes sistemas aquáticos (Song et al. 2012; Tsuboi et al. 2014; Zhang et al. 2014a). Compreendem grupos gram-positivos de bactérias que podem ser tanto anaeróbias obrigatórias como os membros da classe Clostridia, quanto podem ser anaeróbias facultativas ou aeróbias obrigatórias, como alguns organismos afiliados à classe Bacilli (Zhang et al. 2014b). Essas duas classes pertencentes ao filo Firmicutes foram encontradas em abundância neste estudo. Os maiores valores na abundância deste filo na

Lagoa Bonita foram explicados pelas menores concentrações de NT no sedimento, que aparece como variável de maior importância relativa.

Quanto ao filo Chloroflexi, são grupos de bactérias tipicamente filamentosas e fotossintéticas, já recuperadas em sedimentos de lagos rasos (Song et al. 2012). Além da menor profundidade que leva a uma maior influência do vento na interação sedimento-coluna d'água, a presença deste organismo em maior abundância especialmente no sedimento da Lagoa Cabocla sugere a maior agregação de O₂ ao sedimento desta lagoa. Neste estudo, o pH da água foi a variável de maior importância relativa sobre a abundância de Chloroflexi, seguida das concentrações de OD neste compartimento. Logo, a maior acidez da água na Cabocla é o fator que favorece o maior estabelecimento deste grupo nesta lagoa e justifica as diferenças encontradas na proporção de sequências entre as duas lagoas.

O filo Planctomycetes também foi encontrado em abundância em sedimentos de lagos rasos da China demonstrando alta correlação positiva com as concentrações de fósforo total (Song et al. 2012). É descrito como um grupo ubíquo de bactérias aquáticas encontradas em sistemas de água doce, salobra e marinhos e cuja aparência morfológica filamentosa o assemelha mais aos fungos (Fuerst 2010). Ainda de acordo com Fuerst (2010), apresentam características incomuns de compartimentalização intracelular em relação aos demais grupos do domínio Bacteria e alguns membros de Planctomycetes conseguem gerar energia a partir da oxidação da amônia, como fazem grupos envolvidos no processo de nitrificação. Neste trabalho, o filo Planctomycetes foi mais fortemente influenciado pela efeito da acidez da água, seguida das maiores concentrações de OD, com predominância na Lagoa Cabocla.

O último filo encontrado com frequência acima de 1% no sedimento das duas lagoas e em todas as estações foi o filo Nitrospirae. É constituído por um grupo de bactérias gram-negativas, que contem uma única classe, ordem e família e estão envolvidos no processo de ciclagem do nitrogênio. Os menores valores na abundância desse filo encontrados para a Lagoa Bonita foram explicados pela menor razão C:N no sedimento e o efeito positivo de OD na água.

Entre os grupos que foram abundantes em pelo menos uma (ou mais) estação neste trabalho, o filo Verrucomicrobia já foi apontado por Wihelm et al. (2013) como um grupo sensível às variações na condutividade elétrica da água. Esta descrição é coerente com o fato da abundância desse grupo no sedimento das lagoas ter sido melhor explicada pelos maiores valores na condutividade elétrica da água.

Com vasto espectro morfológico e metabólico, o filo Actinobactéria é representado por bactérias gram-positivas com alto conteúdo G+C (guanina+citosina) em seu DNA (Newton et al. 2011). Foram descritas como grupos indígenas que tem preferência por

áreas mais preservadas e oligotróficas em sistemas aquáticos rasos (Liu et al. 2009). Segundo Newton et al. (2011), apesar de ubíquos têm crescimento abaixo da média de outros organismos e sua abundância geralmente diminui com a menor concentração de oxigênio e maior disponibilidade de nutrientes. Alguns grupos podem produzir esporos e apresentar pigmentação tornando-se resistentes à UV, o que explicaria sua ubiquidade. De modo geral, Actinobacteria é um grupo de organismos de vida livre, estilo de vida foto e heterotrófico. Neste estudo, a maior abundância deste grupo observada na Lagoa Cabocla, foi relacionada ao pH mais ácido, o qual atua como variável de maior importância no estabelecimento do filo Actinobacteria, seguido da menor profundidade.

Em relação às variáveis ambientais associadas aos demais filos categorizados como abundantes em pelo menos uma estação, a temperatura da água foi a variável que melhor explicou a abundância de Chlorobi e do filo TM6. Chlorobi é uma população de bactérias fotoautotróficas anaeróbias obrigatórias, que são evolutivamente relacionadas ao filo Bacteroidetes (Madsen 2008), enquanto TM6 é um filo de linhagem independente no domínio bactéria, pobremente caracterizada até o momento (Yeoh et al. 2015). A variável OD explicou melhor a abundância dos filos Bacteroidetes e Chlamydiae. Bacteroidetes formam um grupo com elevada diversidade filogenética e são descritos como bactérias competitivas, capazes de transformar moléculas complexas em compostos mais simples, especialmente em ambientes anaeróbios (Liu et al. 2009). O grupo Chlamydiae tem sido encontrado como raro em solos de Cerrado e são conhecidos como patógenos intracelulares obrigatórios, com função ambiental desconhecida (Araujo et al. 2012).

Nós demonstramos ainda que a condutividade elétrica da água foi uma determinante positiva sobre a abundância do filo Spirochaetae e do grupo de bactérias não classificadas (Bacteria;NC). Spirochaetes são um grupo de bactérias que tem forma helicoidal, são capazes de se mover por meio de movimentos ondulatórios e já foram reportados em sedimentos (Zhang et al. 2014b). A falta de classificação para alguns grupos indica que o ambiente apresenta uma diversidade ainda inexplorada. A abundância do filo OP8 foi determinada pela maior profundidade, seguida da condutividade elétrica, enquanto o filo WD272, foi influenciado pelo menor pH da água, seguido das concentrações de NT e CT. O filo OP8 ou candidato ao filo OP8 é composto por membros informalmente reconhecidos como Aminicenantes, que apresentam padrões de distribuição distintos (Farag et al. 2014). Neste trabalho nós identificamos que sua maior abundância na Lagoa Bonita está relacionada à maior profundidade da sua coluna d'água em relação à Lagoa Cabocla. Já o grupo WD272 é um filo ainda pouco descrito na literatura, e não foram encontradas maiores detalhes a seu respeito.

Entre os dois filos categorizados como menos abundantes (frequência < 1%), BD1-5 foi influenciado pela maior razão C:N no sedimento, seguida da condutividade elétrica da

água. Neste sentido, a maior razão C:N no sedimento e a maior condutividade elétrica da água na Lagoa Bonita explicam as diferenças na proporção de sequências deste filo, que foi maior nesta Lagoa. O filo BD1-5 também pode ser considerado um grupo raro, cujo papel e características permanecem desconhecidos. Já o grupo Gemmatimonadetes, que foi mais abundante na Lagoa Cabocla, teve a profundidade, seguida do pH da água como variáveis com maior importância relativa para justificar sua abundância. O resultado é coerente com as características observadas para esta lagoa que apresenta menor profundidade e menor pH da água. DeBruyn et al. (2011), relata que a distribuição desse grupo é cosmopolita nos sistemas terrestres e ao contrário do observado neste estudo, demonstraram que a maior abundância relativa deste filo em solos está relacionada a um pH mais neutro e menor umidade.

Entre os dois filos mais representativos pertencentes ao domínio Archaea, a abundância de Euryarchaeota é claramente maior na Lagoa Bonita. Este resultado representa uma característica muito importante na diferenciação das comunidades presentes no sedimento entre uma lagoa e outra. O filo Euryarchaeota inicialmente reconhecido como um reino dentro do domínio Archaea, foi formalmente proposto para reunir linhagens metanogênicas (Woese, Kandler, & Wheelis 1990). Constitui um grupo amplamente recuperado em sedimentos de sistemas de água doce (Berdjeb et al. 2013; Zhang et al. 2014a), cujos membros podem estabelecer parcerias simbióticas na remoção do hidrogênio e acetato durante a metanogênese, com papel importante na degradação da biomassa orgânica em sedimentos (Liu et al. 2009).

A maior abundância de Euryarchaeota no sedimento da Lagoa Bonita foi influenciada pela maior profundidade da coluna d'água e pelo pH menos ácido da água nesta lagoa em relação à Cabocla. Os membros do filo Euryarchaeota são em sua maioria, grupos metanogênicos anaeróbios, o que justifica a influência da maior profundidade da coluna d'água sobre a maior abundância deste filo. Briée et al. (2007) também encontraram maior proporção de grupos metanogênicos pertencentes a Euryarchaeota em sedimentos de sistemas de água doce coletados em porções mais profundas do lago. A elevada presença de macrófitas deve ser considerada novamente, já que elas beneficiam a metanogênese no sedimento, por meio do fornecimento de MO a partir da deposição de tecidos vegetais e especialmente pela disponibilização de exsudatos das raízes vivas para o sedimento (Fonseca et al. 2015; Marinho et al. 2015). Ao contrário do observado aqui, nos poucos estudos sobre arqueias em solos de Cerrado têm-se demonstrado que ocorre maior abundância de grupos pertencentes ao filo Crenarchaeota (Castro 2013; Catão et al. 2013)

O filo Thaumarchaeota, até recentemente classificado como Crenarchaeota mesofílicas, foi representado principalmente por sequências descritas como *Miscellaneous*

Crenarchaeotic e *Terrestrial group*, com OTU's correspondentes a grupos de arqueias não cultiváveis e sem classificação em níveis inferiores da hierarquia taxonômica. A maior abundância desse grupo na Lagoa Cabocla foi melhor explicada pela maior quantidade de NT no sedimento desta lagoa em relação à Lagoa Bonita, seguido das concentrações de CT. Apesar de não termos encontrado diferenças estatísticas que demonstrassem a influência sazonal sobre a abundância dos filos nas lagoas Bonita e Cabocla, este resultado converge com um estudo recentemente realizado para verificar os efeitos da sazonalidade sobre a comunidade de Archaea no sedimento de um lago raso no Cerrado (Rodrigues et al. 2014). Neste estudo os autores identificaram o filo Thaumarchaeota em maior abundância no período de transição seca-chuva, com a especulação de que o aumento nas concentrações de N disponível durante este período poderiam ter favorecido o maior crescimento dessa população. Em outro trabalho, Vissers et al. (2013) demonstraram que Thaumarchaeota apresenta menor abundância em relação a outros grupos de arqueias quanto maior a profundidade da coluna d'água em um lago oligotrófico na Suíça. Esse fato reforça a indicação sobre a ecologia deste grupo, visto que no presente estudo a sua menor abundância também foi observada no sedimento da lagoa de maior profundidade.

7.1 Biodiversidade de Bacteria e Archaea no sedimento

Nós conseguimos acessar os domínios Bacteria e Archaea através de um único conjunto de oligonucleotídeos iniciadores (787F/1492R) empregado para o pirosequenciamento, que amplificam a região V5 – V9 do gene 16S rRNA (Roesch et al. 2007). Apesar do desenho desses iniciadores ter sido realizado com o objetivo de amplificar bactérias do solo, Roesch et al. (2007), pioneiros e autores do desenho, também conseguiram caracterizar grupos de arqueias utilizando este par de iniciadores. Embora em abundância muito inferior a que foi encontrada para os filos de Archaea identificados no presente estudo, Castro (2013) também identificou grupos pertencentes a este domínio em solos de diferentes fitofisionomias do Cerrado empregando o mesmo conjunto de oligonucleotídeos para pirosequenciamento. Aqui, a elevada representatividade do domínio Archaea está relacionada ao tipo de ambiente estudado, que favorece o crescimento e sucesso destes grupos no sedimento.

Quanto à caracterização da diversidade das comunidades bacterianas, o uso da ferramenta de PCR-DGGE foi empregada neste estudo especialmente para um *screening* geral do perfil e comportamento dos membros do domínio Bacteria no sedimento das duas lagoas, nos diferentes períodos (transição chuva-seca, seca, transição seca-chuva e chuva). A técnica foi útil para apontar a elevada riqueza de bactérias no sedimento através

da grande quantidade de bandas observadas nas amostras. O melhor agrupamento das amostras com menor similaridade entre elas na estação seca, já sugeria que haveria maior diversidade nesta estação. Por meio do pirosequenciamento, conseguimos indicar que existe maior riqueza de grupos bacterianos no sedimento da Lagoa Cabocla, mas sem diferenças entre as estações. Entretanto, ao contrário do observado para o índice de riqueza, não houve diferença significativa na diversidade de bactérias entre as duas lagoas, somente entre as estações, com a seca representando o período em que os grupos bacterianos são mais diversos, nas duas lagoas. Com esses resultados, rejeitamos a hipótese de que a diversidade das comunidades bacterianas do sedimento é maior na Lagoa Bonita, que tem maior área, maior profundidade da coluna d'água e entorno mais antropizado. Contrário ao que esperávamos, refutamos também hipótese de que a diversidade dos grupos bacterianos é maior no início do período chuvoso e sugerimos que no sedimento de lagoas rasas, as primeiras chuvas caracterizam um distúrbio que afeta a comunidade de bactérias, mesmo sendo maior a disponibilidade de nutrientes durante este período.

Interessantemente, embora não tenha sido observada diferença na diversidade grupos afiliados ao domínio Bacteria entre as lagoas, a Lagoa Bonita apresentou maior número de filós únicos de baixa abundância (grupos raros) que a Lagoa Cabocla. Provavelmente, esse número maior de filós esteja ligado à características da Lagoa Bonita que não foi identificada neste estudo. No mesmo sentido, apesar da diversidade ter sido maior na estação seca para os grupos bacterianos, a presença de filós únicos na Lagoa Bonita é vista especialmente na estação chuvosa, com o grupo KB1 sendo encontrado exclusivamente nesta estação. Já na Lagoa Cabocla, o único filo recuperado (BHI80-139) só não aparece na transição seca-chuva. Pode-se dizer que os filós bacterianos *Caldiserica*, KB1, WS6 e *Synergistetes* na Lagoa Bonita, bem como o filo BHI80-139 na Lagoa Cabocla, são populações de organismos raros nestes ambientes e assinalam outra importante diferença na composição dos grupos bacterianos entre as duas lagoas.

Em relação aos grupos de arqueias, a representatividade dos gêneros pertencentes ao filo Euryarchaeota pode ter sido fundamental na determinação da maior riqueza e diversidade de organismos do domínio Archaea na Lagoa Bonita. Considerando que este filo compreende membros com metabolismo anaeróbico, a maior profundidade da coluna de água na Lagoa Bonita associada à redução da interação entre o sedimento e a água, estabelece uma condição favorável para o sucesso desses grupos metanogênicos.

Contrário ao observado para o domínio Bacteria onde não houve diferença na riqueza dos gêneros entre as estações, os grupos pertencentes à Archaea tiveram maior riqueza na estação seca. Por outro lado, nas duas lagoas não foram encontradas diferenças sobre a diversidade de Archaea entre as estações. A maior riqueza do domínio

Archaea na estação seca é comparável ao que foi demonstrado por Rodrigues et al. (2014) no sedimento (0 – 6 cm) de um sistema lótico raso em Minas Gerais (Brasil). No presente estudo, a diversidade de grupos de Archaea na Lagoa Bonita e Cabocla durante a estação seca (Shannon-Wiener 5,00 e 4,92, respectivamente), superou a diversidade de arqueias encontrada por Rodrigues et al. (2014) para o sedimento do sistema aquático em Minas Gerais, na mesma estação. Com estes resultados, nós corroboramos parte da primeira hipótese de que diversidade dos grupos pertencentes ao domínio Archaea é maior na Lagoa Bonita, mas refutamos a segunda, de que a diversidade é maior no período que corresponde às primeiras chuvas.

A ocorrência do grande número táxons pertencentes aos domínios Bacteria e Archaea neste estudo ilustra a variedade de microrganismos que o sedimento dessas lagoas abriga. Segundo Dudhagara et al. (2015), esta diversidade sugere a ocorrência de complexas interações que conectam diferentes ciclos biológicos em microescalas suficientemente heterogêneas para atender as exigências metabólicas desses grupos.

Para finalizar essa discussão, buscamos entender quais as peculiaridades da estação seca para que a diversidade de grupos de bactérias e a riqueza de grupos de arqueias tenham sido maiores durante este período nas duas lagoas. Entre as variáveis consideradas, durante a seca, as principais diferenças foram dadas pela menor temperatura da água e os menores valores para o teor de MO no sedimento, como característica nas duas lagoas. A menor temperatura da água foi a variável explicativa mais importante apenas para a abundância dos filos Chlorobi e TM6, como descrito anteriormente e, portanto, não parece ser o melhor fator ambiental para explicar a maior diversidade na seca. Já em relação à matéria orgânica, Ye et al. (2009) discutem que altos níveis de MO no sedimento estimulam a atividade microbiana e resultam em maior diversidade de populações. Entretanto, no presente estudo, embora a MO seja elevada, não parece ter sido o componente mais importante na determinação da diversidade na estação seca porque é neste período em que os valores de MO é menor nas duas lagoas, especialmente na Lagoa Bonita. Considerando os padrões de abundância de todos os grupos dos domínios Bacteria e Archaea nas duas lagoas em associação com as estações, apenas dois filos bacterianos (Proteobacteria e Spirochaetae) entre os 20 grupos discutidos aqui, apresentaram maior abundância relativa (porém sem diferenças significativas) na estação seca. A resposta para a total compreensão deste resultado, portanto, pode estar associada à outras variáveis ambientais e ainda às interações ecológicas entre as populações que constituem as comunidades de bactérias e arqueias no sedimento.

De modo geral, a influência da sazonalidade na abundância, na riqueza e na diversidade dos grupos deve ser considerada, mas com cautela uma vez que não é tão

marcante para microrganismos do sedimento como é vista para os microrganismos estabelecidos nos sistemas terrestres do bioma Cerrado (Sartori Silva 2012; Castro 2013; Castro et al. 2016). Isso pode estar relacionado ao fato das lagoas não secarem durante a estação seca e a outros fatores não explorados. Devemos ponderar, por outro lado, que algumas regiões do Brasil, incluindo o Centro-Oeste, entre os meses que compreenderam o período chuvoso no ano 2015, janeiro foi marcado por um longo veranico que ocasionou uma baixa na precipitação acumulada segundo dados do INMET (disponível em <<http://www.inmet.gov.br>>). A precipitação acumulada para o primeiro trimestre de 2015 foi de 556 mm na região do Distrito Federal e de 527 mm na porção do Estado de Goiás onde a cidade de Formosa está inserida. Comparado ao mesmo período do ano anterior, estes valores corresponderam à uma queda de aproximadamente 12% e 7% na precipitação acumulada nas duas regiões, respectivamente (INMET). Neste sentido, podemos inferir que as diferenças mais acentuadas envolvendo as comunidades de bactérias e arqueias no sedimento são observadas principalmente na comparação entre as duas lagoas, que apresentaram diferenças no pH e condutividade elétrica da água, nitrogênio total e razão C:N do sedimento.

8 CONCLUSÕES

Este trabalho descreve pela primeira vez a elevada diversidade das comunidades de bactérias e arqueias presentes em sedimentos de sistemas lênticos, rasos, ácidos e oligotróficos no Cerrado, bem como retrata a influência da sazonalidade sobre a abundância, a riqueza e a diversidade desses grupos de microrganismos.

A hipótese de que diversidade taxonômica de bactérias e arqueias no sedimento seria maior na lagoa com maior profundidade foi corroborada somente para arqueias. Já para bactérias, a diversidade não diferiu entre as duas lagoas.

A segunda hipótese que preconizava maior diversidade de bactérias e arqueias no início do período chuvoso foi refutada para os dois domínios. O domínio Bacteria apresentou maior diversidade na estação seca e o domínio Archaea não apresentou diferenças na diversidade entre as estações.

Os resultados contribuem para o conhecimento sobre a diversidade microbiana em ambientes aquáticos no Cerrado e fornecem uma base significativa para estudos subsequentes. A presença dos filos bacterianos Proteobacteria, Acidobacteria, Nitrospirae e do filo Euryarchaeota pertencente ao domínio Archaea, por exemplo, nos levaram a perspectiva de estudar como estes ambientes, por meio de suas comunidades microbianas, contribuem para importantes funções ecossistêmicas como a ciclagem biogeoquímica do nitrogênio. Adicionalmente, os resultados representam uma linha de base para diversidade microbiana em ambientes aquáticos pouco antropizados que poderá nortear estudos futuros de impactos ambientais e conservação desses ecossistemas no Cerrado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvim E. A. C. C. 2014 (em andamento). Biogeoquímica e diversidade funcional de lagoas rasas no Cerrado. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade de Brasília.
- Amaral, A. A.; Pires, S. C.; Ferrari, J. L. 2014. Qualidade da água e do sedimento de fundo de alguns córregos do município de Castelo , Estado do Espírito Santo. *Revista Agro@mbiente on-Line*, 194–203. doi:10.18227/1982-8470ragro.v8i2.1548.
- Araujo, Janaina F.; Castro, A. P.; Costa, M.; Togawa, R. C.; Pappas, G. J. J.; Quirino, B. F.; Bustamante, M. M. C.; Williamson, L. Handelsman, J.; Kruger, R. H. 2012. Characterization of soil bacterial assemblies in brazilian savanna-like vegetation reveals acidobacteria dominance. *Microbial Ecology* 64 (3): 760–70.
- Berdjeb, L.; Pollet, T.; Chardon, C.; Jacquet, S. 2013. Spatio-temporal changes in the structure of archaeal communities in two deep freshwater lakes. *FEMS Microbiology Ecology* 86 (2): 215–30.
- Bianchini, I. 1999. Aspectos o processo e decomposição nos ecossistemas aquáticos continentais. In: Pompêo, M. L. M. *Perspectivas da limnologia no Brasil*. São Luiz: Gráfica e Editora União.
- Billard, E.; Domaizon, I. 2015. Multi-scale phylogenetic heterogeneity of archaea , bacteria , methanogens and methanotrophs in lake sediments. 159–73. doi:10.1007/s10750-015-2184-6.
- Bouyoucos, G. J. 1926. Rapid determination of the moisture conten of soils. *Science* 64 (1670):651-2.
- Briée, C.; Moreira, D.; López-García, P. 2007. Archaeal and bacterial community composition of sediment and plankton from a suboxic freshwater pond. *Research in Microbiology* 158 (3): 213–27.
- Brönmark, C.; Hansson, L. A. 2005. *The biology of lakes and ponds*. 2.d. New York: Oxford University Press. ISBN 0–19–851612–6.
- _____. 2002. Environmental issues in lakes and ponds: current state and perspectives. *Environmental Conservation* 29 (03): 290–306.
- Calcagno, V.; Mazancourt, C. 2010. glmulti: An R package for easy automated model selection with (generalized) linear models. *Journal of Statistical Software*. 34(12).
- Campos, I. F. P.; Senna, P. A. C. 1988. Nostocophyceae (Cyanophyceae) da Lagoa Bonita, Distrito Federal, Brasil. Parte 1. *Acta Bot . Bras.* 2 (1-2): 7–30.
- Caporaso, J. G.; Kuczynski, J.; Stombaugh, J.; Bittinger, K.; Bushman, F. D.; Costello, E. K.; Fierer, N. 2010. QIIME allows analysis of high- throughput community sequencing data intensity normalization improves color calling in SOLiD sequencing. *Nature Publishing Group* 7 (5): 335–36.
- Cardenas, E.; Tiedje, J. M. 2008. New tools for discovering and characterizing microbial diversity. *Current Opinion in Biotechnology* 19 (6): 544–49.
- Carpenter, S. R. 1988. *Complex interactions in lake communities*. Notre Dame: Library of Congress Cataloging-in-Publication-Data. ISBN: 13-978-1-4612-8372-0.
- Castro, A. P.; Sartori Silva, M. R. S. S.; Quirino, B. F.; Bustamante, M. M. C.; Kruger, R. H. 2016. Microbial diversity in Cerrado biome (neotropical savanna) soils. *Plos One* 11 (2): e0148785.
- Catão, E.; Castro, A. P.; Barreto, C. C.; Kruger, R. H.; Kyaw, C. M. 2013. Diversity of Archaea in brazilian savanna soils. *Archives of Microbiology* 195 (7): 507–12.

- Cheng, W.; Zhang, J.; Wang, Z.; Wang, M.; Xie, S. 2013. Bacterial communities in sediments of a drinking water reservoir. *Annals of Microbiology* 64 (2): 875–78.
- Clarridge, J. E. 2004. Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. *Clin. Microbiol. Rev.* 17 (4): 840–62.
- DeBruyn, J. M.; Nixon, L. T.; Fawaz, M. N.; Johnson, A. M.; Radosevich, M. 2011. Global biogeography and quantitative seasonal dynamics of gemmatimonadetes in soil. *Applied and Environmental Microbiology* 77 (17): 6295–6300.
- Dodds, W. K.; Whiles, M. 2010. *Freshwater ecology: concepts and environmental applications of limnology*. 2.ed. Academic Press. ISBN :9780123747242.
- Dudhagara, P.; Ghelani, A.; Patel, R.; Chaudhari, R.; Bhatt, S. 2015. Bacterial tag encoded FLX Titanium amplicon pyrosequencing (bTEFAP) based assessment of prokaryotic diversity in metagenome of Lonar Soda Lake, India. *Genomics Data* 4. Elsevier B.V.: 8–11.
- Edgar, R. C. 2010. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics* 26 (19): 2460–61.
- Eiten, G. 1972. The Cerrado vegetation of Brazil. *The Botanical Review* 38 (2): 201–338.
- Embrapa, Centro Nacional de Pesquisa de Solos. 1997. *Manual de métodos de análise de solo*. 2.ed. Rio de Janeiro: Embrapa.
- Embrapa, Centro Nacional de Pesquisa de Solos .2000. *Fertilidade de solos: interpretação de resultados de análises do solo*. Disponível em <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_1_ed/feranalise.htm>. Acesso em 09 Fev. 2016.
- Esteves, F. A. 1998. *Fundamentos de limnologia*. 2a ed. Rio de Janeiro: Interciência.
- Estrela, L. M. B; Fonseca, B. M. B; Bicudo, C. E. M. 2011. Desmídias perifíticas de cinco lagoas do Distrito Federal, Brasil : I - gênero *Cosmarium* Corda ex Ralfs. *Hoehnea* 38 (4): 527–52.
- Farag, I. F.; Davis, J. P.; Youssef, N. H.; Elshahed, M. S. 2014. Global patterns of abundance, diversity and community structure of the Aminicenantes (Candidate Phylum OP8). *PLoS ONE* 9 (3).
- Fernandes, C. A. 1981. *Variações sazonais nos fatores ambientais e fitoplâncton em duas lagoas do Distrito Federal*. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade de Brasília.
- Ferris, M. J.; Muezezer, G.; Ward, D. M. 1996. Denaturing gradient gel electrophoresis profiles of 16S rRNA-defined populations inhabiting a hot spring microbial mat community. *Appl. Environ. Microbiol.* 62:340-346.
- Fonseca, A. L. S.; Marinho, C. C.; Esteves, F. A. 2015. Aquatic macrophytes detritus quality and sulfate availability shape the methane production pattern in a dystrophic coastal lagoon. *American Journal of Plant Sciences* (6): 1675-1684.
- Fonseca, B. M.; Estrela, L. M. B. 2014. Desmídias perifíticas de cinco lagoas do Distrito Federal, Brasil : II - gêneros *Euastrum* Ehrenberg ex Ralfs, *Micrasterias* C. Agardh ex Ralfs e *Triploceras* Bailey. *Hoehnea* 42 (2): 399–417.
- Fonseca, B. M.; Mendonça-Galvão, L.; Padovesi-Fonseca, C.; Abreu, L. M.; Fernandes, A. C. M. 2014. Nutrient baselines of Cerrado low-order streams: comparing natural and impacted sites in central Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment* 186 (1): 19–33.
- Fuerst, J. A. 2010. Beyond prokaryotes and eukaryotes: Planctomycetes and Cell organization. *Nature Education* 3(9):44. Disponível em < <http://www.nature.com/scitable/topicpage/beyond-prokaryotes-and-eukaryotes-planctomycetes-and-cell-14158971>> Acesso em 24 Jan. 2016.

Gomes, P. P. 2007. Variação espacial e temporal da comunidade fitoplanctônica da Lagoa Bonita , DF. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade de Brasília.

Gomes, P. P.; Ibañez, M. S. R.; Freitas, J. S. 2010. Spatial and temporal variation of *Peridinium Umbonatum* F. Stein, 1883 (Dinophyceae) and its relationship with total phytoplankton of a shallow, oligotrophic lake in central Brazil (Lagoon Bonita, Distrito Federal). *Acta Limnologica Brasiliense* 22 (3): 317–24.

Haas, B. J.; Gevers, D.; Earl, A. M.; Feldgarden, M.; Ward, D. V.; Giannoukos, G.; Ciulla, D.; Tabbaa, D.; Highlander, S. K.; Sodergren, E.; Methe, B.; Desantis, T. Z.; Petrosino, J. F.; Knight, R.; Birren, B. W. 2011. Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons. *Genome Res*, v. 21, n. 3, p. 494-504.

Hammer, O.; Harper, D. A. T.; Ryan, P. D. 2001. Past: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1):9.

Hunt, D. E.; Ward, C. S. 2015. A Network-based approach to disturbance transmission through microbial interactions. *Frontiers in Microbiology* 6 (October): 1–8.

Hunter, S.; Corbett, M.; Denise, H.; Fraser, M.; Gonzalez-Beltran, A.; Hunter, C.; Jones, P. 2014. EBI metagenomics - a new resource for the analysis and archiving of metagenomic data. *Nucleic Acids Research* 42 (D1): D600–606.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2004. Mapa de biomas do Brasil: escala 1:5.000.000. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/21052004biomashtml.shtm>> Acesso em 20 Jan. 2016.

INMET, Instituto Nacional de Meteorologia. Dados meteorológicos de precipitação. Disponível em <<http://www.inmet.gov.br/portal/>>. Acesso em 05 jan.2016.

Kemker, C. 2014. Sediment transport and deposition. In: *Fundamentals of environmental measurements*. Fondriest Environmental, Inc. 5 Dec. Disponível em <<http://www.fondriest.com/environmental-measurements/parameters/hydrology/sediment-transport-deposition/>> Acesso 07 jan.2015.

Klink, C.; Machado, R. B. 2005. Conservation of the brazilian Cerrado. *Conservation Biology* 19 (3): 707–13.

Likens, E. G. 2010. *Lake ecosystem ecology: a global perspective*. San Diego: Elsevier. ISBN 978e0123820020.

Lima, E. F. W.; Silva, E. M. 2008. Recursos hídricos do bioma Cerrado: importância e situação. In: Sano, S. M.; Almeida, S. P.; Ribeiro, J. F. *Cerrado: Ecologia e Flora*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica.

Liu, F. H.; Lin, G. H.; Gao, G.; Qin, B. Q.; Zhang, J. S.; Zhao, G. P.; Zhou, Z. H.; Shen, J. H. 2009. Bacterial and archaeal assemblages in sediments of a large shallow freshwater lake, Lake Taihu, as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis. *Journal of Applied Microbiology* 106 (3): 1022–32.

Lopes, A.S.; Cox, F.R. 1977. A survey of the fertility status of surface soils under cerrado vegetation in Brazil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, Madison, 41(4): 742-7.

Mackenzie, A.; Ball, A. S.; Virdee, S. R. 1998. *Freshwater biomes*. In: *The instant notes in ecology*. Bios scientific publishers Ltd, 9 Newtec Place, Magdalen Road, Oxford OX4 IRE, UK.

Madigan, M. T.; Markinko, J. M.; Stahl, D. A., Clark, D. P. 2012. *Brock biology of microorganisms*. 13 ed. San Francisco: Benjamin Cummings. ISBN 9780321649638 032164963X 9780321726759 0321726758.

Madsen, E. L. 2008. Environmental microbiology: from genomes to biogeochemistry. Oxford: Blackwell Publishing Ltd. ISBN 978-1-4051-3647-1.

Marinho, C. C.; Palma-Silva, C.; Albertoni, E. F.; Esteves, F. A. 2015. Emergent macrophytes alter the sediment composition in a small, shallow subtropical lake: implications for methane emission. *American Journal of Plant Sciences* 6: 315–22.

MMA, Ministério do Meio Ambiente. 2009. Plano de ação para prevenção e controle do desmatamento e das queimadas no Cerrado. Disponível em <http://www.fundoamazonia.gov.br/FundoAmazonia/export/sites/default/site_pt/Galerias/Arquivos/Publicacoes/Plano_Estadual_do_Maranhxo.pdf> Acesso em 01 Set.2015.

Moreira, M. 2013. Identificação de consórcio bacteriano com potencial para biorremediação de arsênio e sulfato. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade de Ouro Preto.

Newton, R. J., S. E.; Eiler, J. A.; McMahon, K. D.; Bertilsson, S. 2011. A guide to the natural history of freshwater lake bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. Vol. 75.

Nilssen, J.P. 1984. Tropical lakes - functional ecology and future development: the need for a process-orientated approach. *Hydrobiologia* 113: 231–42.

Odum, E. P.; Barret, G. W. 2007. *Fundamentos de Ecologia*. São Paulo: Thomson Learning.

Ogunseitan, O. 2005. Microbial diversity: form and function in prokaryotes. Oxford: Blackwell Science Ltd. ISBN: 9780632047086.

Oulas, A.; Pavludi, C.; Polymenakou, P.; Pavlopoulos, G. A.; Papanikolaou, N.; Kotoulas, G.; Arvanitidis, C.; Iliopoulos, I. 2015. Metagenomics: tools and insights for analyzing next-generation sequencing data derived from biodiversity studies. *Bioinformatics and Biology Insights*, 75–88.

Pace, M.; Prairie, Y. T. 2005. Respiration in Lakes. In: Del Giorgio, P. A.; Williams, P. J. B. (eds), *Respiration in aquatic ecosystems*. Oxford University Press, 103:121.

Padovesi-Fonseca C. 2005. Caracterização dos ecossistemas aquáticos do cerrado. In: Scariot A.; Sousa-Silva J. C.; Felfili J. M (orgs). *Cerrado: ecologia, biodiversidade e conservação*. MMA, Distrito Federal, Brasil, p 422-423.

Paerl, H. W.; Pinckney, J. L. 1996. A mini-review of microbial consortia: their roles in Aquatic Production and Biogeochemical Cycling. *Microbial Ecology* 31: 225–47.

Price, M. N.; Dehal, P. S.; Arkin, A. P. 2010. FastTree 2- approximately maximum likelihood trees for large alignments. *PLoS One*, v. 5, n. 3, p. e9490.

Quirino, B. F.; Pappas, G. J.; Tagliaferro, A. C.; Collevatti, R. G.; Leonardecz, E. N.; Sartori Silva, M. R. S. S.; Bustamante, M. M. C.; Kruger, R. H. 2009. Molecular phylogenetic diversity of bacteria associated with soil of the savanna-like Cerrado vegetation. *Microbiological Research* 164 (1): 59–70

Rodrigues, T.; Catão, E.; Bustamante, M. M. C.; Quirino, B. F.; Kruger, R. H.; Kyaw, C. M. 2014. Seasonal effects in a lake sediment archaeal community of the brazilian savanna. *Archaea*, vol. 2014, Article ID 957145.

Roesch, L. F. W.; Fulthorpe, R. R.; Riva, A.; Casella, G.; Km, A.; Kent, A. D.; Daroub, S. H.; Camargo, F. A. O.; Farmerie, W. G.; Triplett, E. W. 2007. Pyrosequencing enumerates and contracts soil microbial diversity. *ISME Journal* 1 (4): 283–90.

Ronquin, C. C. 2010. Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para regiões tropicais. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*, Campinas: Embrapa.

Roske, K.; Roske, I.; Uhlmann, D. 2008. Characterization of the bacterial population and chemistry in the bottom sediment of a laterally subdivided drinking water reservoir system. *Limnologia Ecology and Management of Inland Waters*. v.38, p.367-377.

Salvador, J. T.; Carvalho, T. C. 2011. Relações cálcio e magnésio presentes no solo e teores foliares de macronutrientes. *Rev. Acad. Ciência Agrária Ambiental*, 9: 27–32.

Santana, R. H.; Catão, E.; Lopes, F. A. C.; Constantino, R.; Barreto, C. C.; Kruger, R. H. 2015. The gut microbiota of workers of the litter-feeding termite *syntermes wheeleri* (termitidae: syntermitinae): archaeal, bacterial, and fungal communities. *Microbial Ecology*.

Santos Fonseca, A. L.; Marinho, C. C.; Esteves, F. A. 2015. Aquatic macrophytes detritus quality and sulfate availability shape the methane production pattern in a dystrophic coastal lagoon. *American Journal of Plant Sciences* 06 (10): 1675–84. doi:10.4236/ajps.2015.610167.

Sartori Silva, M. R. S. 2004. Produção de serapilheira, biomassa e diversidade de comunidades bacterianas do solo em áreas de Cerrado sob diferentes usos e manejos. Dissertação (Mestrado). Universidade de Brasília. Brasília, 77 p. 2004.

Sartori Silva, M. R. S. 2012. Diversidade de comunidades bacterianas de solo de cerrado em resposta a diferentes alterações dos ecossistemas. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade de Brasília.

Scheffer, M.; Van Nes, E. H. 2007. Shallow lakes theory revisited: various alternative regimes driven by climate, nutrients, depth and lake size. *Hydrobiologia* 584: 455–66.

Seduma, Secretaria de Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente. 2008. Fonseca, F. O. (org). *Águas Emendadas*. Brasília: Seduma.

SEDUMA. Secretaria de Desenvolvimento Urbano e meio Ambiente- Brasil., 2008. *Águas Emendadas*. DF.

Silva, J. S. O. 2008. Características químicas da água de córregos do Distrito Federal sob diferentes usos e cobertura do solo. Tese (doutorado em Ecologia) – Universidade de Brasília, 153p.

Song, H. Z.; Du, L. B.; Wang, G.; Ding, Y. 2012. Bacterial communities in sediments of the shallow lake dongping in China. *Journal Of Applied Microbiology* 112 (1): 79–89.

Sousa, F. D. R. 2012. Diversidade da fauna de cladocera (Crustacea, Branchiopoda) associada à macrófitas em áreas úmidas naturais do Cerrado do Brasil central. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade de Brasília.

Sousa, F. D. R.; Elmoor-Loureiro, L. M. A.; Mendonça-Galvão, L. 2013. Cladocerans (Crustacea, Anomopoda and Ctenopoda) from Cerrado of central Brazil: inventory of Phytophilous community in natural wetlands. *Biota Neotropica* 13 (3): 222–29.

Sousa, F. D. R.; Elmoor-Loureiro, L. M. A.; Mendonça-Galvão, L.; Pujol-Luz, J. R. 2014. Evaluation of a new sampling method for assessing cladocera richness (Crustacea, Branchiopoda) in macrophyte-rich wetlands. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology* 50 (2): 143–53.

Spring, S.; Schulze, R.; Overmann, J. et al. 2000. Identification and characterization of ecologically significant prokaryotes in the sediment of freshwater lakes: molecular and cultivation studies. *FEMS Microbiology Reviews*. V. 24, p.573-590, 2000.

Torres, I. C.; Inglett, K. S.; Reddy, K. R. 2011. Heterotrophic microbial activity in lake sediments: effects of organic electron donors. *Biogeochemistry* 104: 165–81.

Tsuboi, S.; Yamamura, S.; Imai, A.; Satou, T.; Iwasaki, K. 2014. Linking temporal changes in bacterial community structures with the detection and phylogenetic analysis of neutral

metalloprotease genes in the sediments of a hypereutrophic lake. *Microbes and Environments* 29 (3): 314–21.

Vissers, E. W.; Blaga, C. I.; Bodelier, P. L. E.; Muyzer, G.; Schleper, C.; Tourna, M.; Laanbroek, H. J.; Damste, J. S. S. 2013. Seasonal and vertical distribution of putative ammonia-oxidizing thaumarchaeotal communities in an oligotrophic lake. *FEMS Microbiol Ecol*, 83(2): 515–26.

Wang, Q.; Garrity, G. M.; Tiedje, J. M.; Cole, J. R. 2007. naive bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and Environmental Microbiology* 73 (16): 5261–67.

Ward, N. L.; Challacombe, J. F.; Janssen, P. H.; Henrissat, B.; Coutinho, P. M.; Wu, M.; Xie, G. 2009. Three genomes from the phylum acidobacteria provide insight into the lifestyles of these microorganisms in soils. *Applied and Environmental Microbiology* 75 (7): 2046–56.

Wetzel, R. G., 2001. Sediments and microflora. In: _____. *Limnology lake and river ecosystems*. 3 ed. San Diego: Academic Press. ISBN: 0-12-744760-1.

Wilhelm, L.; Singer, G. A.; Fasching, C.; Battin, T. J.; & Besemer, K. 2013. Microbial biodiversity in glacier-fed streams. *The ISME Journal*, 7(8), 1651–1660.

Woese, C. R.; Kandler, O.; Wheelis, M. L. 1990. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87 (12): 4576–79.

Yarza, P.; Yilmaz, P.; Pruesse, E.; Glöckner, F. O.; Ludwig, W.; Schleifer, K. W.; Whitman, W. B.; Euzéby, J.; Amann, R.; Rosselló-Móra, R. 2014. Uniting the classification of cultured and uncultured bacteria and archaea using 16s rRNA gene sequences. *Nature Reviews Microbiology* 12 (9). Nature Publishing Group: 635–45.

Ye, W.; Liu, X.; Lin, S.; Tan, J.; Pan, J.; Li, D.; Yang, H. 2009. the vertical distribution of bacterial and archaeal communities in the water and sediment of Lake Taihu. *FEMS Microbiology Ecology* 70 (2): 263–76.

Yeoh, Y. K.; Sekiguchi, Y.; Parks, D. H.; Hugenholtz, P. 2015. Comparative genomics of candidate phylum TM6 suggests that parasitism is widespread and ancestral in this lineage. *Molecular Biology and Evolution*.

Zhang, H. H.; Huang, T. L.; Chen, S. N.; Yang, X.; Lv, K.; Sekar, R. 2014a. Abundance and diversity of bacteria in oxygen minimum drinking water reservoir sediments studied by quantitative PCR and pyrosequencing. *Microbial Ecology*, 618–29.

Zhang, J. Yang, Y.; Zhao, L.; Li, Y.; Xie, S.; Liu, Y. 2014b. Distribution of sediment bacterial and archaeal communities in Plateau freshwater lakes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 3291–3302.

Zhang, L, Wang, S.; Li, Y. 2015. Spatial and temporal distributions of microorganisms and their role in the evolution of Erhai Lake eutrophication. *Environmental Earth Sciences* 74(5):3887-3896.

Zhou, J.; He, Z.; Yang, Y.; Deng, Y.; Tringe, S. G.; Alvarez-Cohen, L. 2015. High-throughput metagenomic technologies for complex microbial community analysis: open and closed formats 6 (1): 1–17.

APÊNDICE A – MAPAS DE USO DA TERRA¹ NO ENTORNO DAS LAGOAS BONITA (ESECAE/DF) E CABOCLA (CIF/GO)



¹ Imagens obtidas por meio do Sistema de Observação e Monitoramento da Agricultura no Brasil (SOMA BRASIL 2014) – Embrapa, monitoramento por satélite (mapas.cnpm.embrapa.br/somabrasil/webgis.html).

APÊNDICE B - QUADRANTES DE COLETAS NAS CAMPANHAS CHUVA-SECA, SECA E SECA-CHUVA COM OS PONTOS E COORDENADAS GEOGRÁFICAS SORTEADAS PARA AS LAGOAS BONITA E CABOCLA.

Período	Data de coleta	Lagoa	Ponto	Código	Longitude (W)	Latitude (S)
Chuva-seca (CS)	02/05/2014	Bonita	1	B1CS*	47°41'30,4"	15°35'7,32"
			2	B2CS*	47°41'11,7"	15°35'33,8"
			3	B3CS	47°41'14,6"	15°35'50,5"
			4	B4CS*	47°41'47,4"	15°35'33,4"
			5	B5CS	47°41'29,6"	15°35'27,6"
	12/05/2014	Cabocla	1	C1CS*	47°15'14,5"	15°47'54,5"
			2	C2CS*	47°15'19,5"	15°47'53,4"
			3	C3CS	47°15'13,0"	15°47'44,1"
			4	C4CS*	47°15'15,1"	15°47'34,3"
			5	C5CS	47°15'00,5"	15°48'15,4"
Seca (S)	08/08/2014	Bonita	1	B1S*	47°41'07,01"	15°34'43,75"
			2	B2S	47°41'13,1"	15°34'44,85"
			3	B3S	47°41'14,0"	15°34'45,8"
			4	B4S*	47°41'49,2"	15°34'22,3"
			5	B5S*	47°41'56,9"	15°34'22,3"
	16/08/2014	Cabocla	1	C1S*	47°15'25,95"	15°47'29,58"
			2	C2S	47°15'20,68"	15°47'38,74"
			3	C3S	47°15'34,51"	15°47'13,88"
			4	C4S*	47°15'17,57"	15°48'1,54"
			5	C5S*	47°15'26,61"	15°47'28,27"
Seca-chuva (SC)	03/12/2014	Bonita	1	B1SC*	47°41'50,02"	15°34'55,37"
			2	B2SC*	47°41'53,23"	15°34'44,93"
			3	B3SC	47°41'48,33"	15°34'29,38"
			4	B4SC*	47°41'55,94"	15°34'46,85"
			5	B5SC	47°41'54,38"	15°35'45,90"
	29/11/2014	Cabocla	1	C1SC*	47°15'08,0"	15°48'01,1"
			2	C2SC*	47°15'07,9"	15°47'56,4"
			3	C3SC	47°15'16,3"	15°47'57,8"
			4	C4SC*	47°15'11,0"	15°47'53,4"
			5	C5SC	47°15'11,1"	15°47'54,3"
Chuva (C)	11/03/2015	Bonita	1	B1C*	-	-
			2	B2C	-	-
			3	B3C*	-	-
			4	B4C	-	-
			5	B5C*	-	-
	24/03/2015	Cabocla	1	C1C	-	-
			2	C2C*	-	-
			3	C3C*	-	-
			4	C4C	-	-
			5	C5C*	-	-

* representam as amostras submetidas ao piresequenciamento, como descrito no item 5.4.3 (pág. 34).

APÊNDICE C – TABELAS DA SELEÇÃO DE MODELOS LINEAR GENERALIZADOS (GLM)

Seleção de modelo para o filo Proteobacteria

	(Intrc)	CN	Cond	CT	NT	OD	pH	Profund	Temp	df	logLik	AIC	delta	weight
36	8014	-208.8	84.79				-678.8			5	-169.22	348.4	0	0.202
164	9393	-201.2	78.14				-647.2		-62.48	6	-168.48	349	0.52	0.155
68	4570	-196.9	57.15					-698.1		5	-169.69	349.4	0.94	0.126
100	6940	-178.4	73.73				-500.4	-394.1		6	-168.8	349.6	1.16	0.113
196	6059	-193	52.42					-644.7	-59.74	6	-169.05	350.1	1.67	0.088
228	8357	-174.9	68.85				-492.2	-346.8	-58.38	7	-168.14	350.3	1.83	0.081
52	7367	-215.8	81.46			65.94	-617.6			6	-169.15	350.3	1.86	0.08
44	8289	-218.3	83.5		-55.26		-686.8			6	-169.17	350.3	1.89	0.078
40	8168	-212.6	83.58	-3.39			-682.3			6	-169.18	350.4	1.92	0.077

Models ranked by AIC(x)

Seleção de modelos para o filo Acidobacteria

	(Intrc)	CN	Cond	CT	NT	OD	pH	Profund	Temp	df	logLik	AIC	delta	weight
66	4217	-167.9						-818.2		4	-170.29	348.6	0	0.157
98	6023	-142.6					-381.3	-629.9		5	-169.7	349.4	0.82	0.104
194	2765	-167.5						-886	58.23	5	-169.71	349.4	0.83	0.103
34	7554	-190					-611.1			4	-170.86	349.7	1.14	0.089
97	5144						-529.9	-858.4		4	-170.96	349.9	1.34	0.08
65	2216							-1200		3	-172.03	350.1	1.47	0.075
226	4555	-143.4					-364.1	-703.1	55.6	6	-169.14	350.3	1.7	0.067
74	3778	-143.1			92.44			-869.4		5	-170.16	350.3	1.73	0.066
70	3914	-152.2		6.459				-871.6		5	-170.16	350.3	1.73	0.066
73	1879				216.4			-1188		4	-171.17	350.3	1.76	0.065
82	3786	-178.2				83.3		-740.6		5	-170.18	350.4	1.77	0.065
68	4217	-156.4	-13.01					-862.8		5	-170.18	350.4	1.78	0.064

Seleção de modelos para o filo Firmicutes

	(Intrc)	CN	Cond	CT	NT	OD	pH	Profund	Temp	df	logLik	AIC	delta	weight
11	2129		-61.3		-583.8					4	-177.78	363.6	0	0.092
25	3436				-491	-330.1				4	-177.968	363.9	0.38	0.076
9	1435				-504.8					3	-178.976	364	0.39	0.075
21	3547			-36.71		-347.9				4	-178.03	364.1	0.5	0.071
27	3671		-52.35		-561	-271.2				5	-177.059	364.1	0.56	0.069
7	2072		-58.26	-42.07						4	-178.072	364.1	0.58	0.068
5	1421			-36.9						3	-179.14	364.3	0.72	0.064
23	3772		-49.02	-41.09		-295.2				5	-177.232	364.5	0.9	0.058
57	6735				-561.1	-409	-447.9			5	-177.444	364.9	1.33	0.047
8	425.1	117.7	-63.76	-38.28						5	-177.47	364.9	1.38	0.046
24	2124	118.3	-54.52	-37.27		-296.2				6	-176.573	365.1	1.59	0.041
54	5898	183.5		-35		-481.9	-676.1			6	-176.589	365.2	1.62	0.041
22	2140	99.44		-33.08		-353.7				5	-177.594	365.2	1.63	0.041
12	1150	66.14	-63.2		-527.1					5	-177.613	365.2	1.67	0.04
15	2122		-61.76	-13.38	-756.2					5	-177.763	365.5	1.97	0.034
53	5813			-38.99		-404.3	-309.7			5	-177.769	365.5	1.98	0.034
139	2431		-62.24		-583.3				-11.39	5	-177.769	365.5	1.98	0.034
43	2325		-60.51		-588.1		-32.5			5	-177.777	365.6	1.99	0.034
75	2133		-61.35		-584			-4.424		5	-177.78	365.6	2	0.034

Models ranked by AIC(x)

Seleção de modelos para o filo Chloroflexi

	(Intrc)	CN	Cond	CT	NT	OD	pH	Profund	Temp	df	logLik	AIC	delta	weight
33	5870						-895			3	-159.707	325.4	0	0.206
49	4616					131.1	-820.5			4	-158.892	325.8	0.37	0.171
34	5733	52.88					-992.8			4	-159.177	326.4	0.94	0.129
35	5975		10.12				-928			4	-159.536	327.1	1.66	0.09
50	4682	40.58				113.3	-905.7			5	-158.575	327.2	1.74	0.087
97	5628						-840.7	-107.8		4	-159.606	327.2	1.8	0.084
41	6018				-31.18		-911.8			4	-159.659	327.3	1.9	0.08
161	6003						-892.8		-5.676	4	-159.692	327.4	1.97	0.077
37	5895			-0.5418			-897.3			4	-159.704	327.4	1.99	0.076

Models ranked by AIC(x)

Seleção de modelos para o filo Planctomycetes

	(Intrc)	CN	Cond	CT	NT	OD	pH	Profund	Temp	df	logLik	AIC	delta	weight
51	2024		17.11			98.19	-375.1			5	-147.8	305.6	0	0.141
35	3015		22.16				-447.4			4	-148.92	305.8	0.24	0.125
49	1543					130	-301.2			4	-149.02	306	0.44	0.113
59	1760		18.46		56.35	99.13	-348.6			6	-147.34	306.7	1.08	0.082
55	1855		18.53	3.923		98.52	-362.8			6	-147.39	306.8	1.18	0.078
43	2767		23.51		54.93		-422.2			5	-148.52	307	1.45	0.068
39	2851		23.58	3.884			-435.5			5	-148.56	307.1	1.51	0.066
179	1864		18.13			95.55	-383.1		8.333	6	-147.71	307.4	1.82	0.057
113	1369					120.7	-247.4	-117.3		5	-148.71	307.4	1.83	0.056
115	1927		15.98			96.83	-350.2	-43.73		6	-147.76	307.5	1.92	0.054
52	2007	-8.431	16.98			102.1	-356.8			6	-147.76	307.5	1.93	0.054
163	2765		23.34				-455.6		11.2	5	-148.77	307.5	1.94	0.053
57	1313				42.95	132.6	-276.6			5	-148.78	307.6	1.96	0.053

Models ranked by
AIC(x)

Seleção de modelos para o filo Nitrospirae

	(Intrc)	CN	Cond	CT	NT	OD	pH	Profund	Temp	df	logLik	AIC	delta	weight
18	711.9	-69.97				79.7				4	-	280.8	0	0.281
50	406.6	-77.16				90.36	56.03			5	-136.1	282.2	1.43	0.138
146	512.5	-71.1				79.68			8.336	5	-	282.2	1.47	0.135
82	719.3	-64.18				71.72		-47.01		5	-	282.5	1.71	0.12
26	661.3	-67.39			12.82	79				5	-	282.6	1.88	0.11
20	706	-69.16	-1.789			81.57				5	-	282.7	1.91	0.108
22	683.7	-68.93		0.7286		79.57				5	-	282.7	1.92	0.108

Models ranked by AIC(x)

Seleção de modelos para o filo Verrucomicrobia

	(Intrc)	CN	Cond	CT	NT	OD	pH	Profund	Temp	df	logLik	AIC	delta	weight
36	1127	-34.09	18.28				-102.6			5	-133.698	277.4	0	0.068
52	1546	-29.6	20.44			-42.69	-142.2			6	-132.908	277.8	0.42	0.055
4	690.9	-45.96	16							4	-134.938	277.9	0.48	0.054
143	448.8		14.98	-26.68	405.7				-17.56	6	-133.029	278.1	0.66	0.049
164	1381	-32.68	17.06				-96.76		-11.51	6	-133.068	278.1	0.74	0.047
132	1002	-43.65	14.78						-12.83	5	-134.232	278.5	1.07	0.04
68	620.3	-34.57	14.42					-87.82		5	-134.278	278.6	1.16	0.038
63	1068		21.06	-18.29	283.9	-53.39	-130.3			7	-132.309	278.6	1.22	0.037
180	1750	-28.62	19.17			-39.81	-134.2		-10.53	7	-132.347	278.7	1.3	0.036
175	824.2		16.65	-20.69	319		-70.87		-15.73	7	-132.439	278.9	1.48	0.033
207	456.3		14.06	-19.52	311.2			-78.7	-15.13	7	-132.445	278.9	1.5	0.032
44	1018	-30.34	18.79		21.87		-99.4			6	-133.478	279	1.56	0.031
15	-16.7		16.42	-26.54	403					5	-134.479	279	1.56	0.031
123	1114		18.88		47.64	-59.59	-114	-122.6		7	-132.488	279	1.58	0.031
95	364.7		16.14	-16.95	279.7	-45.71		-131.6		7	-132.493	279	1.59	0.031
40	1061	-32.45	18.8	1.456			-101.1			6	-133.501	279	1.61	0.031
51	1607		20.91			-56.57	-206.4			5	-134.54	279.1	1.68	0.029
79	77.44		14.96	-17.2	279.9			-103		6	-133.542	279.1	1.69	0.029
159	607.7		16.02	-28.18	427.4	-29.26			-17.25	7	-132.557	279.1	1.72	0.029
75	127.9		13.69		56.6			-164.4		5	-134.566	279.1	1.74	0.029
91	418.8		14.91		59.74	-46.41		-192.6		6	-133.583	279.2	1.77	0.028
60	1440	-25.22	21.1		24.6	-44.33	-140.1			7	-132.609	279.2	1.82	0.028
100	1031	-31.37	17.3				-86.67	-35.16		6	-133.614	279.2	1.83	0.027
47	511		18.31	-19.1	295.5		-88.2			6	-133.644	279.3	1.89	0.027
12	578.6	-41.1	16.69		25.82					5	-134.662	279.3	1.93	0.026
56	1483	-27.79	21.03	-1.548		-43.41	-141.3			7	-132.668	279.3	1.94	0.026
116	1433	-24.89	19.08			-46.63	-120.6	-55.66		7	-132.688	279.4	1.98	0.025
115	1374		18.18			-59.86	-146.1	-105.7		6	-133.693	279.4	1.99	0.025
196	905.6	-33.84	13.52					-77.59	-11.44	6	-133.694	279.4	1.99	0.025

Models ranked by AIC(x)

Seleção de modelos para o filo Actinobacteria

	(Intrc)	CN	Cond	CT	NT	OD	pH	Profund	Temp	df	logLik	AIC	delta	weight
98	827.2	24.99					-154.6	-134.9		5	-129.843	269.7	0	0.114
109	1356			19.1	-279.7		-180	-129.6		6	-128.963	269.9	0.24	0.101
33	1193						-176.4			3	-132.267	270.5	0.85	0.075
97	981.2						-128.6	-94.82		4	-131.279	270.6	0.87	0.074
226	1056	25.12					-157.3	-123.4	-8.685	6	-129.331	270.7	0.98	0.07
41	1361				-35.24		-195.3			4	-131.501	271	1.31	0.059
161	1444						-172.3		-10.68	4	-131.62	271.2	1.55	0.053
35	1249		5.358				-193.8			4	-131.677	271.4	1.67	0.05
237	1492			18.07	-265.4		-179.5	-119.7	-5.741	7	-128.73	271.5	1.77	0.047
105	1147				-28.95		-150.5	-82.27		5	-130.737	271.5	1.79	0.047
34	1155	14.84					-203.8			4	-131.762	271.5	1.84	0.046
106	906.7	22.4			-11.08		-160.3	-125.9		6	-129.771	271.5	1.86	0.045
100	871.6	24.06	1.757				-164	-124.2		6	-129.779	271.6	1.87	0.045
45	1568			11.9	-193.7		-229.8			5	-130.791	271.6	1.89	0.044
37	1288			2.049			-185.1			4	-131.794	271.6	1.9	0.044
114	890.3	26.3			-8	249	-158.9	-140.4		6	-129.802	271.6	1.92	0.044
102	864.1	24.02		0.4809			-157.6	-129.4		6	-129.816	271.6	1.94	0.043

Models ranked by AIC(x)

Seleção de modelos para o filo Chlorobi

	(Intrc)	CN	Cond	CT	NT	OD	pH	Profund	Temp	df	logLik	AIC	delta	weight
143	341.1		4.97	-11.98	181.6				-11.45	6	-123.588	259.2	0	0.061
129	443.1								-12.37	3	-126.639	259.3	0.1	0.057
141	436.4			-11.41	168.1				-12.99	5	-124.646	259.3	0.12	0.057
130	601.3	-13.26							-11.42	4	-125.756	259.5	0.34	0.051
4	311.5	-17.4	5.548							4	-125.854	259.7	0.53	0.046
142	98.25	27.95		-27.02	394				-15.76	6	-123.893	259.8	0.61	0.045
132	546.4	-15.65	4.625						-9.699	5	-124.923	259.8	0.67	0.043
1	123.8									2	-127.971	259.9	0.77	0.041
144	55.28	-724.33	4.526	-25.51	377.1				-13.99	7	-122.973	259.9	0.77	0.041
2	327.8	-14.82								3	-126.98	260	0.79	0.041
15	37.68		5.908	-11.88	179.9					5	-125.041	260.1	0.91	0.038
137	420.6				21.64				-12.77	4	-126.117	260.2	1.06	0.036
131	379.3		3.537						-11.19	4	-126.181	260.4	1.19	0.033
159	437.1		5.599	-12.88	194.8	-17.67			-11.26	7	-123.183	260.4	1.19	0.033
158	110.1	-39.7		-34.77	505.4	-25.21			-16.94	7	-123.188	260.4	1.2	0.033
207	337.5		5.405	-15.37	226.4			37.33	-12.6	7	-123.282	260.6	1.39	0.03
3	81.83		4.478							3	-127.295	260.6	1.41	0.03
173	235.5			-14.46	213.1		34.95		-13.64	6	-124.314	260.6	1.45	0.029
139	332.4		4.565		27.31				-11.34	5	-125.343	260.7	1.51	0.028
13	103.9			-11.18	163.2					4	-126.369	260.7	1.56	0.028
174	-176.6	-30.71		-32.23	470.4		41.99		-16.81	7	-123.384	260.8	1.59	0.027
133	428.6			-0.9879					-12.59	4	-126.452	260.9	1.73	0.025
193	442.5							26.35	-11.52	4	-126.464	260.9	1.75	0.025
175	242		4.53	-13.56	204.5		18.72		-11.93	7	-123.493	261	1.81	0.024
157	503.1			-11.92	175.2	-10.92			-13	6	-124.501	261	1.83	0.024
205	439.5			-13.61	196.9			24.6	-13.84	6	-124.523	261	1.87	0.024
161	549.3						18.64		-12.12	4	-126.524	261	1.87	0.024
11	31.88		5.497		26.75					4	-126.572	261.1	1.97	0.023

Models ranked by AIC(x)

Seleção de modelos para o filo Spirochaetae

	(Intrc)	CN	Cond	CT	NT	OD	pH	Profund	Temp	df	logLik	AIC	delta	weight
3	57.51		6.753							3	-120.402	246.8	0	0.241
19	148.6		7.217			-15.58				4	-119.966	247.9	1.13	0.137
131	172.8		6.389						-4.334	4	-120.101	248.2	1.4	0.12
67	35.05		7.001					24.75		4	-120.122	248.2	1.44	0.117
7	75.34		6.422	-0.7263						4	-120.231	248.5	1.66	0.105
11	70.96		6.479		-7.201					4	-120.307	248.6	1.81	0.097
35	8.816		6.506				8.43			4	-120.365	248.7	1.92	0.092
4	76.79	-1.461	6.843							4	-120.384	248.8	1.96	0.09

Models ranked by AIC(x)

Seleção de modelos para o grupo de bactérias não classificadas (Bacteria;NC)

	(Intrc)	CN	Cond	CT	NT	OD	pH	Profund	Temp	df	logLik	AIC	delta	weight
67	-2.802		6.851					64.01		4	-119.257	246.5	0	0.095
99	250.3		8.637				-49.2	98.26		5	-118.388	246.8	0.26	0.083
32	-583.7	52.83	6.253	-25.34	372.4	-22.51				7	-116.389	246.8	0.27	0.083
16	-579.7	43.71	5.559	-19.12	282.5					6	-117.4	246.8	0.29	0.082
4	-133.9	14.34	5.327							4	-119.404	246.8	0.3	0.082
80	-556.6	39.05	6.295	-20.95	303.4			48.72		7	-116.455	246.9	0.4	0.078
100	168.9	10.86	7.978				-56.63	77.42		6	-117.565	247.1	0.62	0.069
68	-99.38	8.763	6.101					43.01		5	-118.755	247.5	1	0.057
144	-533.9	48.38	5.162	-21.74	320.6				-4.287	7	-117.056	248.1	1.6	0.043
12	-190.8	16.8	5.674		13.09					5	-119.113	248.2	1.71	0.04
3	55.29		6.209							3	-121.139	248.3	1.76	0.039
36	-42.25	16.84	5.806				-21.58			5	-119.189	248.4	1.87	0.037
2	-118.3	16.82								3	-121.213	248.4	1.91	0.036
83	-31.66		6.744			-4.508		66.78		5	-119.221	248.4	1.93	0.036
195	28.57		6.761					65.29	-1.223	5	-119.231	248.5	1.95	0.036
8	-161.7	15.18	5.585	-0.6777						5	-119.248	248.5	1.98	0.035
75	-3.618		6.867		0.4151			64.05		5	-119.256	248.5	2	0.035
71	-2.699		6.849	-0.00455				64.02		5	-119.257	248.5	2	0.035

Models ranked by AIC(x)

Seleção de modelos para o filo OP8

	(Intrc)	CN	Cond	CT	NT	OD	pH	Profund	Temp	df	logLik	AIC	delta	weight
87	-91.94		3.415	-1.914		15.13		89.81		6	-107.713	227.4	0	0.203
71	3.104		3.807	-1.835				80.35		5	-108.804	227.6	0.18	0.186
91	-86.82		3.303		-24.17	15		82.97		6	-108.036	228.1	0.65	0.147
75	7.176		3.697		-23.15			73.87		5	-109.08	228.2	0.74	0.141
119	-169.3		2.951	-1.829		16.62	12.81	81.63		7	-107.57	229.1	1.71	0.086
215	-63.19		3.316	-1.916		15.49		91.3	-1.21	7	-107.642	229.3	1.86	0.08
95	-97.15		3.539	-3.234	-17.81	15.13		94.6		7	-107.644	229.3	1.86	0.08
88	-82.6	-1.027	3.473	-1.957		15.59		92.64		7	-107.696	229.4	1.97	0.076

Models ranked by AIC(x)

Seleção de modelos para o filo Chlamydiae

	(Intrc)	CN	Cond	CT	NT	OD	pH	Profund	Temp	df	logLik	AIC	delta	weight
18	105.3	-22.8				45.43				4	-121.676	251.4	0	0.289
82	109.8	-19.26				40.55		-28.76		5	-121.469	252.9	1.58	0.131
20	100.1	-22.08	-1.586			47.09				5	-121.538	253.1	1.72	0.122
146	34.73	-23.2				45.42			2.952	5	-121.55	253.1	1.75	0.121
26	134.2	-24.27			-7.313	45.84				5	-121.601	253.2	1.85	0.115
22	124.8	-23.52		-0.5034		45.53				5	-121.605	253.2	1.86	0.114
50	152	-21.7				43.81	-8.563			5	-121.651	253.3	1.95	0.109

Models ranked by AIC(x)

Seleção de modelos para o filo WD272

	(Intrc)	CN	Cond	CT	NT	OD	pH	Profund	Temp	df	logLik	AIC	delta	weight
109	825			13.54	-192.2		-123.4	-42.9		6	-109.84	231.7	0	0.125
48	1212	-18.82	2.54	22.3	-322.3		-151.1			7	-108.862	231.7	0.04	0.123
46	1168	-17.5		21.12	-307.9		-142.5			6	-109.863	231.7	0.05	0.123
45	895.1			11.15	-163.7		-139.9			5	-111.014	232	0.35	0.105
110	1055	-13.88		20.97	-300.8		-128.8	-34.25		7	-109.101	232.2	0.52	0.097
47	916.4		2.279	11.53	-166.9		-147.4			6	-110.292	232.6	0.9	0.08
173	971.6			10.85	-158.8		-137.1		-3.658	6	-110.499	233	1.32	0.065
62	1133	-21.14		23.14	-336.6	9.222	-137.4			7	-109.552	233.1	1.42	0.062
237	886.5			13.07	-185.8		-123.2	-38.43	-2.592	7	-109.569	233.1	1.46	0.061
111	850.8		1.43	13.35	-189.1		-131.1	-35.23		7	-109.57	233.1	1.46	0.06
174	1176	-15.23		19.65	-286.4		-140.6		-2.084	7	-109.701	233.4	1.72	0.053
125	843.4			13.6	-193.2	2.013	-124.3	-43.88		7	-109.823	233.6	1.97	0.047

Seleção de modelos para o filo Bacteroidetes

	(Intrc)	CN	Cond	CT	NT	OD	pH	Profund	Temp	df	logLik	AIC	delta	weight
21	933.7			-4.688		-120.4				4	-140.953	289.9	0	0.068
17	841.7					-120.9				3	-142.035	290.1	0.16	0.062
89	1140				-57.51	-138.8		-125.3		5	-140.111	290.2	0.32	0.058
82	777.7	32.89				-156.7		-208.6		5	-140.114	290.2	0.32	0.058
81	1066					-141.1		-123.7		4	-141.122	290.2	0.34	0.057
25	912				-56.73	-118.4				4	-141.134	290.3	0.36	0.056
85	1125			-4.262		-138.4		-110.2		5	-140.167	290.3	0.43	0.055
149	1358			-4.514		-120.3			-16.63	5	-140.235	290.5	0.56	0.051
145	1295					-120.7			-17.6	4	-141.304	290.6	0.7	0.048
153	1337				-54.16	-118.3			-16.62	5	-140.43	290.9	0.95	0.042
210	1104	32.41				-153.4		-189.5	-13.75	6	-139.611	291.2	1.32	0.035
53	1408			-5.166		-132.2	-64.88			5	-140.619	291.2	1.33	0.035
209	1397					-137.9		-105.3	-14.17	5	-140.634	291.3	1.36	0.034
86	893.1	24.64		-3.104		-150.9		-177.5		6	-139.639	291.3	1.37	0.034
57	1504				-69.3	-132.6	-80.31			5	-140.656	291.3	1.41	0.033
217	1443				-55.38	-136		-108.3	-13.07	6	-139.659	291.3	1.41	0.033
213	1444			-4.187		-135.4		-92.68	-13.68	6	-139.672	291.3	1.44	0.033
90	924.2	21.81			-38.24	-150		-181.1		6	-139.76	291.5	1.61	0.03
29	947.8			-9.737	-68.49	-122.9				5	-140.881	291.8	1.85	0.027
94	258.9	78.17		-39.02	-514.2	-174.3		-187.3		7	-138.884	291.8	1.86	0.027
49	1133					-128.3	-40.58			4	-141.913	291.8	1.92	0.026
23	929.6		0.8918	-4.608		-121.4				5	-140.946	291.9	1.99	0.025
158	612.9	77.35		-54.56	-718.2	-150.8			-24.49	7	-138.946	291.9	1.99	0.025
19	832.9		3.08			-124.2				4	-141.951	291.9	2	0.025
22	925.9	0.5486		-4.668		-120.5				5	-140.953	291.9	2	0.025

Models ranked by AIC(x)

Seleção de modelos para o filo TM6

	(Intrc)	CN	Cond	CT	NT	OD	pH	Profund	Temp	df	logLik	AIC	delta	weight
146	209.1	-6.134				15.89			-7.268	5	-96.104	202.2	0	0.109
148	201.9	-6.782	1.284			14.55			-6.789	6	-95.179	202.4	0.15	0.101
180	285	-4.973	1.774			10.98	-16.11		-6.528	7	-94.301	202.6	0.39	0.09
159	135		1.346	-4.452	65.22	11.71			-7.484	7	-94.451	202.9	0.69	0.077
157	150.8			-4.222	60.52	13.34			-7.902	6	-95.502	203	0.8	0.073
210	203.3	-4.444				13.5		-14.09	-6.93	6	-95.605	203.2	1	0.066
209	163					11.37		-25.64	-6.871	5	-96.654	203.3	1.1	0.063
163	381		2.306				-33.32		-6.455	5	-96.828	203.7	1.45	0.053
179	298.9		1.831			8.703	-26.72		-6.715	6	-95.842	203.7	1.48	0.052
212	197.9	-5.373	1.157			12.78		-11.21	-6.568	7	-94.848	203.7	1.49	0.052
178	250.7	-5.138				14.41	-7.802		-7.23	6	-95.89	203.8	1.57	0.05
164	386.8	-3.853	2.358				-26.44		-6.256	6	-95.967	203.9	1.73	0.046
221	159.7			-3.052	45.32	11.6		-13.97	-7.421	7	-94.983	204	1.76	0.045
217	158.1				5.928	11.16		-25.31	-6.99	6	-96.055	204.1	1.9	0.042
154	206.7	-5.978			0.7566	15.85			-7.293	6	-96.096	204.2	1.98	0.04
150	208.8	-6.119		-0.00981		15.89			-7.272	6	-96.104	204.2	2	0.04

Models ranked by AIC(x)

Seleção de modelos para o filo BD1-5

	(Intrc)	CN	Cond	CT	NT	OD	pH	Profund	Temp	df	logLik	AIC	delta	weight
16	-37.9	2.776	0.2939	-1.315	17.74					6	-53.179	118.4	0	0.226
48	-52.82	2.883	0.2452	-1.563	21.32		2.233			7	-52.32	118.6	0.28	0.197
80	-36.78	2.549	0.3297	-1.404	18.76			2.372		7	-52.417	118.8	0.48	0.179
32	-38.03	3.066	0.316	-1.513	20.6	-0.7155				7	-52.839	119.7	1.32	0.117
46	-57.1	3.011		-1.676	22.72		3.061			6	-53.872	119.7	1.39	0.113
4	-14.58	1.074	0.3228							4	-56.17	120.3	1.98	0.084
144	-37.51	2.816	0.2905	-1.337	18.07				-0.037	7	-53.171	120.3	1.98	0.084

Models ranked by AIC(x)

Seleção de modelos para o filo Gemmatimonadetes

	(Intrc)	CN	Cond	CT	NT	OD	pH	Profund	Temp	df	logLik	AIC	delta	weight
97	88.81						-9.75	-16.81		4	-83.335	174.7	0	0.095
65	34.93							-23.1		3	-84.376	174.8	0.08	0.091
66	63.03	-2.357						-17.74		4	-83.422	174.8	0.17	0.087
67	41.79		-0.6519					-24.02		4	-83.63	175.3	0.59	0.07
113	120.9					-3.715	-11.08	-18.36		5	-82.684	175.4	0.7	0.067
98	100.1	-1.839					-7.834	-13.87		5	-82.75	175.5	0.83	0.063
110	205	-7.185		3.923	-56.55		-12.16	-12.82		7	-80.935	175.9	1.2	0.052
68	63.04	-1.928	-0.487					-19.41		5	-83.008	176	1.35	0.048
81	53.21					-2.749		-24.88		4	-84.046	176.1	1.42	0.046
99	80.45		-0.3791				-7.515	-18.79		5	-83.122	176.2	1.57	0.043
73	31.64				2.115			-22.98		4	-84.147	176.3	1.62	0.042
69	32.3			0.1456				-23.5		4	-84.189	176.4	1.71	0.04
34	133.9	-2.882					-12.89			4	-84.247	176.5	1.82	0.038
225	99.81						-9.871	-16.26	-0.4154	5	-83.256	176.5	1.84	0.038
46	247.1	-8.539		3.982	-59.19		-17.29			6	-82.281	176.6	1.89	0.037
82	71.97	-2.142				-1.729		-19.34		5	-83.289	176.6	1.91	0.036
101	85.43			0.05252			-9.309	-17.24		5	-83.31	176.6	1.95	0.036
105	84.93				-0.677		-9.237	-17.11		5	-83.312	176.6	1.95	0.036
193	43.45							-22.7	-0.3427	4	-84.327	176.7	1.99	0.035

Models ranked by AIC(x)

Seleção de modelos para o filo Euryarchaeota

	(Intrc)	CN	Cond	CT	NT	OD	pH	Profund	Temp	df	logLik	AIC	delta	weight
65	850.5							2167		3	-178.732	363.5	0	0.052
97	-2851						669.7	1735		4	-177.812	363.6	0.16	0.048
101	-4389			23.89			870.1	1540		5	-176.831	363.7	0.2	0.047
105	-4556				297.2		894.7	1606		5	-176.97	363.9	0.48	0.041
193	3259							2278	-96.84	4	-177.974	363.9	0.48	0.041
229	-1927			24.23			845.5	1663	-93.78	6	-175.985	364	0.51	0.041
245	-4350			24.43		297.9	952.3	1794	-99.88	7	-175.057	364.1	0.65	0.038
225	-411.2						642.8	1859	-92.11	5	-177.068	364.1	0.67	0.037
233	-2069				310.9		876.7	1730	-96.85	6	-176.078	364.2	0.69	0.037
117	-6796			24.06		277.6	971.1	1654		6	-176.088	364.2	0.71	0.037
249	-4580				319.6	304.6	990.7	1862	-103.2	7	-175.115	364.2	0.77	0.036
113	-5223					274.8	768.3	1849		5	-177.148	364.3	0.83	0.034
234	-3817	169.9			446.9		801.7	1403	-99.87	7	-175.181	364.4	0.9	0.033
106	-6318	164.1			428.1		822.9	1287		6	-176.202	364.4	0.94	0.033
121	-7042				304.5	283.2	1002	1721		6	-176.206	364.4	0.95	0.033
241	-2796					294.7	746.8	1989	-98.13	6	-176.249	364.5	1.03	0.031
69	576.7			15.19				2125		4	-178.345	364.7	1.23	0.028
102	-5435	121.2		28.53			782.7	1308		6	-176.356	364.7	1.25	0.028
81	-531.5					207.8		2301		4	-178.377	364.8	1.29	0.027
66	-388.5	103.9						1930		4	-178.392	364.8	1.32	0.027
230	-2966	123.5		28.95			756.2	1428	-94.79	7	-175.451	364.9	1.44	0.025
73	605				158			2175		4	-178.491	365	1.52	0.024
209	1858					230.5		2434	-102.2	5	-177.505	365	1.55	0.024
197	3025			15.8				2237	-98.9	5	-177.524	365	1.58	0.024
67	590.6		24.69					2202		4	-178.535	365.1	1.61	0.023
74	-1921	190.4			322.9			1751		5	-177.572	365.1	1.68	0.023
202	556.8	195.8			345.1			1860	-103.6	6	-176.603	365.2	1.74	0.022
70	-1438	158.2		22.38				1745		5	-177.606	365.2	1.75	0.022
194	2021	103.4						2043	-96.62	5	-177.613	365.2	1.76	0.022
201	3077				175			2292	-100.5	5	-177.656	365.3	1.85	0.021
98	-3245	64					603	1632		5	-177.683	365.4	1.9	0.02
198	1012	159.2		23.04				1856	-99.51	6	-176.715	365.4	1.97	0.02

Models ranked by AIC(x)

Seleção de modelos para o filo Thaumarchaeota

	(Intrc)	CN	Cond	CT	NT	OD	pH	Profund	Temp	df	logLik	AIC	delta	weight
5	326.8			17.89						3	-162.025	330.1	0	0.127
9	340.2				231.2					3	-162.124	330.2	0.2	0.115
41	-1411				276.7		278			4	-161.153	330.3	0.26	0.112
37	-989.3			19.47			212.2			4	-161.429	330.9	0.81	0.085
133	888.1			18.12					-21.93	4	-161.846	331.7	1.64	0.056
169	-802.3				283.2		292		-27.23	5	-160.855	331.7	1.66	0.056
73	213.8				233.1			151.8		4	-161.884	331.8	1.72	0.054
38	-783.5	-56.31		18.16			310.8			5	-160.93	331.9	1.81	0.052
69	259.9			17.55				90.66		4	-161.94	331.9	1.83	0.051
137	911				234.6				-22.32	4	-161.94	331.9	1.83	0.051
6	594.8	-18.47		17.21						4	-161.962	331.9	1.87	0.05
42	-1223	-33.05			255.3		327.6			5	-160.995	332	1.94	0.048
21	459.3			17.9		-21.69				4	-162.006	332	1.96	0.048
7	348.9		-1.985	17.71						4	-162.02	332	1.99	0.047
13	326.3			15.82	28.01					4	-162.024	332	2	0.047

Models ranked by AIC(x)