

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA APLICADA A
CONSERVAÇÃO E MANEJO DE RECURSOS NATURAIS

Bárbara Dias de Miranda

Estrutura da comunidade microbiana associada a sedimentos de água doce

Juiz de Fora

2020

Bárbara Dias de Miranda

Estrutura da comunidade microbiana associada a sedimentos de água doce

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação e Manejo de Recursos Naturais da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ecologia.
Área de concentração: Biodiversidade

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Simone Jaqueline Cardoso

Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Dionéia Evangelista Cesar

Juiz de Fora

2020

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Miranda, Bárbara Dias de.

Estrutura da comunidade microbiana associada a sedimentos de água doce / Bárbara Dias de Miranda. -- 2020.

77 p.

Orientadora: Simone Jaqueline Cardoso

Coorientadora: Dioneia Evangelista Cesar

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, 2020.

1. Sedimentos de água doce. 2. Microrganismos aquáticos . 3. Processos microbianos. 4. Bactéria. 5. FISH. I. Cardoso, Simone Jaqueline, orient. II. Cesar, Dioneia Evangelista, coorient. III. Título.

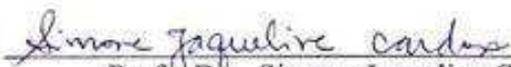
**“ESTRUTURA DA COMUNIDADE MICROBIANA ASSOCIADA A
SEDIMENTOS DE ÁGUA DOCE”**

Bárbara Dias de Miranda

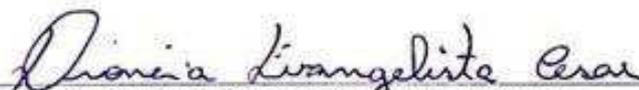
Orientadora: Profa. Dra. Simone Jaqueline Cardoso

Dissertação apresentada ao
Instituto de Ciências Biológicas, da
Universidade Federal de Juiz de
Fora, como parte dos requisitos
para obtenção do Título de mestre
em Ecologia Aplicada ao Manejo e
Conservação de Recursos Naturais.

Aprovado em 28 de fevereiro de 2020.



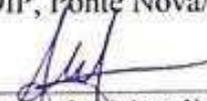
Profa. Dra. Simone Jaqueline Cardoso
Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF



Profa. Dra. Dioneia Evangelista Cesar
Universidade Federal do Juiz de Fora – UFJF



Profa. Dra. Lúcia Meirelles Lobão Protti
FADIP, Ponte Nova/MG



Prof. Dr. André Megali Amado
Universidade Federal do Juiz de Fora – UFJF

Dedico este trabalho a todas as mulheres negras que lutam diariamente nessa sociedade, em especial a duas mulheres incríveis, minha mãe Maria do Carmo e a minha tia Maria das Graças.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha mãe, Maria do Carmo, por ter tornado isso tudo possível.

A minha tia/mãe, Maria das Graças, por ter sido uma segunda mãe e sempre me apoiado.

Ao meu pai José Miranda, por todas as superações e ensinamentos de vida.

Ao meu avô, Antônio Dias, mesmo em outro plano o senhor é uma parte importantíssima disso tudo.

A minha avó, Maria Dutra, pelo imerso caminho e dedicação por mim e toda a família.

As minhas orientadoras Prof^a Dr^a Simone Cardoso e Prof^a Dr^a Dionéia Cesar pela paciência e por terem aceitado o desafio.

A banca, Lúcia Protti e André Amado pela disponibilidade.

A Prof^a Dr^a Olga Gomes, sem ela provavelmente essa jornada científica não teria se iniciado.

A Caroliny Mendes pelo mais perfeito chopp de 2018 e a melhor companhia que eu poderia ter ao longo dessa trajetória acadêmica e pessoal.

A Viviane Cardoso por compartilhar a rotina diária, os cafezinhos matinais, as contas, as felicidades, ensinamentos e conquistas, obrigada migona.

Aos meus amigos, sem eles essa caminhada teria sido bem mais difícil.

Aos amigos do Rise Together, Jolly Rogers e Maquinaria pela oportunidade de trabalho e troca de experiências.

Aos amigos do Laboratório de Ecologia Aquático.

Ao Gladson por compartilhar seus conhecimentos com muita didática e experiência, obrigada.

Ao Caique e o barqueiro Chiquinho pela grande ajuda na hora da coleta.

Aos amigos do Laboratório de Ecologia e Biologia Molecular de Microrganismos, Dionéia, Edmo, Janaina, Renatta, Daniel, Vanessa, Raquel, Fernanda, Lucas, Mari, Mariana.

A Janaina Barbosa, Renatta Santos e Wesley Flores pela grande ajuda no laboratório e amizade.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ecologia que contribuíram para a minha formação.

RESUMO

As comunidades bacterianas exercem um papel importante na mineralização da matéria orgânica e nos ciclos biogeoquímicos dos ecossistemas. Sedimentos de ecossistemas aquáticos podem conter milhares de espécies de bactérias em elevada abundância. Mesmo com toda essa diversidade e abundância, ainda existe uma grande lacuna do conhecimento sobre como esses microrganismos habitam e as funções que desempenham nesse ecossistema. Este trabalho teve como objetivo avaliar a estrutura da comunidade microbiana (i.e. abundância total e de grupos funcionais selecionados) em perfis de sedimentos de três ambientes: rio, transição e barragem da Usina Hidrelétrica do Funil, bacia do rio Paraíba do Sul. As coletas de sedimento foram realizadas em julho de 2018 em transectos representando os três ambientes, totalizando cinco testemunhos por transecto. No laboratório, os testemunhos de sedimento foram fracionados a cada 2 cm até 10 cm de profundidade para as análises de conteúdo de Matéria Orgânica (MO), Nitrogênio Total (NT), Fósforo Total (PT), Razão NT:PT e composição microbiana (total, arqueias, metanogênicas, sulfato-redutoras e proteobactérias). As comunidades microbianas foram avaliadas quanto a densidade total de indivíduos e composição funcional de acordo com a técnica de Hibridização *in situ* fluorescente (*FISH*). A MO apresentou maiores concentrações no ambiente de barragem. NT apresentou uma maior concentração no ambiente de barragem na 6 cm de profundidade ao longo do perfil (1.526,95 $\mu\text{g} / \text{g}$). O PT apresentou maior concentração no ambiente de transição (222,74 $\mu\text{g} / \text{g}$). A razão molar apresentou sua maior concentração no ambiente de barragem. As arqueias metanogênicas representaram 7,3 % da densidade média total no ambiente de rio, 5,9 % na transição e 12,4 % na barragem. As *Methanosarcina* spp. representaram 6,8 % da densidade média total nos ambientes de rio e transição e 14,8 % na barragem. As Desulfovibrionales representaram 6,3 % da densidade média total nos ambientes de rio, 9,7 % na transição e 14,8 % na barragem. As proteobactérias (delta, épsilon, beta e gama) representaram 26,8 % da densidade média total nos ambientes de rio, 25,9 % na transição e 39,0 % na barragem. De maneira geral, a barragem foi o ambiente que apresentou maior densidade total e por grupos, bem como maior contribuição relativa dos grupos microbianos avaliados em relação aos ambientes de rio e transição. Ao longo dos perfis de sedimento não foram encontrados padrões significativos das concentrações de MO, PT, NT, bem como razão NT:PT e comunidade microbiana. Compreender como essas comunidades se estruturam em sedimentos de água doce poderão contribuir para melhor conhecimento de suas

dinâmicas e funções ecossistêmicas de forma a embasar estudos futuros e prever como esses ecossistemas irão mudar em decorrência das atividades antropogênicas.

Palavras-chave: *FISH*. Sedimentos de água doce. Biodiversidade. Microrganismos aquáticos. Bactéria. Archeia. Processos microbianos.

ABSTRACT

Bacterial communities play an important role in the mineralization of organic matter and in the biogeochemical cycles of ecosystems. Sediments from aquatic ecosystems can contain thousands of species of bacteria in high abundance. Even with all this diversity and abundance, there is still a huge knowledge gap about how these microorganisms live and the functions they play in these ecosystems. This work aimed to evaluate the structure of the microbial community (i.e. total abundance and selected functional groups) in sediment profiles from three environments: river, transition and dam of the Funil Hydroelectric Reservoir, in the Paraíba do Sul River basin. The sediment sampling was carried out in July 2018 by performing transects in the three environments, totaling five cores per transect. In the laboratory, the sediment cores were fractionated every 2 cm to 10 cm in depth for the analysis of Organic Matter (OM), Total Nitrogen (TN), Total Phosphorus (TP), TN: TP ratio and microbial composition (total community, archaea, methanogenic, sulfate-reducing and proteobacteria). The microbial communities were evaluated for the total density of individuals and functional composition according to the fluorescent in situ hybridization (*FISH*) technique. The OM showed higher concentrations in the dam transect. TN showed a higher concentration in the dam at depth 6 cm along the profile (1,526.95 $\mu\text{g} / \text{g}$). TP showed a higher concentration in the transition environment (222.74 $\mu\text{g} / \text{g}$). The TN:TP molar ratio was higher in the dam. Methanogenic archaeas represented 7.3 % of the total average density in the river environment, 5.9 % in the transition and 12.4 % in the dam. Methanosarcina spp. represented 6.8 % of the total average density in the river and transition environments and 14.8 % in the dam. Desulfovibrionales represented 6.3 % of the total average density in river environments, 9.7 % in the transition and 14.8 % in the dam. Proteobacteria (delta, epsilon, beta and gamma) represented 26.8 % of the total average density in river environments, 25.9 % in the transition and 39.0 % in the dam. In general, the dam was the environment that showed the highest total and group density, as well as the greatest relative contribution of the microbial groups evaluated in relation to the river and transition environments. Throughout the sediment profiles, no significant patterns of concentrations of OM, TP, TP, as well as TN: TP ratio and microbial community were found. Understanding how these communities are structured in freshwater sediments can contribute to a better understanding of their dynamics and ecosystem functions in order to support future studies and predict how these ecosystems will change as a result of anthropogenic activities.

Keywords: *FISH*. Freshwater sediments. Biodiversity. Aquatic microorganisms. Bactéria. Achae. Microbial processes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Reservatório da usina hidrelétrica (UHE) do funil com destaque para as área de rio, transição e barragem amostradas neste estudo. As setas representam a direção do fluxo de água dos principais tributários, da esquerda para direita: rio Paraíba do Sul, rio Paraitinga e rio Paraibuna.....	24
Figura 2	– Esquema ilustrativo do método amostral de coleta em transecto.....	25
Figura 3	– Imagem do testemunho de sedimento e do processo de fracionamento a cada 2 cm de profundidade. A) testemunho de sedimento; B) processo de fracionamento e C) zoom no equipamento de fracionamento.....	26
Figura 4	– Esquema ilustrativo dos procedimentos realizados de acordo com a técnica de <i>FISH</i>	28

LISTA DE QUADRO

- Quadro 1 – Título Relação das diferentes sondas utilizadas para hibridização in situ fluorescente do grupo de arqueia - ARC915; grupos funcionais Metanobactérias - MB311 e MSMX860; Sulfato-redutoras – SRB385; e grupos de proteobacterias – deltaproteobacteria - DELTA49a; epsilonproteobacteria – EPSY549; betaproteobacteria - BET42; gamaproteobacteria – GAM42a e controle negativo - NON com suas especificações, concentração de formamida (FA), sequência 5' – 3' e referências (CROCETTI et al, 2006; LIN et al., 2006; LOY et al., 2006; MANZ et al., 1992; OLSON et al., 1990; RASKIN et al., 1994).....29

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Concentração de matéria orgânica em gramas nos diferentes nas diferentes profundidades dos testemunhos amostrados nas áreas de rio, transição e barragem na UHE Funil em julho de 2018.....33
- Gráfico 2 – Concentrações de matéria orgânica em grama de sedimento amostradas nos ambientes de rio (N = 5), transição (N = 5) e barragem (N = 5) na UHE Funil em julho de 2018. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana e os losangos pretos representam as médias.....33
- Gráfico 3 – Concentrações de nitrogênio total (NT) em $\mu\text{g/g}$ de sedimento nos ambientes de rio (N=20), transição (N=20) e barragem (N=20) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os *outliers* e os losangos pretos representam as médias.....34
- Gráfico 4 – Concentrações de nitrogênio total (NT) em $\mu\text{g/g}$ de sedimento em diferentes profundidades dos perfis de sedimento amostrados nos ambientes de A) rio (N=4); B) transição (N=4) e C) barragem (N=4) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os *outliers* e os losangos pretos representam as médias.....35
- Gráfico 5 – Concentrações de nitrogênio total (NT) em $\mu\text{g/g}$ de sedimento em sedimentos amostrados nos ambientes de rio, transição e barragem nas áreas de margem (Ma, N=10) e meio (Me, N=10) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os *outliers* e os losangos pretos representam as médias.....36
- Gráfico 6 – Concentrações de nitrogênio total (PT) em $\mu\text{g/g}$ de sedimento nos ambientes de rio (N=20), transição (N=20) e barragem (N=20) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas

- representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os *outliers* e os losangos pretos representam as médias.....37
- Gráfico 7 – Concentrações de fósforo total (PT) em $\mu\text{g/g}$ de sedimento em diferentes profundidades dos perfis de sedimento amostrados nos ambientes de A) rio (N=4); B) transição (N=4) e C) barragem (N=4) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os *outliers* e os losangos pretos representam as médias.....38
- Gráfico 8 – Concentrações de fósforo total (PT) em $\mu\text{g/g}$ de sedimento em sedimentos amostrados nos ambientes de rio; transição e barragem nas áreas de margem (Ma, N=10) e meio (Me, N=10) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os *outliers* e os losangos pretos representam as médias.....39
- Gráfico 9 – Razão molar das concentrações de NT:PT dos sedimentos amostrados nos ambientes de rio (N=20); transição (N=20) e barragem (N=20) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os *outliers* e os losangos pretos representam as médias.....40
- Gráfico 10 – Razão molar NT:PT em diferentes profundidades dos perfis de sedimento amostrados nos ambientes de A) rio (N=4); B) transição (N=4) e C) barragem (N=4) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os *outliers* e os losangos pretos representam as médias.....41
- Gráfico 11 – Razão molar NT:PT em sedimentos amostrados nos ambientes de rio; transição e barragem nas áreas de margem (Ma, N=10) e meio (Me, N=10) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das

	caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os <i>outliers</i> e os losangos pretos representam as médias.....	42
Gráfico 12	– Densidade total de procariotos amostrados por grama de sedimento (10^8 céls.g ⁻¹) em de sedimento nos ambientes de rio (N=25), transição (N=25) e barragem (N=25) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os <i>outliers</i> e os losangos pretos representam as médias.....	45
Gráfico 13	– Densidade total de procariotos amostrados por grama de sedimento (10^8 céls.g ⁻¹) em diferentes profundidades dos perfis de sedimento amostrados nos ambientes de A) rio (N=5); B) transição (N=5) e C) barragem (N=5) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os <i>outliers</i> e os losangos pretos representam as médias.....	46
Gráfico 14	– Contribuição dos grupos microbianos amostrados por grama de sedimento (10^8 céls.g ⁻¹) nos ambientes de rio (N = 25); transição (N = 25) e barragem (N = 25) na UHE Funil. A) Contribuição percentual (%); B) Densidade total por grupos (10^8 céls.g ⁻¹).....	52
Gráfico 15	– Densidade dos grupos funcionais (Metanobactérias - MB311 e MSMX860; Sulfato-redutoras – SRB385) por grama de sedimento (10^8 céls.g ⁻¹) em sedimentos amostrados nas ambientes de A) rio; B) transição e C) barragem nas áreas de margem (N = 10) e meio (N = 14) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa à mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os <i>outliers</i> e os losangos pretos representam as médias.....	53
Gráfico 16	– Densidade de proteobacterias (deltaproteobacteria - DELTA49a; epsilonproteobacteria – EPSY549; betaproteobacteria - BET42; gamaproteobacteria – GAM42a) por grama de sedimento (10^8 céls.g ⁻¹) em sedimentos amostrados nas ambientes de A) rio; B) transição e C) barragem nas áreas de margem (N = 10) e meio (N = 14) na UHE Funil. Os limites das	

caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa à mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os outliers e os losangos pretos representam as médias.....54

Gráfico 17 – Contribuição dos grupos microbianos amostrados por grama de sedimento em diferentes profundidades dos perfis de sedimento nos ambientes de rio (N = 5) na UHE Funil. A) Contribuição percentual; B) Densidade total por grupos (10^8 céls.g⁻¹).....55

Gráfico 18 – Contribuição dos grupos microbianos amostrados por grama de sedimento em diferentes profundidades dos perfis de sedimento nos ambientes de transição (N = 5) na UHE Funil. A) Contribuição percentual; B) Densidade total por grupos (10^8 céls.g⁻¹).....56

Gráfico 19 – Contribuição dos grupos microbianos amostrados por grama de sedimento em diferentes profundidades dos perfis de sedimento nos ambientes de barragem (N = 5) na UHE Funil. A) Contribuição percentual; B) Densidade por grupos (10^8 céls.g⁻¹).....57

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Valores das concentrações de matéria orgânica (MO) em porcentagem (%) por profundidades amostrados ao longo dos perfis de sedimento amostrados nos ambientes de rio, transição e barragem na UHE Funil em julho de 2018.....32
- Tabela 2 – Valores mínimos (Min.), máximos (Máx.), médios (Méd.) e desvios padrões (DP.) das concentrações de nitrogênio total (NT) em $\mu\text{g/g}$ de sedimento em diferentes profundidades dos perfis de sedimento amostrados nos ambientes de rio (N=4), transição (N=4) e barragem (N=4) na UHE Funil em julho de 2018.....43
- Tabela 3 – Valores mínimos (Min.), máximos (Máx.), médios (Méd.) e desvios padrões (DP.) das concentrações de fósforo total (PT) em $\mu\text{g/g}$ de sedimento em diferentes profundidades dos perfis de sedimento nos ambientes de rio (N=4), transição (N=4) e barragem (N=4) na UHE Funil em julho de 2018.....43
- Tabela 4 – Valores mínimos (Min.), máximos (Máx.), médios (Méd.) e desvios padrões (DP.) da razão molar das concentrações de NT:PT de sedimento em diferentes profundidades dos perfis de sedimento nos ambientes de rio (N=4), transição (N=4) e barragem (N=4) na UHE Funil em julho de 2018.....44
- Tabela 5 – Valores mínimos (Min.), máximos (Máx.), médios (Méd.) e desvios padrões (DP.) das densidades de procariotos em 10^8 céls.g^{-1} de sedimento em diferentes sondas e profundidades (Prof.) dos perfis de sedimento amostrados nos ambientes de rio (N=4), transição (N=4) e barragem (N=4) na UHE Funil em julho de 2018.....47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>FISH</i>	Hibridização <i>in situ</i> Fluorescente
LEA	Laboratório de Ecologia Aquática
LEBIOMM	Laboratório de Ecologia e Biologia Molecular de Microorganismo
MO	Matéria Orgânica
NT	Nitrogênio Total
NT:PT	Razão Nitrogênio Total : Fósforo Total
PFA	Paraformaldeído
PT	Fósforo Total
RPM	Rotação por Minuto
UHE	Usina Hidrelétrica
UFJF	Universidade Federal de Juiz de Fora

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	OBJETIVOS	23
3	ÁREA DE ESTUDO	24
4	HIBRIDIZAÇÃO <i>IN SITU</i> FLUORESCENTE	27
5	COMPOSIÇÃO DO SEDIMENTO	30
5.1	MATÉRIA ORGÂNICA	30
5.2	NITROGÊNIO TOTAL E FÓSFORO TOTAL	30
6	ANÁLISE DE DADOS	31
7	RESULTADOS	32
8	DISCUSSÕES	58
9	CONCLUSÃO	62
	REFERÊNCIAS	63
	APÊNDICE A – Resultados das análises estatísticas realizadas para testar o efeito dos ambientes (rio, transição e barragem) das profundidades (2 cm, 4 cm, 6 cm, 8 cm, 10 cm) e das regiões (margem e meio) na UHE Funil. Siglas representam: MO = Matéria Orgânica; GL = Grau de liberdade; NT = Nitrogênio Total; PT = Fósforo Total	68
	ANEXO A – Protocolo para tratamento de amostra	75
	ANEXO B – Protocolo adaptado do LEBIOMM (COTTRELL & KIRCHMAN, 2000), para Hibridização <i>in situ</i> fluorescente (<i>FISH</i>)	76
	ANEXO C – Protocolo adaptado para a determinação de nitrogênio total e fósforo total no sedimento (HUPFER; GÄCHTER; GIOVANOLI, 1995) ...	77

1 INTRODUÇÃO

Os ecossistemas aquáticos têm sofrido alterações antrópicas significativas como construções de barragens e represas, desvios de corpos hídricos, despejo de efluentes sem tratamento, introdução de espécies exóticas, desmatamento e ocupação irregular do solo (GOULART & CALLISTO, 2003). Uma das consequências diretas dessas alterações é o acúmulo de matéria orgânica no sedimento (CARVALHO et al 2000). Uma vez depositada nos sedimentos, esta matéria orgânica pode seguir em três caminhos: a mineralização por bactérias, ressuspensão e degradação na coluna d'água ou sedimentação permanente no sedimento (CARDOSO et al., 2013; 2018).

Os sedimentos aquáticos compõem uma parte importante do ecossistema, pois nele ocorrem processos biogeoquímicos, que são o resultado de interações entre fatores geológicos, biológicos e químicos (YANG et al., 2016). A água e o sedimento de reservatórios aquáticos compõem compartimentos com condições ambientais exclusivas, onde predominam condições anóxicas, baixo pH e elevada densidade de microrganismo como bactérias e fungos (FENCHEL et al., 2012). Para alguns autores (BURTON, 2002; ZAGHDEN et al., 2007) a coluna d'água funciona majoritariamente como o meio de transporte de material particulado, sendo o sedimento seu destino final, funcionando como um “estoque” (ROCHA et al, 2009). Em sedimentos aquáticos a densidade bacteriana pode ser até três ordens de magnitude maior que a coluna d'água (FORSBERG, 1989; FENCHEL et al., 2012) pertencentes a milhares de espécies de bactérias (PALMER, 1997). No entanto, mesmo com toda essa abundância e riqueza, ainda existe uma lacuna do conhecimento quanto a diversidade destes microrganismos em sedimentos aquáticos.

Conhecer a diversidade bacteriana nesses ambientes é de extrema importância, uma vez que estas exercem um papel importante na mineralização da matéria orgânica (i.e. o processo de conversão da matéria orgânica em inorgânica, gerando compostos solúveis, gases e energia) (SHERR & SHERR, 1999) e nos ciclos biogeoquímicos (MEGONIGAL et al., 2005). Além disso, cada grupo bacteriano pode desempenhar funções diferentes de acordo com a disponibilidade de recursos (i.e. requerimentos nutricionais) presentes nos sedimentos, bem como realizar interações ecológicas podendo modificar ou selecionar os organismos ali presentes (CARVALHO & PARANHOS, 2010; NEMERGUT et al., 2014). Além disso, compreender a estrutura e dinâmica da comunidade microbiana em sedimentos de água doce pode ajudar a prever como esses ecossistemas mudarão em resposta a atividades antropogênicas (ZHANG et al., 2015).

Diariamente enormes quantidades de metano são produzidas em sedimentos devido a decomposição de matéria orgânica e emissões de gás, mas são consumidas rapidamente por microrganismos (REEBURGH, 1996). Mesmo com a dificuldade de isolar esses organismos, que consomem metano anaerobicamente, é possível evidenciar processos biogeoquímicas que indicam uma transferência de elétrons do metano para o sulfato e provavelmente é mediado por vários organismos, incluindo um metanogênio e um redutor de sulfato (HOEHLER & ALPERIN, 1996).

O conhecimento acerca da estrutura da comunidade bacteriana poderá, por exemplo, auxiliar na melhor compreensão dos processos ecossistêmicos que ocorrem em ambientes antropizados. Segundo Medeiros et al. (2016), que realizou comparação metagênômica em duas áreas (urbanizada e preservada) de um rio foi verificado que quanto maior a urbanização da área do seu entorno, maior a diversidade bacteriana encontrada nos corpos hídricos. O mesmo foi relatado por Crapez et al., (2002) para sedimentos contaminados com petróleo.

Embora com todos os avanços tecnológicos na área da biologia molecular (e.g. análises metagênicas), a quantificação de microrganismos é de suma importância, principalmente no sentido de se quantificar a comunidade bacteriana, visto que muitas espécies só se expressam quando estão em um determinado número de indivíduos (JONES & LENNON, 2010). Uma das ferramentas utilizadas para se identificar a composição da comunidade bacteriana de acordo com suas funções ecológicas predominantes é a técnica de hibridização *in situ* fluorescente (sigla em inglês, *FISH* COTTRELL & KIRCHMAN, 2000). A técnica utiliza sondas fluorescentes que permitem a visualização e identificação filogenética de bactérias. Essas sondas podem ser bem específicas e identificar apenas um gene ou grupos de espécies com diferentes genomas (COTTRELL & KIRCHMAN, 2000). Atualmente, ainda é inviável a quantificação de todas as espécies de microrganismos que compõem a comunidade de um ambiente, bem como o número de indivíduos de cada uma dessas populações e suas interações. Desta forma, a principal abordagem tem se dado através do estudo de grupos funcionais, definidos como o conjunto de organismos/espécies com ou sem afinidades filogenéticas, que compartilham traços funcionais similares e que respondem similarmente às condições ambientais (LAVOREL et al. 1997).

O reservatório do Funil possui uma localização estratégica sendo formado pelo rio Paraíba do Sul bem na divisa entre os estados do Rio de Janeiro e São Paulo. Neste reservatório a barragem serve como um decantador natural de sedimento “segurando” boa parte dos poluentes oriundos do estado de São Paulo (FERRÃO-FILHO et al., 2009). O reservatório foi finalizado no final da década de 60, e desde então vem sendo uma das

principais fontes de abastecimento de água e geração de energia para o município de Resende, Rio de Janeiro.

Nesse trabalho nosso objetivo foi avaliar a estrutura da comunidade microbiana (i.e. abundância total e de grupos funcionais selecionados) em perfis de sedimentos de três ambientes: rio, transição e barragem da Usina Hidrelétrica do Funil, bacia do rio Paraíba do Sul. Além disso, correlacionar a composição microbiana avaliada como as características do sedimento quanto à concentração de matéria orgânica, nitrogênio total e fósforo total nas diferentes profundidades dos testemunhos de sedimento e nas diferentes áreas do reservatório.

2 OBJETIVO

Conhecer a estrutura da comunidade microbiana associada a sedimentos de água doce da Usina Hidrelétrica do Funil, bacia do rio Paraíba do Sul.

2.1 OBJETIVO ESPECÍFICO

Caracterizar os perfis de sedimento quanto às concentrações de Matéria Orgânica (MO), nitrogênio total (NT), fósforo total (PT) e razão NT:PT nas diferentes áreas amostradas no reservatório.

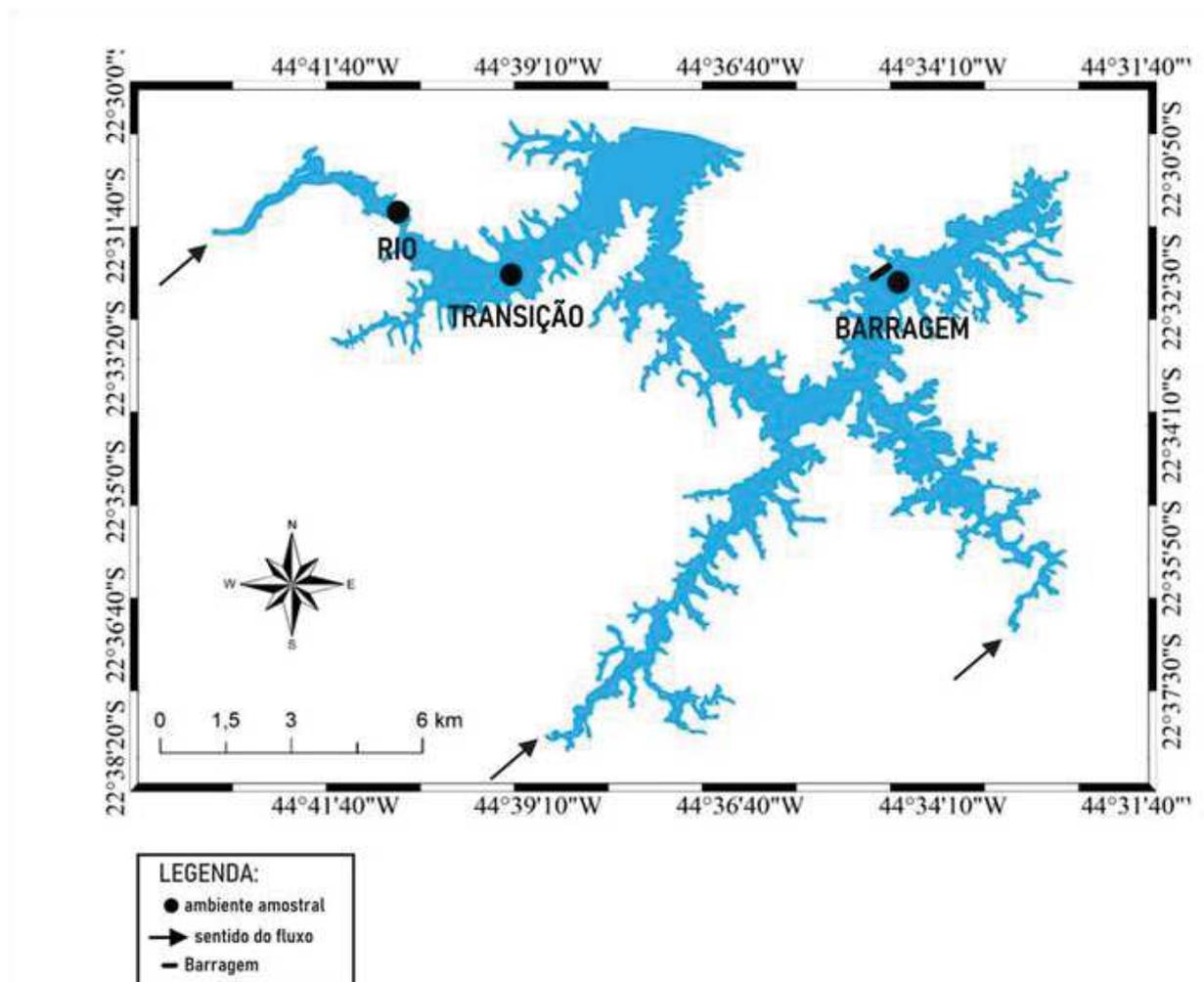
Avaliar como a composição microbiana varia de acordo com as características do sedimento quanto a concentrações de MO, NT e PT e razão NT:PT ao longo do perfil de sedimento (10 cm iniciais) e nos pontos de margem e meio dos transectos realizados nas áreas de rio, transição e barragem.

Comparar a densidade bacteriana total e por grupos nos perfis de sedimento e nos pontos de margem e meio nos transectos realizados nas áreas de rio, transição e barragem.

3 ÁREA DE ESTUDO

O estudo foi realizado na Usina Hidrelétrica (UHE) do Funil localizado na bacia do rio Paraíba do Sul (Figura 1). A bacia do rio Paraíba do Sul possui uma extensão de aproximadamente 55.400 km² cortando três estados: São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais. Cerca de 180 municípios utilizam desse recurso para o abastecimento de água e despejo de resíduos líquidos (SOUZA JR, 2004).

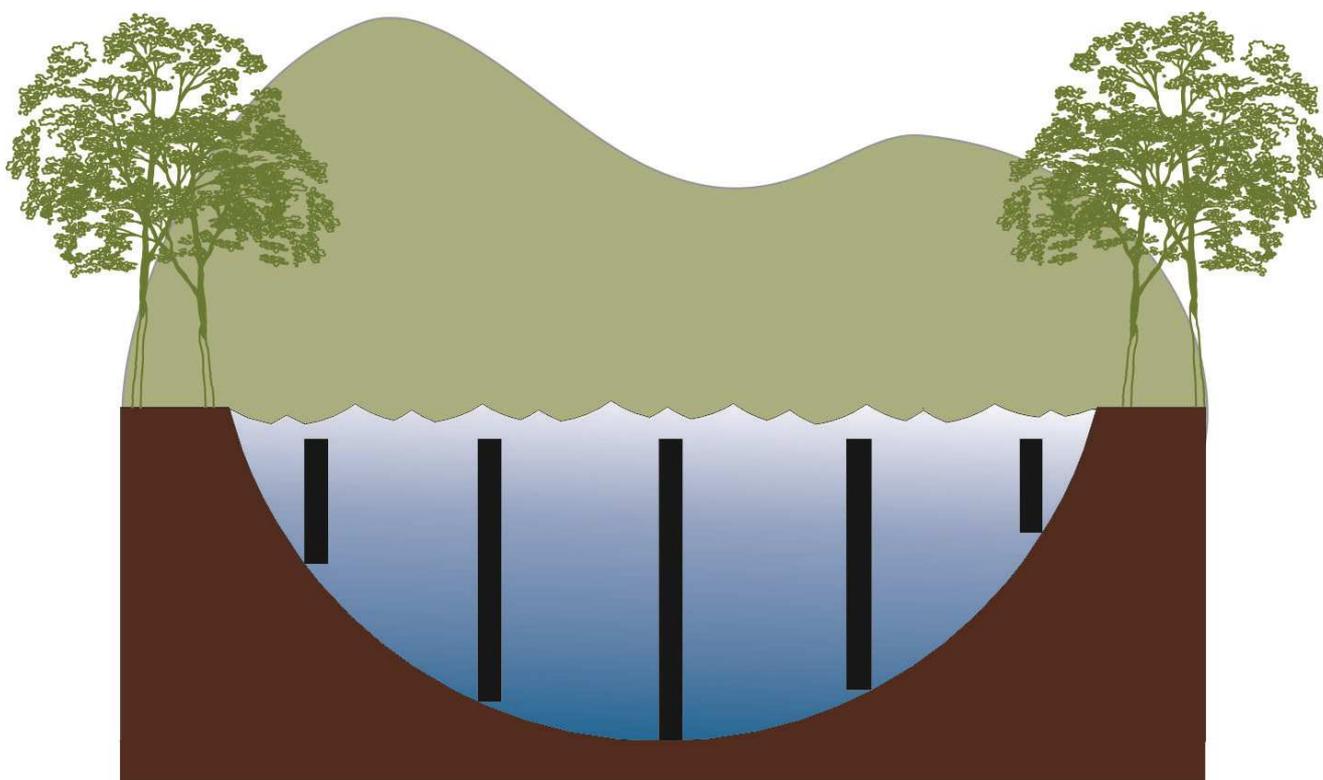
Figura 1 - Reservatório da usina hidrelétrica (UHE) do funil com destaque para as área de rio, transição e barragem amostradas neste estudo. As setas representam a direção do fluxo de água dos principais tributários, da esquerda para direita: rio Paraíba do Sul, rio Paraitinga e rio Paraibuna



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

Os testemunhos de sedimento foram coletados em julho de 2018. As amostras de sedimento foram coletadas através de cores de PVC transparentes (6 cm de diâmetro, 60 cm de altura) utilizando um coletor gravitacional (UWITEC, Mondsee, Austria). Em cada ambiente amostral, rio, transição e barragem, foram realizados transectos e em cada transecto coletados cinco testemunhos de sedimento (Figura 2). Posteriormente, os testemunhos foram transportados para o Laboratório de Ecologia Aquática (LEA) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). Em seguida, os testemunhos foram fracionados a cada 2 cm até 10 cm de profundidade (Figura 3). Amostras de cada fração de profundidade do sedimento foram então separadas para realização das análises de composição microbiana, concentração de matéria orgânica (MO) e nutrientes (NT e PT). Cada fração de 2 cm foi armazenada em sacos tipo ziplock, etiquetada e congelada a -20°C para análises futuras.

Figura 2 – Esquema ilustrativo do método amostral de coleta em transecto



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

Figura 3 – Imagem do testemunho de sedimento e do processo de fracionamento a cada 2 cm de profundidade. A) testemunho de sedimento; B) processo de fracionamento e C) zoom no equipamento de fracionamento



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

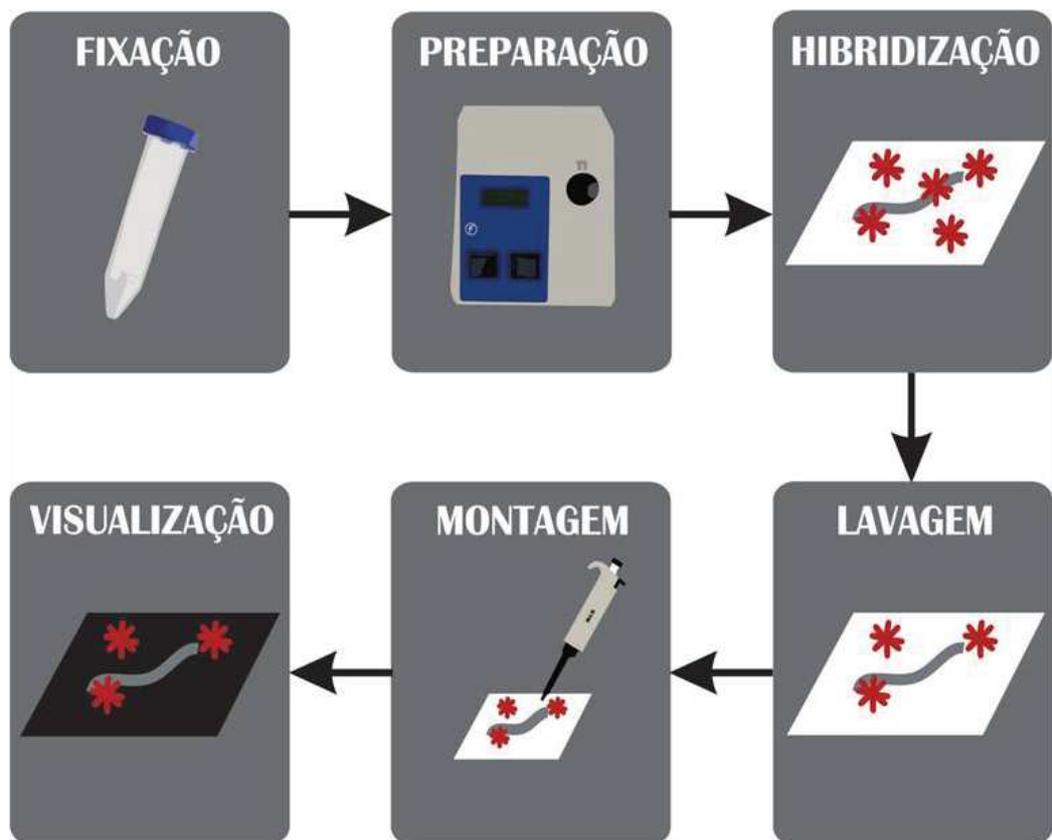
4 HIBRIDIZAÇÃO *IN SITU* FLUORESCENTE

Para análise de densidade total e composição bacteriana por grupos funcionais, foram pesados 0,5 g de sedimento de cada profundidade em cada ambiente amostral e separadas em frascos tipo falcon® de 15 ml. As amostras foram fixadas em paraformoldeído 2% (PFA) e resfriados a 4°C por 24 horas. As amostras já fixadas foram diluídas em 10 ml de água ultrapura. Após a diluição as amostras foram sonicadas, com os tubos imersos em gelo, em comprimento de onda de 110,7 µm, durante 60 segundos por três vezes e com intervalo de 60 segundos entre cada sonicação em Sonicador Fisher Scientific Sonic Dismembrator Modelo 100 para separação dos microrganismos do sedimento. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 1111 rotação por minuto (rpm). Após remoção do sobrenadante, foram adicionados 5 ml de água ultrapura, e centrifugadas novamente. Esse procedimento foi repetido por três vezes para lavagem e separação da amostra sólida.

Após o processo de centrifugação, as amostras foram diluídas 10 vezes e filtradas em filtro de policarbonato de 0,2 µm, para a realização da técnica de Hibridização *in situ* fluorescente (*FISH*, sigla em inglês) (veja protocolo no Anexo A). A técnica de *FISH* consiste na hidridização das amostras com sondas fluorescentes que se ligam a sequências de DNA ou RNA dos microrganismos (BOTARI et al, 2006). Após a filtragem das amostras, os filtros foram fracionados e imersos na solução contendo as sondas. Foram utilizadas diferentes sondas referentes ao grupo de arqueia - ARC915; grupos funcionais Metanobactérias - MB311 e MSMX860; Sulfato-redutoras - SRB385; e grupos de proteobactérias - deltaproteobactéria - DELTA49a; epsilonproteobactéria - EPSY549; betaproteobactéria - BET42; gamaproteobactéria - GAM42a e controle negativo - NON (Tabela 1). e total - DAPI. As sondas utilizadas no trabalho foram retiradas do banco de sondas do Laboratório de Ecologia e Biologia Molecular de Microorganismo (LEBIOMM) e escolhidas após uma pesquisa bibliográfica. Com base nessa informação os grupos de microorganismos foram escolhido a partir de sua abundância no ambiente aquático e sua funcionalidade. Os filtros em imersão referente a cada sonda foram então incubados em estufa a 42 °C por uma noite. Após a incubação, os filtros hibridizados com as sondas foram colocados em 1 ml de solução de lavagem por 15 minutos em banho maria a 48 °C. Depois, foram corados em 500 µl de DAPI 2% por 3 minutos em ambiente escuro. Em seguida foi retirado o excesso de DAPI mergulhando cada filtro três vezes em Etanol 80% e secando-os em papel Whatman. Após esse procedimento, os filtros foram montados em lâminas utilizando 10 µl de Vectashield.

Após a montagem das lâminas, estas foram visualizadas em microscopia de epifluorescência (Olympus® BX60) com magnificação de 1000x em imersão (Figura 4). Para estimativa da densidade microbiana total (protocolo adaptado de COTTRELL & KIRCHMAN, 2000) (Anexo B) foram contados 10 campos aleatórios (100 por 100). De todas as amostras foram descontados os valores do controle negativo (NON). As sondas de oligonucleotídeos utilizadas para quantificar os grupos microbianos foram: ARC915, MB311, MSMX860, SRB385, DELTA495a, EPSY549, BET42a e GAM42a (Quadro 1).

Figura 4 - Esquema ilustrativo dos procedimentos realizados de acordo com a técnica de *FISH*



Fonte: Botari et al. (2006).
Nota: Imagem modificada.

Quadro 1 - Relação das diferentes sondas utilizadas para hibridização in situ fluorescente do grupo de arqueia - ARC915; grupos funcionais Metanobactérias - MB311 e MSMX860; Sulfato-redutoras – SRB385; e grupos de proteobacterias – deltaproteobacteria - DELTA49a; epsilonproteobacteria – EPSY549; betaproteobacteria - BET42; gamaproteobacteria – GAM42a e controle negativo - NON com suas especificações, concentração de formamida (FA), sequência 5' – 3' e referências (CROCETTI et al, 2006; LIN et al., 2006; LOY et al., 2006; MANZ et al., 1992; OLSON et al., 1990; RASKIN et al., 1994).

Sonda	Especificação	FA (%)	Sequência 5'–3'	Referência
ARC915	Arqueia	20	GTG CTC CCC CGC CAA TTC CT	RASKIN, et al., 1994
MB311	Methanobacteriales	30	ACC TTG TCT CAG GTT CCA TCT CC	CROCETTI, et al., 2006
MSMX860	Methanosarcina spp. Methanococcoides spp. Methanobacterium spp. Methanohalophilus spp. Methanosaeta spp.	50	GGC TCG CTT CAC GGC TTC CCT	RASKIN, et al., 1994
SRB385	A maioria das Desulfobacteriales e outras bactérias	35	CGG CGT CGC TGC GTC AGG	OLSON et al., 1990
DELTA495a	A maioria da Deltaproteobacteria e a maioria da Gemmatimonadetes	35	AGT TAG CCG GTG CTT CTT	LOY, et al., 2006
EPSY549	Epsilonproteobacteria	30	CAG TGA TTC CGA GTA ACG	LIN, et al., 2006
BET42a	Betaproteobacteria	30	GCC TTC CCA CAT CGT TT	MANZ, et al., 1992
GAM42a	Gammaproteobacteria	30	GCC TTC CCA CTT CGT TT	MANZ, et al., 1992
NON	Controle negativo	30	TAG TGA CGC CGT CGA	MANZ, et al., 1992

Fonte: Elaborado pela autora (2020).

5 COMPOSIÇÃO DO SEDIMENTO

Segue abaixo os métodos utilizados para determinação das concentrações de matéria orgânica, nitrogênio total e fósforo total.

5.1 MATÉRIA ORGÂNICA

Para a determinação da concentração de matéria orgânica (MO) as amostras úmidas de sedimentos foram pesadas em cadinhos de porcelana em seguida levadas à estufa a 60°C por 96h para secagem. Após o resfriamento das amostras, estas foram pesadas novamente. Em seguida foi calculada a diferença do peso úmido do peso seco de cada amostra, descontando o peso dos cadinhos. Posteriormente, foram pesados 5 g de sedimento seco e levados à mufla a 550 °C por 4 horas para determinação da concentração de matéria orgânica de acordo com CARMOUZE (1994). Nesta etapa não foi possível realizar repetições das profundidades devido à pouca quantidade de sedimento disponível em algumas profundidades (p.ex. 2 cm iniciais de cada testemunho).

5.2 NITROGÊNIO TOTAL E FÓSFORO TOTAL

Após o procedimento de secagem das amostras de sedimento, descritas na etapa anterior, alíquotas de 0,1 g de sedimento de cada amostra foram separadas em frascos de vidro. Em seguida foram adicionados 13 ml de água ultrapura e 1,75 ml de reagente de oxidação e levadas a autoclave por 1 hora a 120°C (HUPFER; GÄCHTER; GIOVANOLI, 1995). Após a etapa de digestão, estas amostras foram avaliadas quanto as concentrações de nitrogênio total (NT) e fósforo total (PT) pelo método colorimétrico (CAMOUZE,1994) (Anexo C). A leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro PerkinElmer Lambda 365 em 210 (NT) e 885 (PT) comprimentos de onda.

6 ANÁLISE DE DADOS

Os dados das concentrações em gramas de NT e PT foram multiplicados por suas massas molares para o cálculo da razão molar (NT:PT) nos sedimentos amostrados nos ambientes de rio transição e barragem das diferentes profundidades e na áreas de margem e meio dos ambientes.

Os dados da composição da comunidade microbiana e concentrações de nutrientes foram comparados considerando: os diferentes ambientes: rio, transição e barragem,; e as diferentes profundidade: 2 cm, 4 cm, 6 cm, 8 cm e 10 cm utilizando o teste de comparação de médias ANOVA one-way seguido de teste de Tukey ou Holm Sidak. Além disso, para testar diferenças entre os pontos das regiões de margem e meio dos transectos foi utilizado o teste t de Student. Em todos os casos, quando os pressupostos dos testes não foram atendidos, foram utilizados os testes equivalentes não paramétricos (Kruskal Wallis e Mann Whitney). Todas as análises estatísticas e os gráficos presentes neste estudo foram realizados utilizando os programas SigmaPlot (versão 12.0) e Microsoft Excel (versão 14.0).

7 RESULTADOS

As maiores concentrações de MO foram encontradas no ambiente de barragem em todos os perfis de profundidade, variando de 17,51 % a 19,41 % (Tabela 1). Já as menores concentrações de MO foram encontradas no ambiente de rio (0,46 %) (Gráfico 1). As concentrações de MO foram significativamente diferentes nos ambientes de rio, transição e barragem (One-Way Anova, $F = 587,966$, $p = 0,001$) (Gráfico 2). Não foi possível realizar os testes para avaliar as diferenças entre os perfis de profundidade, margem e meio devido à ausência de réplicas e pouca quantidade a amostra.

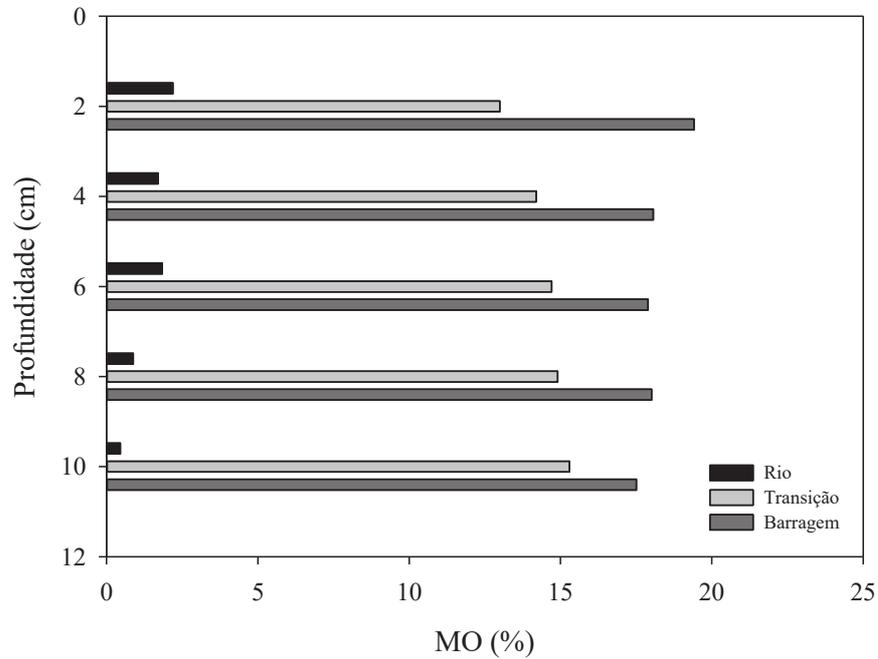
Tabela 1 - Valores das concentrações de matéria orgânica (MO) em porcentagem (%) por profundidades amostrados ao longo dos perfis de sedimento amostrados nos ambientes de rio, transição e barragem na UHE Funil em julho de 2018.

Prof. (cm)	Rio MO (%)	Transição MO (%)	Barragem MO (%)
2	2,19	13,00	19,41
4	1,70	14,20	18,07
6	1,84	14,71	17,89
8	0,88	14,91	18,01
10	0,46	15,30	17,51

Fonte: Elaborado pela autora (2020).

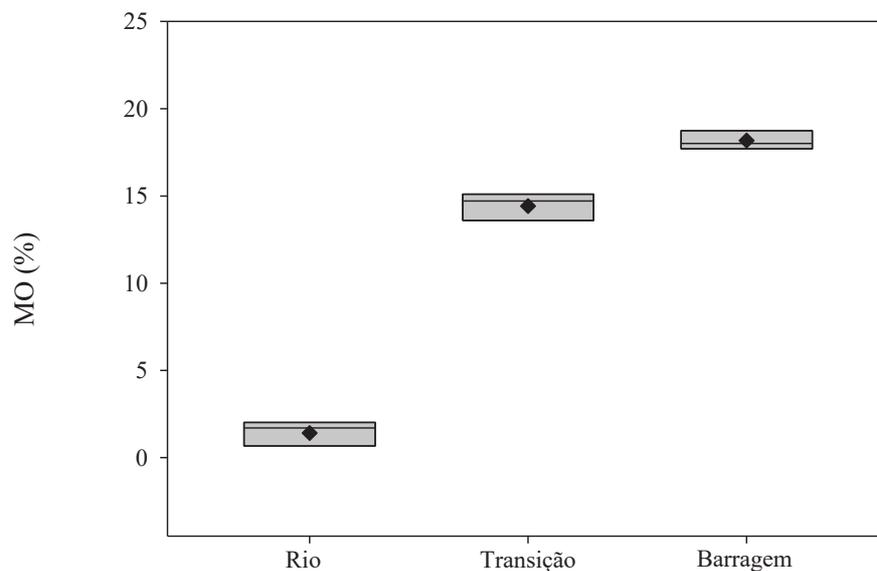
Gráfico 1 - Concentração de matéria orgânica em gramas nos diferentes nas diferentes profundidades dos testemunhos amostrados nas áreas de rio, transição e barragem na UHE

Funil em julho de 2018.



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

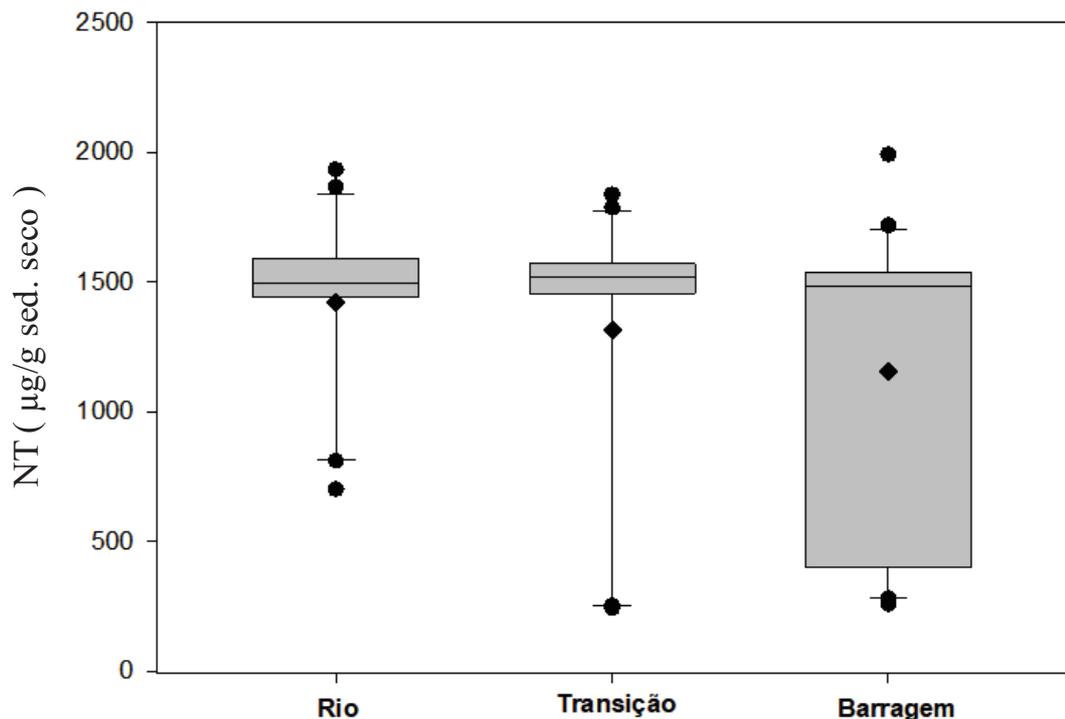
Gráfico 2 - Concentrações de matéria orgânica em grama de sedimento amostradas nos ambientes de rio (N = 5), transição (N = 5) e barragem (N = 5) na UHE Funil em julho de 2018. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana e os losangos pretos representam as médias.



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

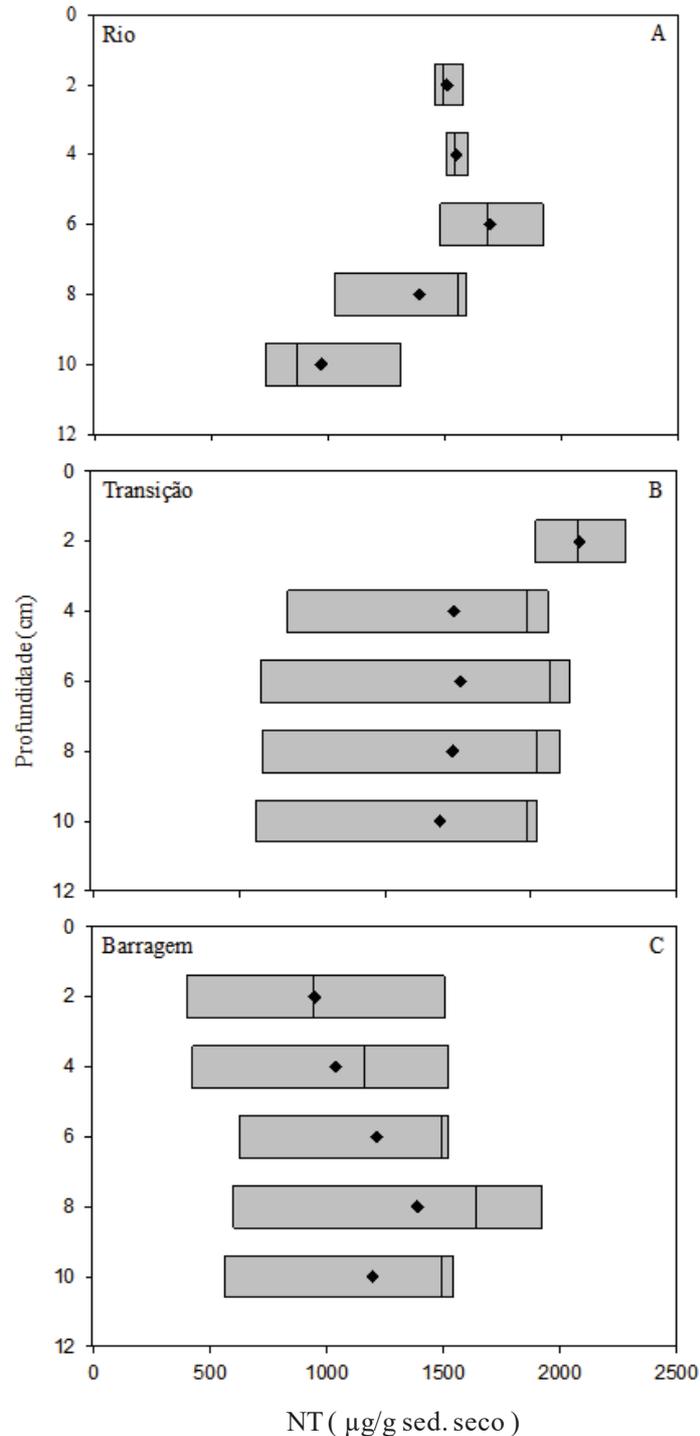
As maiores concentrações de NT foram encontradas no ambiente de barragem, sendo a profundidade de 6 cm aquela com maior concentração (1526,95 $\mu\text{g/g}$) (Tabela 2). Já as menores concentrações foram encontradas no ambiente de rio, principalmente na profundidade 10 cm. As concentrações de NT não foram significativamente diferentes nos ambientes de rio, transição e barragem (Kruskal-Wallis, $H = 2,176$, $GL = 2$, $p = 0,337$) (Gráfico 3). No ambiente de rio houve diferença estatística entre as profundidades de 4 cm e 10 cm (Holm-Sidak. $t = 3,352$, $p = 0,039$) e de 6 cm e 10 cm (Holm-Sidak. $t = 4,186$, $p = 0,008$) (Gráfico 4). Não houve diferença significativa entre as profundidades dos demais ambientes, transição (Kruskal-Wallis, $H = 4,557$, $GL = 4$, $p = 0,336$) e barragem (Kruskal-Wallis, $H = 3,243$, $GL = 4$, $p = 0,518$). Quando analisadas as regiões de margem e meio, foram encontradas diferenças significativas apenas para o ambiente de barragem (Mann-Whitney. $U = 21,000$, $p = 0,031$) (Gráfico 5).

Gráfico 3 - Concentrações de nitrogênio total (NT) em $\mu\text{g/g}$ de sedimento nos ambientes de rio ($N=20$), transição ($N=20$) e barragem ($N=20$) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os *outliers* e os losangos pretos representam as médias



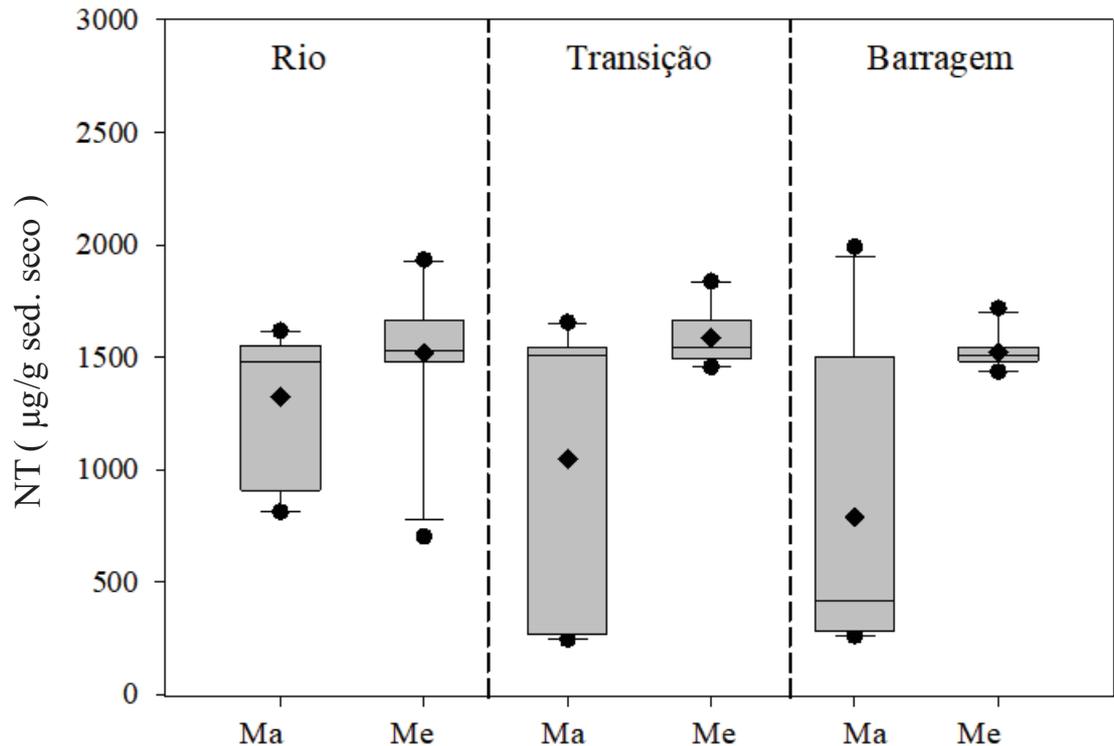
Fonte: Elaborado pela autora (2020).

Gráfico 4 - Concentrações de nitrogênio total (NT) em $\mu\text{g/g}$ de sedimento em diferentes profundidades dos perfis de sedimento amostrados nos ambientes de A) rio (N=4); B) transição (N=4) e C) barragem (N=4) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os *outliers* e os losangos pretos representam as médias



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

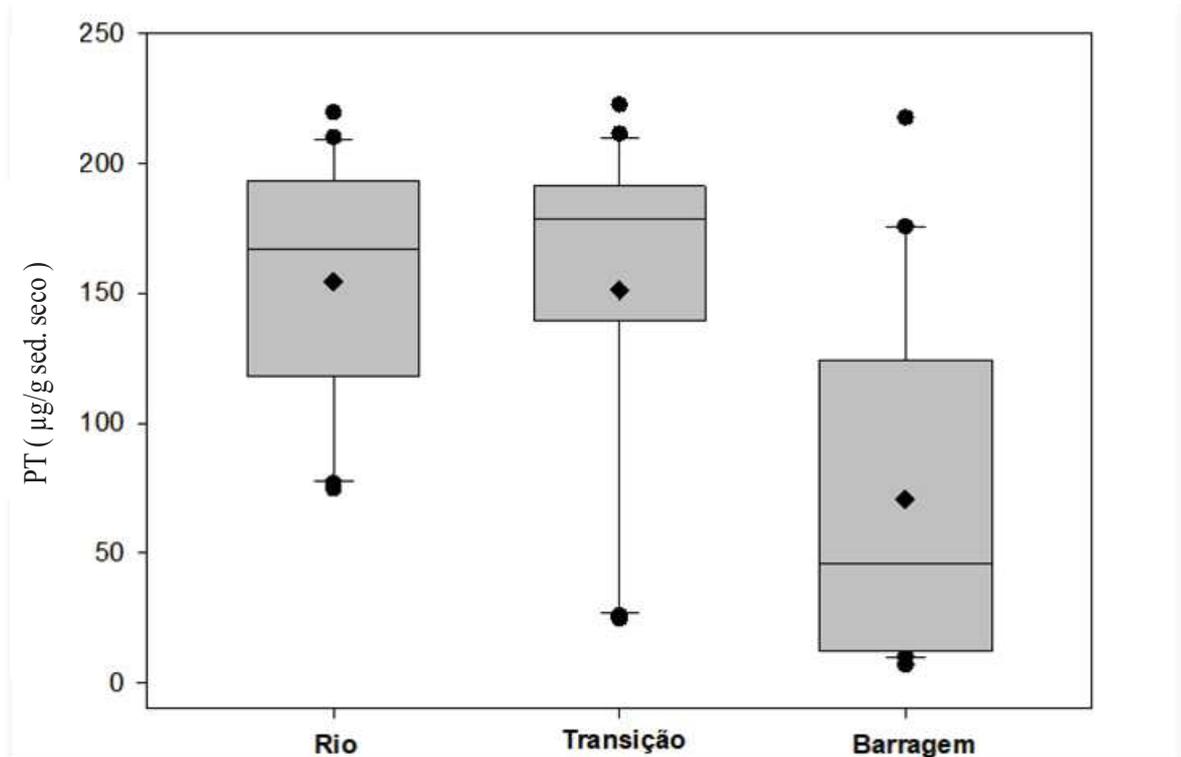
Gráfico 5 - Concentrações de nitrogênio total (NT) em $\mu\text{g/g}$ de sedimento em sedimentos amostrados nos ambientes de rio, transição e barragem nas áreas de margem (Ma, N=10) e meio (Me, N=10) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os *outliers* e os losangos pretos representam as médias



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

O maior valor da concentração de PT foi encontrado no ambiente de transição e na profundidade de 10 cm ($222.74 \mu\text{g/g}$) (Tabela.3). Já os menores valores foram encontrados no ambiente de barragem principalmente na profundidade 6 cm. As concentrações de PT foram significativamente diferentes nos ambientes de rio, transição e barragem (One-Way Anova, $F = 12,216$, $p = 0,001$) (Holm-Sidak, $p < 0,05$) (Gráfico 6). Não foram encontradas variações significativas entre as profundidades nos três ambientes rio (Kruskal-Wallis, $H = 1,971$. $GL = 4$, $p = 0,741$), transição (Kruskal-Wallis, $H = 0,743$. $GL = 4$, $p = 0,946$) e barragem (Kruskal-Wallis, $H = 0,414$. $GL = 4$, $p = 0,981$) (Gráfico 7). Quando analisado as regiões de margem e meio de cada ambiente foram encontradas diferenças significativas nas áreas de transição (Mann-Whitney. $U = 22,000$, $p = 0,026$) e barragem (Mann-Whitney. $U = 20,000$, $p = 0,001$) (Gráfico 8).

Gráfico 6 - Concentrações de nitrogênio total (PT) em $\mu\text{g/g}$ de sedimento nos ambientes de rio (N=20), transição (N=20) e barragem (N=20) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os *outliers* e os losangos pretos representam as médias



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

Gráfico 7 - Concentrações de fósforo total (PT) em $\mu\text{g/g}$ de sedimento em diferentes profundidades dos perfis de sedimento amostrados nos ambientes de A) rio (N=4); B) transição (N=4) e C) barragem (N=4) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os *outliers* e os losangos pretos representam as médias

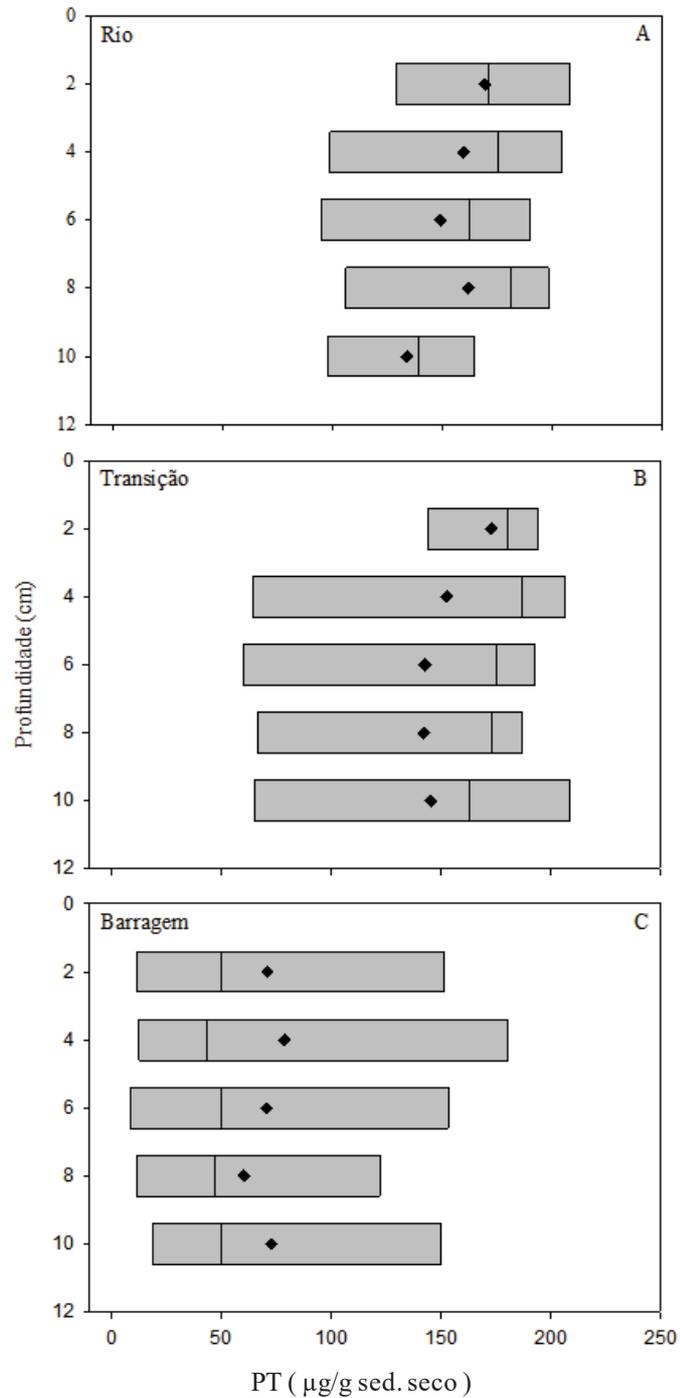
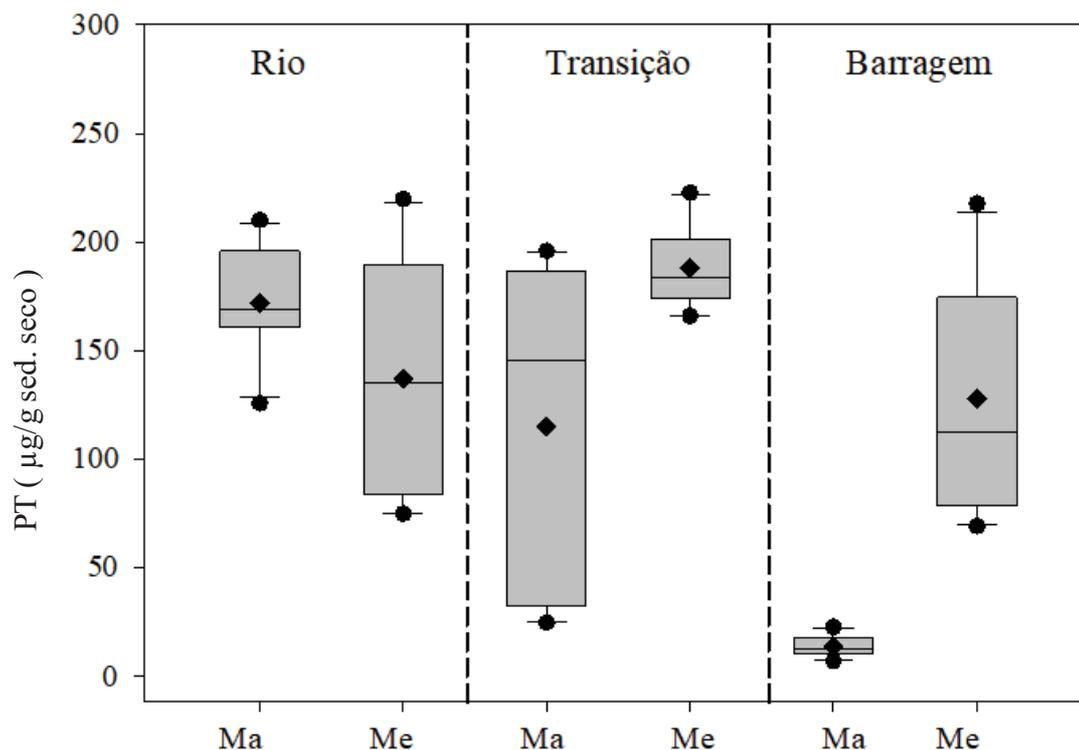


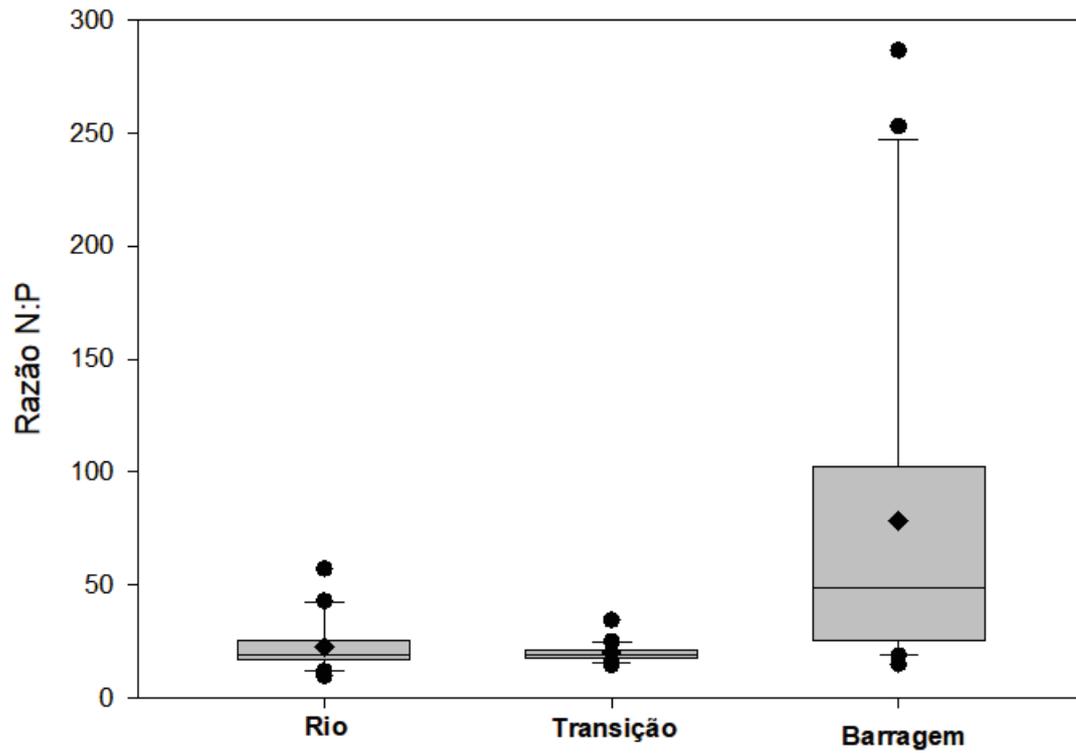
Gráfico 8 - Concentrações de fósforo total (PT) em $\mu\text{g/g}$ de sedimento em sedimentos amostrados nos ambientes de rio; transição e barragem nas áreas de margem (Ma, N=10) e meio (Me, N=10) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os *outliers* e os losangos pretos representam as médias



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

As maiores razão molar das concentrações de NT:PT foram encontradas no ambiente de barragem, sendo a profundidade de 8 cm aquela com maior razão molar (286,75) (Tabela 4). Já as menores razões foram encontradas no ambiente de rio, principalmente na profundidade 8 cm. A razão molar das concentrações de NT:PT foram significativamente diferentes nos ambientes de rio, transição e barragem (Kruskal-Wallis, $H = 18,555$. $GL = 2$, $p = 0,001$) (Tukey, $p < 0,05$). (Gráfico 9) Não foram encontradas variações significativas entre as profundidades nos três ambientes rio (Kruskal-Wallis, $H = 3,600$. $GL = 4$, $p = 0,463$), transição (Kruskal-Wallis, $H = 3,929$. $GL = 4$, $p = 0,416$) e barragem (Kruskal-Wallis, $H = 0,686$. $GL = 4$, $p = 0,953$) (Gráfico 10). Quando analisadas as regiões de margem e meio, foram encontradas diferenças significativas apenas para o ambiente de barragem (Mann-Whitney. $U = 21,000$, $p = 0,031$) (Gráfico 11).

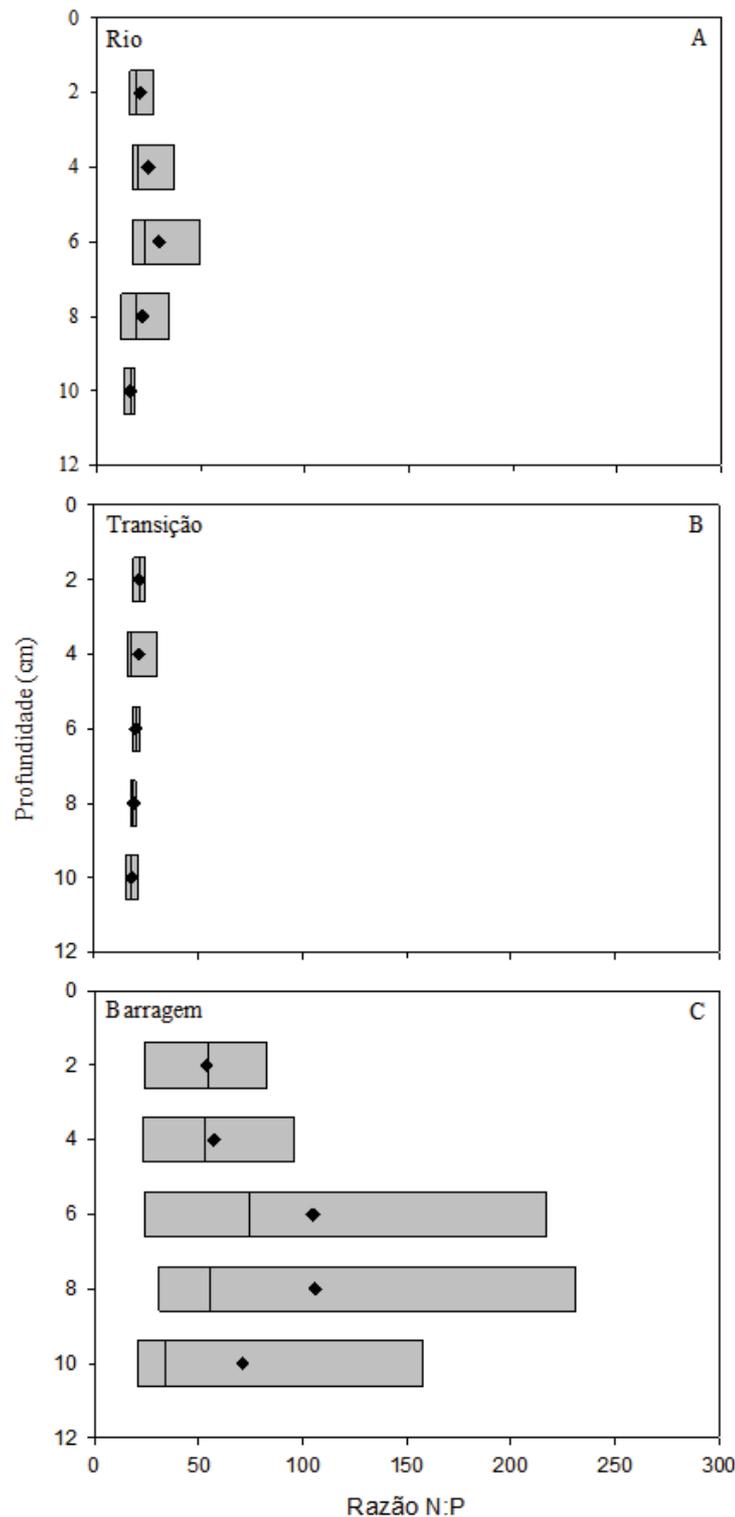
Gráfico 9 - Razão molar das concentrações de NT:PT dos sedimentos amostrados nos ambientes de rio (N=20); transição (N=20) e barragem (N=20) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os *outliers* e os losangos pretos representam as médias



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

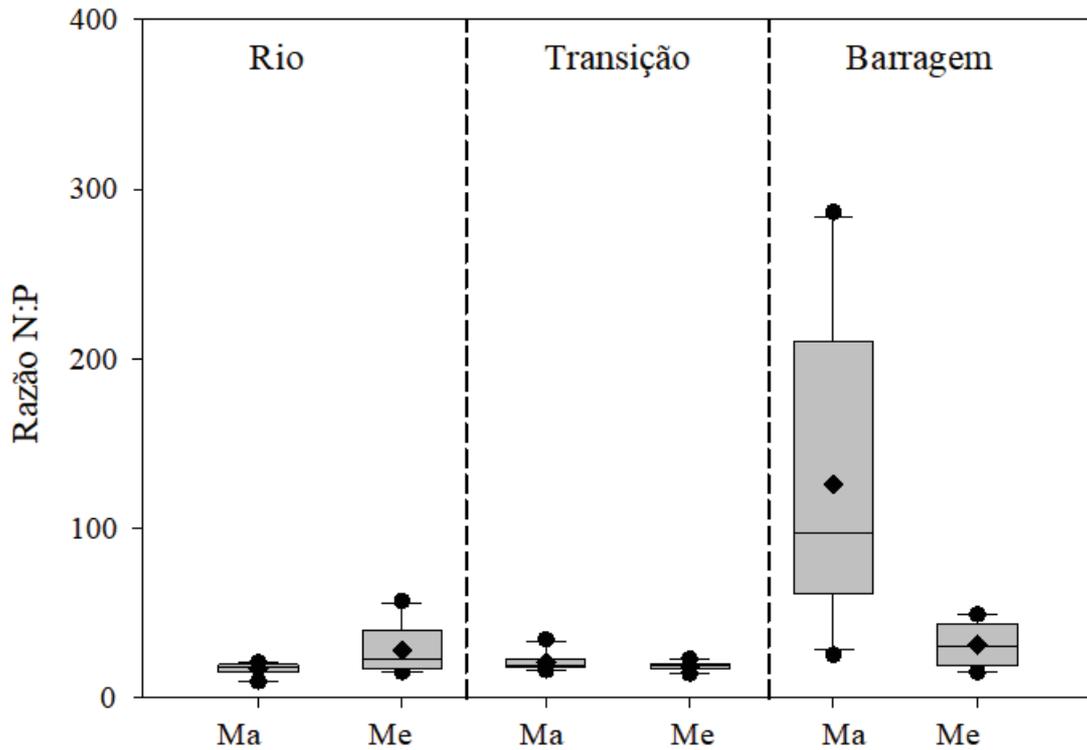
Gráfico 10 - Razão molar NT:PT em diferentes profundidades dos perfis de sedimento amostrados nos ambientes de A) rio (N=4); B) transição (N=4) e C) barragem (N=4) na UHE Funil.

Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os *outliers* e os losangos pretos representam as médias



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

Gráfico 11 - Razão molar NT:PT em sedimentos amostrados nos ambientes de rio; transição e barragem nas áreas de margem (Ma, N=10) e meio (Me, N=10) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os *outliers* e os losangos pretos representam as médias



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

Tabela 2 - Valores mínimos (Min.), máximos (Máx.), médios (Méd.) e desvios padrões (DP.) das concentrações de nitrogênio total (NT) em $\mu\text{g/g}$ de sedimento em diferentes profundidades dos perfis de sedimento amostrados nos ambientes de rio (N=4), transição (N=4) e barragem (N=4) na UHE Funil em julho de 2018

Profundidade (cm)	Rio				Transição				Barragem			
	Min.	Máx.	Méd.	DP.	Min.	Máx.	Méd.	DP.	Min.	Máx.	Méd.	DP.
2	1452,89	1595,18	1507,33	62,53	1510,35	1837,39	1667,17	168,74	384,38	1527,50	947,36	618,26
4	1490,07	1617,69	1547,55	52,61	402,71	1572,52	1235,71	557,38	279,76	1540,56	1035,76	590,54
6	1476,83	1933,76	1691,46	242,57	243,43	1655,29	1257,03	677,10	339,34	1526,95	1211,63	581,79
8	859,47	1591,38	1390,41	355,34	267,73	1623,37	1232,15	644,97	282,49	1991,51	1386,55	757,82
10	701,27	1438,74	968,61	326,28	253,02	1525,89	1186,72	623,05	258,74	1551,38	1197,72	626,66

Fonte: Elaborado pela autora (2020).

Tabela 3 - Valores mínimos (Min.), máximos (Máx.), médios (Méd.) e desvios padrões (DP.) das concentrações de fósforo total (PT) em $\mu\text{g/g}$ de sedimento em diferentes profundidades dos perfis de sedimento nos ambientes de rio (N=4), transição (N=4) e barragem (N=4) na UHE Funil em julho de 2018

Profundidade (cm)	Rio				Transição				Barragem			
	Min.	Máx.	Méd.	DP.	Min.	Máx.	Méd.	DP.	Min.	Máx.	Méd.	DP.
2	115,89	219,84	169,24	42,51	133,36	197,69	173,02	27,90	11,38	172,26	70,69	76,63
4	76,87	210,13	159,30	58,15	25,85	211,52	152,76	85,52	10,85	217,73	78,75	96,23
6	74,72	196,82	148,94	52,45	24,58	195,89	142,80	79,78	6,89	175,79	70,48	78,92
8	85,54	199,16	161,68	52,84	34,05	188,74	142,19	72,83	9,92	136,58	60,08	59,74
10	88,65	168,35	133,63	34,76	34,23	222,74	145,68	79,59	17,46	174,00	72,93	72,69

Fonte: Elaborado pela autora (2020).

Tabela 4 - Valores mínimos (Min.), máximos (Máx.), médios (Méd.) e desvios padrões (DP.) da razão molar das concentrações de NT:PT de sedimento em diferentes profundidades dos perfis de sedimento nos ambientes de rio (N=4), transição (N=4) e barragem (N=4) na UHE Funil em julho de 2018

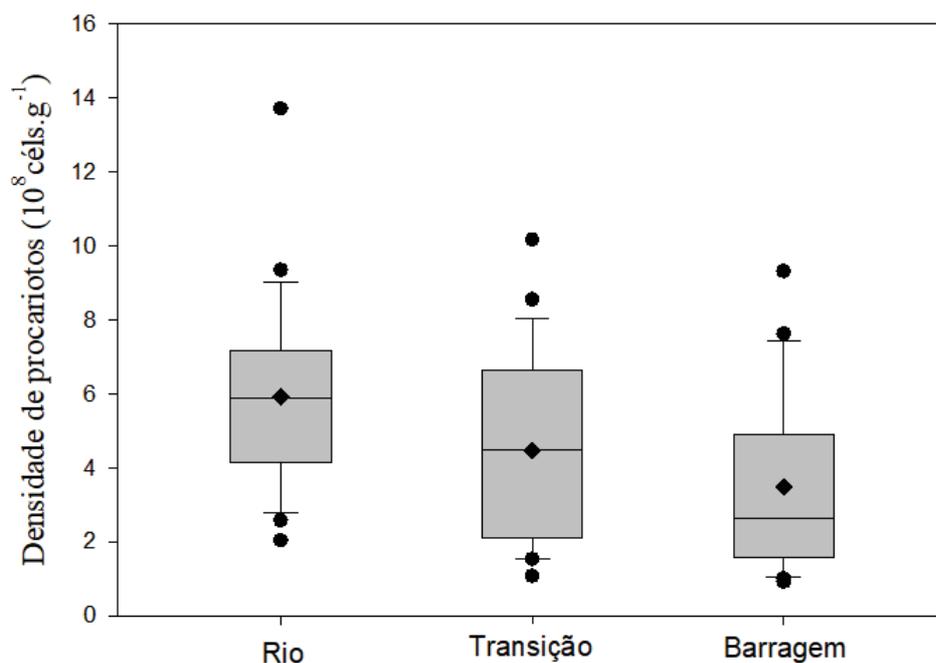
Profundidade (cm)	Rio				Transição				Barragem			
	Min.	Máx.	Méd.	DP.	Min.	Máx.	Méd.	DP.	Min.	Máx.	Méd.	DP.
2	15,15	30,44	20,89	6,62	18,34	25,04	21,61	3,02	19,61	85,93	53,86	31,11
4	17,02	42,87	24,75	12,18	15,81	34,46	21,52	8,68	14,91	108,21	57,38	38,52
6	16,59	57,23	29,98	18,65	18,69	21,90	20,04	1,57	18,78	253,12	104,98	106,03
8	9,71	39,37	21,97	12,55	17,39	20,23	18,84	1,37	25,16	286,75	105,83	121,61
10	11,81	18,90	16,11	3,07	14,51	21,38	18,02	3,15	19,00	196,48	70,78	84,37

Fonte: Elaborado pela autora (2020).

A densidade média total de procariotos foi maior no ambiente de rio ($5,92 \pm 2,49 \times 10^8$ céls.g⁻¹) em comparação com a transição ($4,48 \pm 2,44 \times 10^8$ céls.g⁻¹) e barragem ($3,49 \pm 2,34 \times 10^8$ céls.g⁻¹). A densidade total de procariotos foi significativamente diferente nos ambientes de rio, transição e barragem (Kruskal-Wallis, $H = 11,574$, $GL = 2$, $p = 0,003$) (Tukey, $p < 0,05$) (Gráfico 12). A densidade total de procariotos foram encontradas no ambiente de rio, sendo a profundidade de 4 cm aquela com maior densidade ($13,72 \times 10^8$ céls.g⁻¹) (Tabela 5). Já as menores densidades foram encontradas no ambiente de barragem, principalmente na profundidade 10 cm. Foram encontradas variações significativas entre as profundidades no ambiente de barragem (Kruskal-Wallis, $H = 12,927$, $GL = 4$, $p = 0,012$) sendo as profundidades 2 cm e 10 cm com diferentes significativamente entre elas (Tukey, $q = 4,804$, $p < 0,05$) (Gráfico 13). Quando analisado as regiões de margem e meio de cada ambiente não foram encontradas diferenças significativas rio (test t. $t = 1,397$, $GL = 23$, $p = 0,176$), transição (test t. $t = 0,146$, $GL = 23$, $p = 0,885$) e barragem (Mann-Whitney, $U = 64,000$, $p = 0,560$) (Gráfico 14).

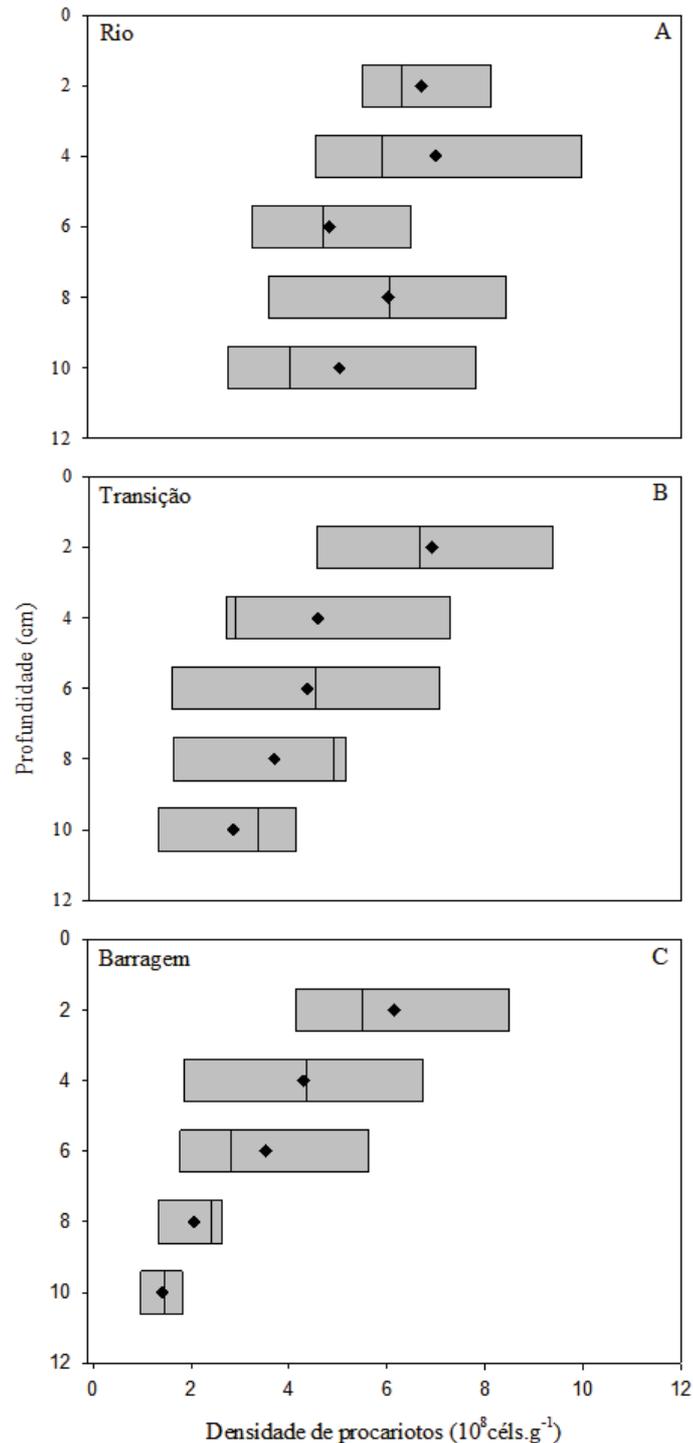
Gráfico 12 - Densidade total de procariotos amostrados por grama de sedimento (10^8 céls.g⁻¹) em de sedimento nos ambientes de rio (N=25), transição (N=25) e barragem (N=25) na UHE

Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os *outliers* e os losangos pretos representam as médias



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

Gráfico 13 - Densidade total de procariontos amostrados por grama de sedimento (10^8 céls.g⁻¹) em diferentes profundidades dos perfis de sedimento amostrados nos ambientes de A) rio (N=5); B) transição (N=5) e C) barragem (N=5) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os *outliers* e os losangos pretos representam as médias



Fonte: Elaborado pela autora (2020)

Tabela 5 - Valores mínimos (Min.), máximos (Máx.), médios (Méd.) e desvios padrões (DP.) das densidades de procariotos em 10^8 céls.g⁻¹ de sedimento em diferentes sondas e profundidades (Prof.) dos perfis de sedimento amostrados nos ambientes de rio (N=4), transição (N=4) e barragem (N=4) na UHE Funil em julho de 2018

Sondas	Prof (cm)	Rio				Transição				Barragem			
		Min.	Máx.	Méd.	DP.	Min.	Máx.	Méd.	DP.	Min.	Máx.	Méd.	DP.
ARC915	2	0,51	1,22	0,73	0,27	0,26	0,61	0,38	0,13	0,37	1,27	0,86	0,38
	4	0,23	1,43	0,75	0,53	0,07	0,77	0,39	0,25	0,24	0,72	0,51	0,19
	6	0,28	1,81	0,81	0,53	0,09	0,54	0,20	0,17	0,21	0,66	0,40	0,16
	8	0,19	1,17	0,59	0,33	0,03	0,33	0,17	0,10	0,10	0,68	0,36	0,18
	10	0,10	0,63	0,35	0,19	0,14	0,33	0,22	0,08	0,05	0,37	0,20	0,14
MB311	2	0,05	0,65	0,39	0,22	0,03	0,65	0,24	0,22	0,19	1,13	0,65	0,40
	4	0,14	0,87	0,36	0,28	0,03	0,45	0,34	0,15	0,21	0,52	0,37	0,10
	6	0,14	1,22	0,52	0,41	0,09	0,59	0,28	0,19	0,33	0,86	0,51	0,20
	8	0,10	1,74	0,60	0,58	0,02	0,59	0,27	0,20	0,14	0,65	0,34	0,17
	10	0,12	0,59	0,32	0,20	0,05	0,35	0,21	0,11	0,07	0,87	0,31	0,29
MSMX860	2	0,12	1,12	0,50	0,37	0,02	0,65	0,34	0,24	0,45	1,36	0,80	0,31
	4	0,14	0,86	0,36	0,26	0,03	0,40	0,21	0,12	0,23	0,87	0,48	0,25
	6	0,19	0,72	0,37	0,18	0,07	0,51	0,28	0,16	0,21	0,66	0,41	0,17
	8	0,07	1,20	0,44	0,41	0,03	0,70	0,37	0,23	0,24	0,99	0,51	0,28
	10	0,14	0,52	0,34	0,15	0,12	0,58	0,32	0,16	0,07	0,73	0,39	0,27
SRB385	2	0,28	0,68	0,47	0,15	0,42	1,13	0,72	0,26	0,07	1,24	0,60	0,38
	4	0,21	0,80	0,37	0,22	0,23	0,63	0,38	0,18	0,21	0,75	0,48	0,17
	6	0,07	0,70	0,38	0,21	0,24	0,73	0,37	0,18	0,28	0,59	0,38	0,11
	8	0,12	0,72	0,39	0,21	0,17	0,61	0,34	0,17	0,16	0,75	0,40	0,21
	10	0,10	0,52	0,25	0,15	0,19	0,79	0,38	0,22	0,02	0,82	0,32	0,29

Fonte: Elaborado pela autora (2020)

Continuação Tabela 5

Sondas	Prof (cm)	Rio				Transição				Barragem			
		Min.	Máx.	Méd.	DP.	Min.	Máx.	Méd.	DP.	Min.	Máx.	Méd.	DP.
DELTA495a	2	0,59	1,97	1,07	0,51	0,35	1,10	0,62	0,29	0,21	1,03	0,58	0,33
	4	0,14	1,26	0,54	0,38	0,10	0,75	0,38	0,22	0,17	0,42	0,36	0,09
	6	0,00	0,89	0,43	0,28	0,19	0,49	0,27	0,11	0,17	0,66	0,44	0,17
	8	0,00	0,73	0,31	0,25	0,16	0,38	0,23	0,08	0,23	0,87	0,42	0,24
	10	0,10	0,63	0,31	0,21	0,24	0,73	0,38	0,18	0,05	0,87	0,35	0,31
EPSY549	2	0,00	0,03	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
	6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,01	0,02	0,00	0,03	0,01	0,01
	8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,01	0,01
	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
BET42a	2	0,47	2,55	1,12	0,74	0,26	0,77	0,46	0,20	0,42	1,97	0,95	0,56
	4	0,14	1,48	0,52	0,49	0,24	1,06	0,59	0,32	0,21	1,01	0,54	0,30
	6	0,03	1,17	0,50	0,39	0,16	0,66	0,29	0,19	0,17	0,92	0,49	0,29
	8	0,02	0,82	0,37	0,29	0,21	0,44	0,36	0,08	0,14	0,59	0,27	0,17
	10	0,03	0,66	0,30	0,24	0,16	0,37	0,25	0,08	0,07	0,47	0,25	0,15
GAM42a	2	0,38	1,24	0,81	0,31	0,35	0,86	0,66	0,21	0,26	1,33	0,71	0,39
	4	0,19	1,08	0,43	0,33	0,23	0,68	0,45	0,16	0,14	0,86	0,44	0,26
	6	0,28	0,80	0,49	0,23	0,07	0,54	0,24	0,16	0,21	0,77	0,41	0,22
	8	0,05	1,01	0,40	0,34	0,19	0,44	0,30	0,08	0,12	0,84	0,31	0,27
	10	0,07	0,70	0,33	0,25	0,22	0,38	0,30	0,06	0,05	0,51	0,29	0,19
TOTAL	2	5,44	8,74	6,70	1,26	4,40	10,17	6,90	2,22	4,08	9,32	6,14	2,04
	4	4,28	13,72	6,99	3,43	2,53	7,73	4,57	2,24	1,83	7,29	4,30	2,21
	6	2,04	6,86	4,83	1,65	1,54	7,49	4,36	2,46	1,41	6,89	3,52	1,94
	8	3,14	8,83	6,02	2,21	1,55	5,27	3,69	1,69	1,08	2,63	2,07	0,63
	10	2,58	9,35	5,03	2,51	1,08	4,50	2,85	1,31	0,92	2,06	1,41	0,41

Fonte: Elaborado pela autora (2020)

A densidade média total de arqueia (ARC915) foi maior no ambiente de rio ($0,65 + 0,18 \times 10^8$ céls.g⁻¹) em comparação com a transição ($0,27 + 0,18 \times 10^8$ céls.g⁻¹) e barragem ($0,47 + 0,32 \times 10^8$ céls.g⁻¹). A densidade de arqueia foram significativamente diferentes nos ambientes de rio, transição e barragem (Kruskal-Wallis, $H = 15,395$, $GL = 2$, $p = 0,001$) (Tukey, $p < 0,05$). A densidade total de arqueia foram encontradas no ambiente de rio, sendo a profundidade de 6 cm aquela com maior densidade ($1,81 \times 10^8$ céls.g⁻¹) (Tabela 5). Já as menores concentrações foram encontradas no ambiente de transição, principalmente na profundidade 8 cm. Não houve diferença estatística entre os perfis de profundidade do ambiente de rio (Kruskal-Wallis, $H = 4,210$, $GL = 4$, $p = 0,378$) e transição (Kruskal-Wallis, $H = 6,968$, $GL = 4$, $p = 0,138$). Já o ambiente de barragem apresentou diferença estatística (One-Way Anova, $F = 4,735$, $p = 0,007$) entre as profundidades de 2 cm e 10 cm (Holm-Sidak, $p = 0,045$) e de 2 cm e 8 cm (Holm-Sidak, $p = 0,005$). Quando analisada as regiões de margem e meio, somente o ambiente de rio não apresentou diferença estatística.

A densidade média total das arqueias metanogênicas (MB311) foi maior no ambiente de rio ($0,44 \pm 0,38 \times 10^8$ céls.g⁻¹) em comparação com a transição ($0,27 \pm 0,18 \times 10^8$ céls.g⁻¹) e barragem ($0,43 \pm 0,28 \times 10^8$ céls.g⁻¹). As arqueias metanogênicas representaram 7,3 % da densidade média total no ambiente de rio, 5,9 % na transição e 12,4 % na barragem (Gráfico 14). A densidade de arqueias metanogênicas não foram significativamente diferentes nos ambientes de rio, transição e barragem (Kruskal-Wallis, $H = 4,521$, $GL = 2$, $p = 0,104$). No perfil de profundidade a densidade de arqueias metanogênicas foi maior no ambiente de rio na profundidade de 8 cm ($1,74 \times 10^8$ céls.g⁻¹) e menor no ambiente de transição na profundidade de 2 cm ($0,03 \times 10^8$ céls.g⁻¹) (Tabela 5). Não houve diferença estatística entre os perfis de profundidade dos ambientes de rio (Kruskal-Wallis, $H = 0,638$, $GL = 4$, $p = 0,959$) (Gráfico 17), transição (One-Way Anova, $F = 0,274$, $p = 0,891$) (Gráfico 18) e barragem (One-Way Anova, $F = 1,278$, $p = 0,312$) (Gráfico 19). Houve diferença estatística entre a margem o meio apenas para o ambiente de rio (Mann-Whitney, $U = 38,500$, $p = 0,045$). O mesmo não ocorreu para os ambientes de transição (test t, $t = -0,841$, $GL = 23$, $p = 0,409$) e barragem (Mann-Whitney, $U = 58,500$, $p = 0,374$) (Gráfico 15).

A densidade média total das arqueia metanogênicas (MSMX860) foi maior no ambiente de barragem ($0,52 \pm 0,30 \times 10^8$ céls.g⁻¹) e menor no ambiente de transição ($0,30 \pm 0,19 \times 10^8$ céls.g⁻¹). As *Methanosarcina* spp. representaram 6,8 % da densidade média total nos ambientes de rio e transição e 14,8 % na barragem (Gráfico 14). A densidade de arqueias metanogênicas foram significativamente diferentes nos ambientes de rio, transição e barragem

(Kruskal-Wallis, $H = 7,119$, $GL = 2$, $p = 0,028$) para barragem e transição (Tukey, $p < 0,05$). No perfil de profundidade a densidade das arqueia metanogênicas foi maior no ambiente de barragem na profundidade superficial ($1,36 \times 10^8$ céls.g⁻¹) e menor no ambiente de transição na profundidade 2 cm ($0,02 \times 10^8$ céls.g⁻¹) (Tabela 5). Não houve diferença estatística entre os perfis de profundidade dos ambientes de rio (Kruskal-Wallis, $H = 0,268$, $GL = 4$, $p = 0,992$) (Gráfico 17), transição (*One-Way* Anova, $F = 0,460$, $p = 0,764$) (Gráfico 18) e barragem (Kruskal-Wallis, $H = 4,887$, $GL = 4$, $p = 0,299$) (Gráfico 19). Não houve diferença estatística quando analisadas as regiões de margem e meio nos ambiente de rio (Mann-Whitney. $U = 68,000$, $p = 0,718$), transição (test t. $t = -0,226$, $GL = 23$, $p = 0,823$) e a barragem (test t. $t = -1,855$, $GL = 23$, $p = 0,076$) (Gráfico 15).

A densidade média total das Desulfovibrionales (SRB385) foi igual nos ambientes de transição ($0,44 \pm 0,25 \times 10^8$ céls.g⁻¹) e barragem ($0,44 \pm 0,27 \times 10^8$ céls.g⁻¹) e menor no ambiente de rio ($0,37 \pm 0,20 \times 10^8$ céls.g⁻¹). As Desulfovibrionales representaram 6,3 % da densidade média total nos ambientes de rio, 9,7% na transição e 14,8 % na barragem. A densidade das Desulfovibrionales não foi significativamente diferentes nos ambientes de rio, transição e barragem (Kruskal-Wallis, $H = 0,570$, $GL = 2$, $p = 0,752$). No perfil de profundidade a densidade das Desulfovibrionales foi maior no ambiente de barragem na profundidade de 2 cm ($1,24 \times 10^8$ céls.g⁻¹) e menor também no ambiente de barragem na profundidade de 10 cm ($0,02 \times 10^8$ céls.g⁻¹) (Tabela 5). Não houve diferença estatística entre os perfis de profundidade dos ambientes de rio (*One-Way* Anova, $F = 0,690$, $p = 0,607$), transição (Kruskal-Wallis, $H = 5,881$, $GL = 4$, $p = 0,208$) e barragem transição (*One-Way* Anova, $F = 0,739$, $p = 0,576$). Houve diferença estatística entre a margem o meio apenas para o ambiente de rio (test t. $t = -3,064$, $GL = 23$, $p = 0,005$). O mesmo não ocorreu para os ambientes de transição (Mann-Whitney. $U = 73,000$, $p = 0,934$) e barragem (test t. $t = -1,845$, $GL = 23$, $p = 0,078$) (Gráfico 15).

A densidade média total das deltaproteobacteria (DELTA495a) foi maior no ambiente de rio ($0,53 \pm 0,45 \times 10^8$ céls.g⁻¹) e menor no ambiente de transição ($0,38 \pm 0,24 \times 10^8$ céls.g⁻¹). As deltaproteobacterias representaram 9,0 % da densidade média total no ambiente de rio, 8,3 %, na transição e 12,2 % na barragem (Gráfico 14). A densidade das deltaproteobacterias não foi significativamente diferentes nos ambientes de rio, transição e barragem (Kruskal-Wallis, $H = 1,527$, $GL = 2$, $p = 0,466$). No perfil de profundidade a densidade das deltaproteobacteria foi maior no ambiente de rio na profundidade de 2 cm ($1,97 \times 10^8$ céls.g⁻¹) e menor também no ambiente de rio na profundidade de 6 cm apresentando valor negativos

quando descontado o controle negativo, por isso consideramos 0 (Tabela 5). Houve diferença estatística entre os perfis de profundidade dos ambientes de rio (*One-Way* Anova, $F = 3,358$, $p = 0,029$) (Gráfico 17) entre as profundidades de 2 cm e 10 cm (Holm-Sidak, $p = 0,048$), e no ambiente de transição (Kruskal-Wallis, $H = 9,776$, $GL = 4$, $p = 0,044$) (Gráfico 18) entre as profundidades de 2 cm e 8 cm (Tukey, $p < 0,05$). No perfil de profundidade do ambiente de barragem não houve diferença significativa (*One-Way* Anova, $F = 0,562$, $p = 0,693$) (Gráfico 19). Quando analisada as regiões de margem e meio houve diferença significativa para o ambiente de rio Mann-Whitney. $U = 33,000$, $p = 0,021$) e transição (Mann-Whitney. $U = 38,000$, $p = 0,043$) (Gráfico 16).

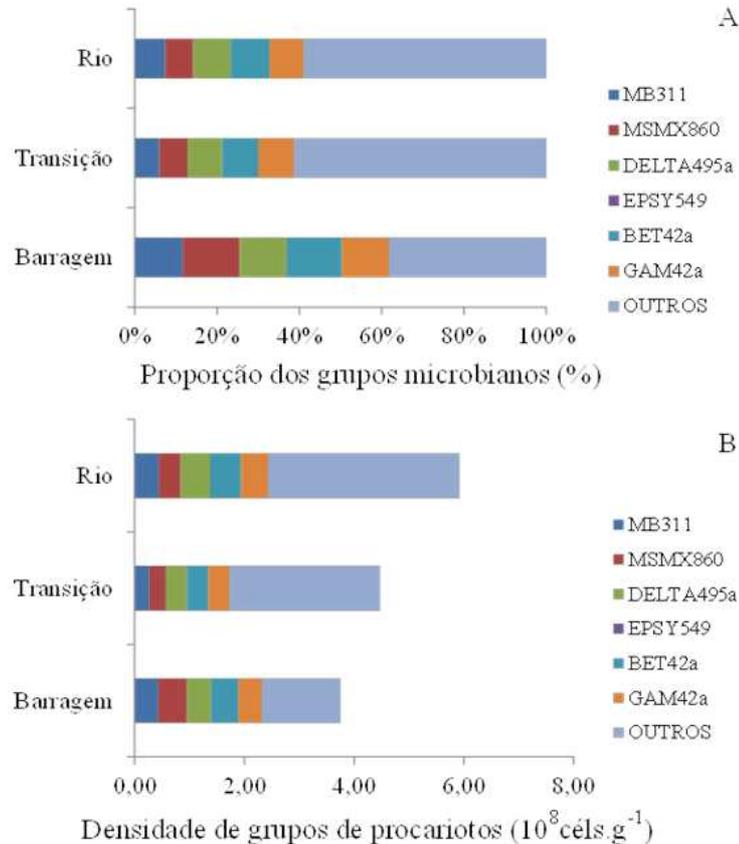
A densidade média total da densidade de epsilonproteobacteria (EPSY549) apresentou valores bem próximos de zero, sendo encontradas em apenas algumas profundidades. No perfil de profundidade a densidade de epsilonproteobacteria foi encontrada no ambiente de rio na profundidade superficial ($0,03 \times 10^8$ céls.g⁻¹), na transição na profundidade de 4 cm ($0,02 \times 10^8$ céls.g⁻¹) e 6 cm ($0,05 \times 10^8$ céls.g⁻¹). no ambiente de barragem na profundidades 6 cm e 8cm ($0,03 \times 10^8$ céls.g⁻¹) (Tabela 5) (Gráfico 16).

A densidade média total das betaproteobacteria (BET42a) foi maior no ambiente de rio ($0,56 \pm 0,55 \times 10^8$ céls.g⁻¹) e menor no ambiente de transição ($0,39 \pm 0,23 \times 10^8$ céls.g⁻¹). As betaproteobacterias representaram 9,4 % da densidade média total no ambiente de rio, 8,7 % na transição e 14,2 % na barragem (Gráfico 14). A densidade das betaproteobacterias não foi significativamente diferentes nos ambientes de rio, transição e barragem (Kruskal-Wallis, $H = 0,292$, $GL = 2$, $p = 0,864$). No perfil de profundidade a densidade das betaproteobacteria foi maior no ambiente de rio na profundidade de 2 cm ($2,55 \times 10^8$ céls.g⁻¹) e menor também no ambiente de rio na profundidade de 6 cm ($0,02 \times 10^8$ céls.g⁻¹) (Tabela 5). Não houve diferença estatística entre os perfis de profundidade dos ambientes de rio (Kruskal-Wallis, $H = 6,189$, $GL = 4$, $p = 0,185$) (Gráfico 17), transição (*One-Way* Anova, $F = 0,1978$, $p = 0,137$) (Gráfico 18) e barragem (*One-Way* Anova, $F = 3,014$, $p = 0,043$) (Gráfico 19). Apesar do p ter sido significativo no ambiente de barragem, não houve diferença entre as profundidades nos testes posteriori. Quando comparadas as regiões de margem e meio houve diferença estatística entre margem e meio apenas no ambiente de rio (Mann-Whitney. $U = 30,000$, $p = 0,013$) (Gráfico 16).

A densidade média total das gamaproteobacteria (GAM42a) foi maior no ambiente de rio ($0,49 \pm 0,34 \times 10^8$ céls.g⁻¹) e menor no ambiente de transição ($0,39 \pm 0,21 \times 10^8$ céls.g⁻¹) As gamaproteobacterias representaram 8,3 % da densidade média total no ambiente de rio, 8,7

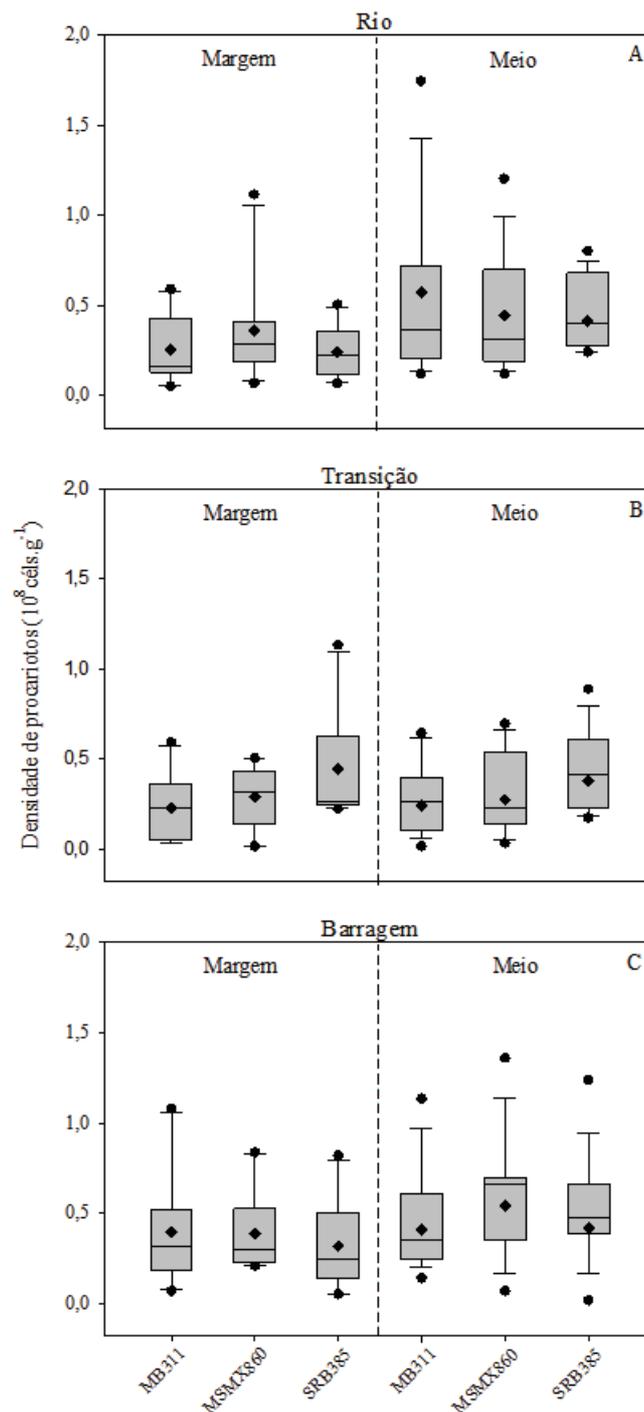
% na transição e 12,3 % na barragem (Gráfico 14). A densidade das gamaproteobacteria não foi significativamente diferentes nos ambientes de rio, transição e barragem (Kruskal-Wallis, $H = 0,636$, $GL = 2$, $p = 0,728$). No perfil de profundidade a densidade das gamaproteobacteria foi maior no ambiente de barragem na profundidade de 2 cm ($1,33 \times 10^8$ céls.g⁻¹) e menor no ambiente de rio 10 cm ($0,07 \times 10^8$ céls.g⁻¹) (Tabela 5). Houve diferença estatística entre os perfis de profundidade apenas no ambiente de transição (*One-Way Anova*, $F = 5,347$, $p = 0,004$) (Gráfico 18)entres as profundidades de 2 cm e 6 cm (Holm-Siday, $p = 0,007$), 2 cm e 8 cm (Holm-Siday, $p = 0,020$) e entre as profundidade de 2cm e 10 cm Holm-Siday, $p = 0,019$). Quando analisada as regiões de margem e meio nos ambientes de rio (test t. $t = -2,021$, $GL = 23$, $p = 0,055$), transição (Mann-Whitney. $U = 75,000$, $p = 1,000$) e barragem (Mann-Whitney. $U = 42,000$, $p = 0,071$) não houve diferença significativa entre as regiões (Gráfico 16).

Gráfico 14 - Contribuição dos grupos microbianos amostrados por grama de sedimento (10^8 céls.g⁻¹) nos ambientes de rio (N = 25); transição (N = 25) e barragem (N = 25) na UHE Funil. A) Contribuição percentual (%); B) Densidade total por grupos (10^8 céls.g⁻¹)



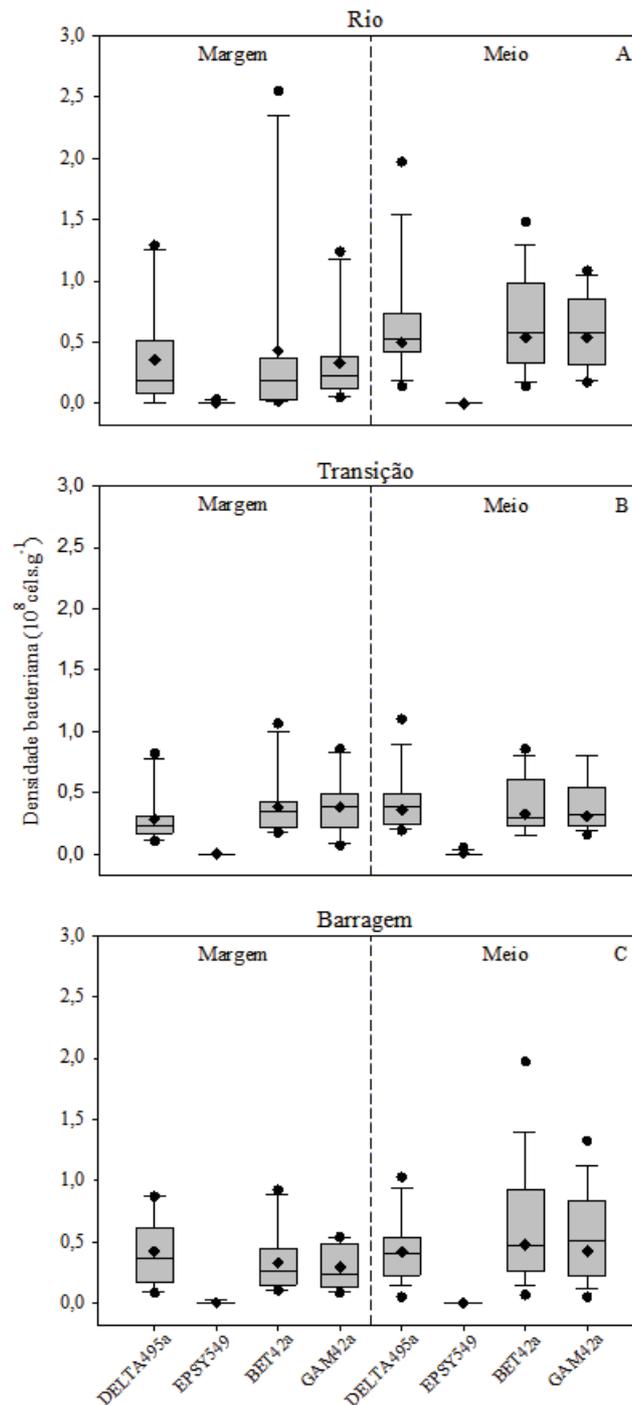
Fonte: Elaborado pela autora (2020).

Gráfico 15 - Densidade dos grupos funcionais (Metanobactérias - MB311 e MSMX860; Sulfato-redutoras – SRB385) por grama de sedimento (10^8 céls.g⁻¹) em sedimentos amostrados nas ambientes de A) rio; B) transição e C) barragem nas áreas de margem (N = 10) e meio (N = 14) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa à mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os *outliers* e os losangos pretos representam as médias



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

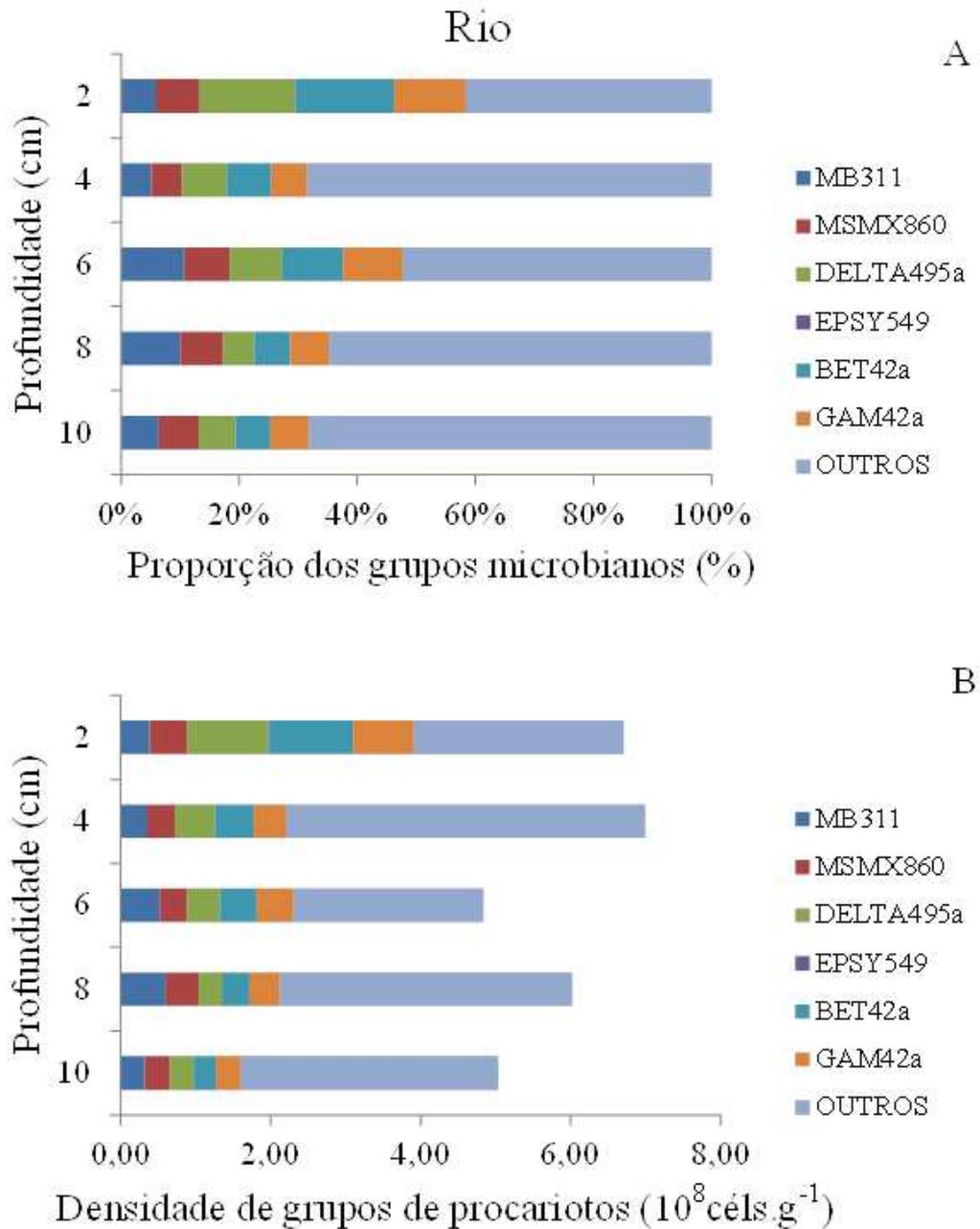
Gráfico 16 - Densidade de proteobacterias (deltaproteobacteria - DELTA49a; epsilonproteobacteria – EPSY549; betaproteobacteria - BET42; gamaproteobacteria – GAM42a) por grama de sedimento (10^8 céls.g⁻¹) em sedimentos amostrados nas ambientes de A) rio; B) transição e C) barragem nas áreas de margem (N = 10) e meio (N = 14) na UHE Funil. Os limites das caixas indicam os percentis 25 e 75, a linha que divide as caixas representa a mediana, as barras de erro acima e abaixo das caixas indicam os percentis 10 e 90, os círculos pretos representam os outliers e os losangos pretos representam as médias



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

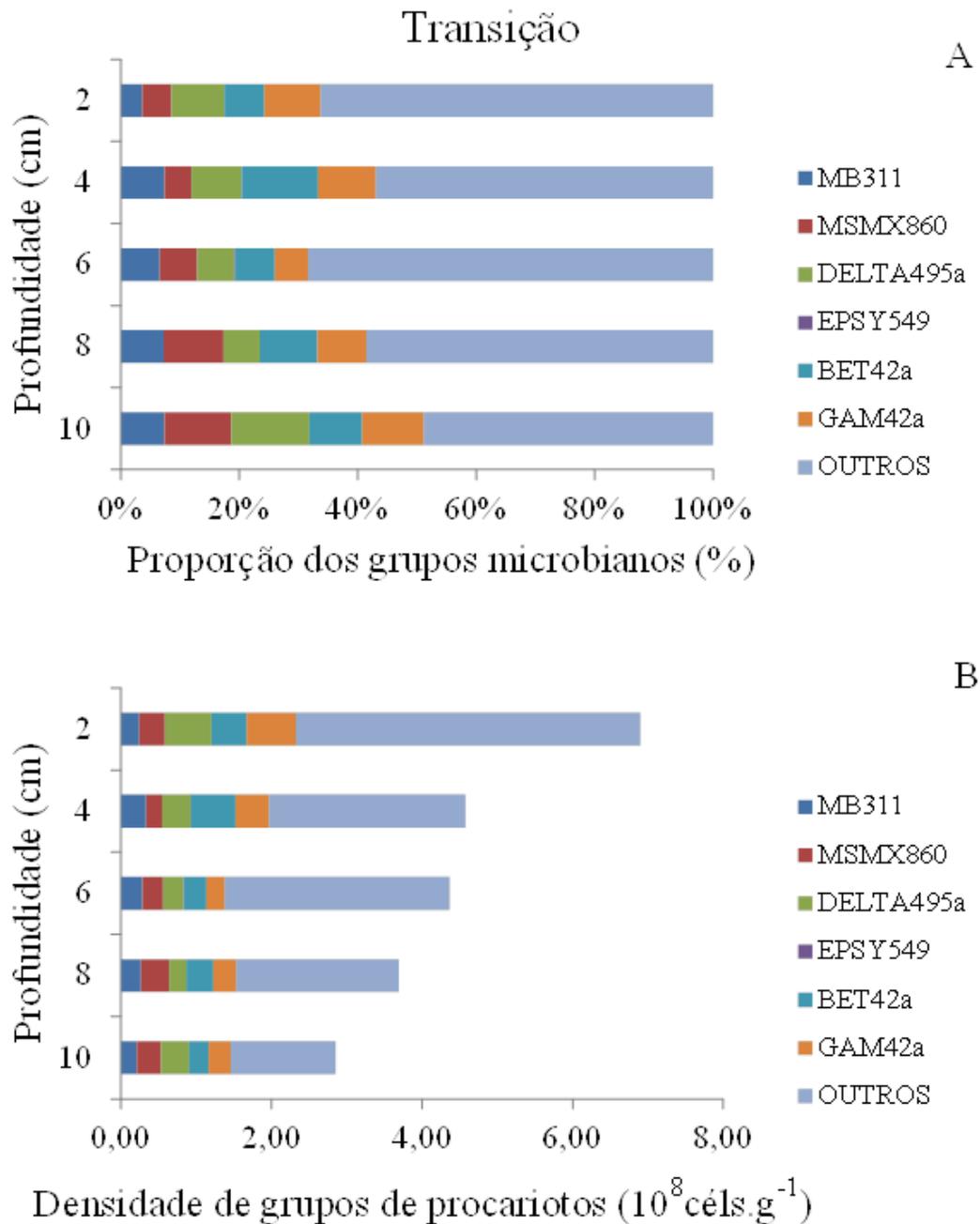
Gráfico 17 - Contribuição dos grupos microbianos amostrados por grama de sedimento em diferentes profundidades dos perfis de sedimento nos ambientes de rio (N = 5) na UHE Funil.

A) Contribuição percentual; B) Densidade total por grupos (10^8 céls.g⁻¹)



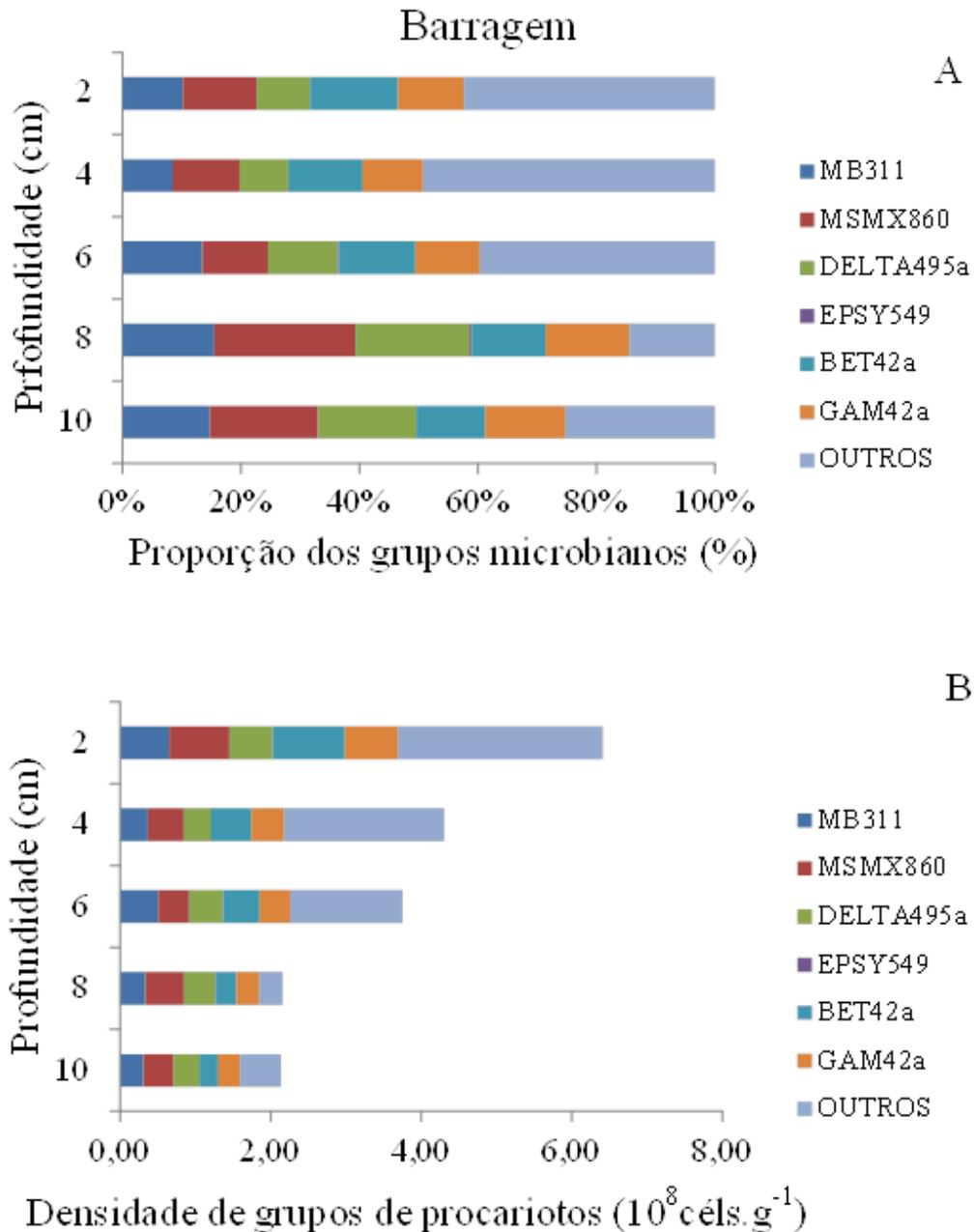
Fonte: Elaborado pela autora (2020).

Gráfico 18 - Contribuição dos grupos microbianos amostrados por grama de sedimento em diferentes profundidades dos perfis de sedimento nos ambientes de transição (N = 5) na UHE Funil. A) Contribuição percentual; B) Densidade total por grupos (10^8 céls.g⁻¹).



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

Gráfico 19 - Contribuição dos grupos microbianos amostrados por grama de sedimento em diferentes profundidades dos perfis de sedimento nos ambientes de barragem (N = 5) na UHE Funil. A) Contribuição percentual; B) Densidade por grupos (10^8 céls.g⁻¹).



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

8 DISCUSSÕES

As tecnologias moleculares modernas nos permitem identificar uma infinidade de microrganismos que existem, identificar os genes que eles carregam e até determinar se esses genes estão sendo transcritos e traduzidos em proteínas funcionais (BIER et al., 2015). Apesar dos avanços, nossa crescente consciência da importância e diversidade do mundo microbiano contrasta fortemente com nosso entendimento limitado de sua estrutura fundamental (THOMPSON et al., 2017). Este trabalho teve como objetivo avaliar a estrutura da comunidade microbiana (i.e. abundância total e de grupos funcionais selecionados) em perfis de sedimentos na Usina Hidrelétrica do Funil, bacia do rio Paraíba do Sul realizando transectos em três ambientes contrastantes do reservatório: rio, transição e barragem.

A estrutura da comunidade microbiana pode ser entendida como as características de uma comunidade de microrganismos, incluindo bactérias, arqueias e microeucariotos, medida por qualquer métrica de taxa ou composição de genes, diversidade e / ou abundância por meio de uma variedade de técnicas moleculares (BIER et al., 2015). Já os processos microbianos são aqueles considerados como a atividade microbiana, medida em escala de comunidade, seja através da avaliação direta das atividades enzimáticas que mediam um processo, monitoramento da acumulação do produto final ao longo do tempo ou ciclos de elementos através do uso de isotópicos estáveis (BIER et al., 2015)..

Neste estudo, através da técnica de Hibridização *in situ* fluorescente (FISH), houve uma boa cobertura da comunidade microbiana nos ambientes amostrados. No ambiente de barragem as sondas utilizadas foram capazes de sinalizar 60 % dos grupos microbianos encontrados. Nos ambientes de rio e transição essa cobertura alcançou 40 %. Surpreendentemente, não houve uma variação dessa cobertura quando os pontos amostrados foram separados em margem e meio dos transectos. A grande cobertura das sondas nestas áreas tão distintas do reservatório demonstra que pode haver uma redundância funcional dos organismos ali presentes. No entanto, uma meta-análise realizada por Thompson e colaboradores (2017) demonstrou que em muitos estudos comunidades menos ricas podem estar aninhadas em comunidades mais ricas em níveis taxonômicos mais altos, e de acordo com a especificidade do ambiente. Neste caso, eles sugerem a análise das sequências individuais de 16S rRNA.

Quando comparados entre si, os ambientes de rio, transição e barragem não apresentaram a predominância de nenhum dos grupos microbianos avaliados, demonstrando

que o particionamento de nichos ecológicos nesses ambientes é bem conservado. A única exceção foi o grupo Epsilonproteobacteria (EPSY549), que tem sido tradicionalmente encontrada em ambientes extremos como fontes termais e zonas abissais oceânicas (TAKAI et al., 2005), mas que não teve representatividade em nosso estudo. Já quando os perfis de profundidade são avaliados em cada ambiente, percebemos que o ambiente de rio foi o que obteve maior cobertura dos grupos microbianos nas camadas superficiais de sedimento (2 cm) chegando a cerca de 60 %. Esse padrão se inverteu nos demais ambientes, a região de transição apresentou maior cobertura (ca. 50 %) no fundo do perfil (10 cm). No ambiente de barragem essa cobertura chegou a 90 % na profundidade 8 cm. Essa maior cobertura nas maiores profundidades pode estar relacionada à dinâmica desses ecossistemas, que apresentam condições de menor turbulência, acúmulo de matéria orgânica, menores temperaturas e menor iluminação, o que pode potencialmente favorecer um número maior de grupos microbianos. No entanto, vale ressaltar que apesar da diversidade microbiana encontrada, as técnicas por nós utilizadas não permitem avaliar se todos esses grupos estão realmente ativos. Esse tem sido um grande paradigma para a ecologia de microrganismo, principalmente em relação às comunidades microbianas, ou seja, conhecer “quem está presente não é a mesma coisa que conhecer quem está ativo” (JONES & LENONN, 2010; PROSSER et al., 2007).

Neste estudo, a densidade total de procarioto não apresentou diferença significativa no perfil de profundidade do sedimento para os ambientes de rio e transição. As maiores densidade foram encontradas na camada superficial do sedimento (2 cm). Este fato foi observado para reservatórios eutróficos na Alemanha, onde uma maior abundância de procarioto foi detectada na camada superficial do sedimento (0-1 cm) e ocorreu uma variação de 1 e 10×10^{10} céls g⁻¹ (WOBUS et al., 2003). Isso pode estar relacionado com a disponibilidade de nutrientes nas camadas mais profundas, uma vez que nas camadas superiores há maior disponibilidade de nutrientes e MO de fácil degradação que nas inferiores, onde os nutrientes “antigos” e a MO menos lábil. Desta forma, a disponibilidade e o tipo de nutriente presente pode ser um fator limitante no desenvolvimento desses grupos de microrganismos.

A maioria dos trabalhos encontrados de densidade de arqueia foi em ecossistemas marinhos (CIFUENTES et al., 2000; GILLAN et al., 2005). Hoshino & Inagaki, (2019) em seu artigo “Abundância e distribuição de Archaea na biosfera sedimentar submarina” usando o método de PCR quantitativo estimou que em comunidades anaeróbias marginais e aeróbicas

de oceano aberto 40 % e 12,8% do total de células microbianas são de arqueias. Estudos de arqueia em ambientes de água doce ainda são pouco explorados. Neste estudo, foi analisado a densidade de arqueia em reservatório de água doce. Fan & Xing (2016) usando o métodos de PCR onde a comunidade de arqueia metanogênicas foram dominantes nos sedimentos de 0-3cm e de 3-6cm. Esse grupo arqueia e ainda é pouco explorado, um dos motivos é a dificuldade se cultivar em laboratório. Neste estudo, as metanobactérias apresentaram maior densidade a partir do 6cm de profundidade. As bactéria redutoras de sulfato apresentaram a mesma densidade para os ambientes de transição e barragem.

Proteobacteria é o grupo bacteriano mais conhecido (ZWART et al., 2002) sendo predominante em ecossistemas de água doce e em sedimentos de reservatórios e lagos (CHENG et al., 2014; SONG et al., 2012). Wobus, et al 2003, em seu artigo “Diversidade microbiana e caracterização funcional de sedimentos de reservatórios de diferentes estados tróficos” encontrou através da técnica de FISH uma maior abundância de betaproteobacteria nos sedimentos dos reservatórios eutróficos e uma diminuição na porcentagem de células ao longo do perfil de profundidade. Já as gamaproteobactérias foram mais frequentes nas amostras de sedimentos do reservatório oligotrófico. Wei, et al., (2016), identificou uma maior dominância dos grupos deltaproteobactérias (10,5 a 20,9 %), sendo a mais abundante, seguida por gamaproteobacteria (7,3 a 21,9 %) e betaproteobactérias em sedimentos de rio estuário na China. Neste estudo o mesmo ocorreu para os ambientes de rio e transição da UHE Funil. As proteobactérias (deltaproteobacteria, betaproteobacteria e gamaproteobacteria) foram as que apresentaram maiores abundâncias relativa nos três ambientes.

A UHE do Funil é um ambiente eutrófico rico em nutrientes na coluna d'água e seus sedimentos (RANGEL et al., 2012). Um trabalho anterior (CARDOSO et al., 2013) demonstrou uma maior concentração de matéria orgânica nos perfis de sedimento amostrados na região de transição (10 cm de profundidade), com valores médios de 15,30 %, seguidos da barragem, 2,35 %, na mesma profundidade (10 cm). Em nosso estudo, foi observado maiores valores de MO na barragem variando de 19,41% a 17,51%, diferente dos resultados encontrados nos estudos anteriores. No entanto, na área de transição a 10 cm de profundidade foi observado os mesmos valores médios de Cardoso, et al. (2013). Essa variação na presença de MO no ambiente de barragem pode ser explicada pela dinâmica do ambiente, uma vez que a tomada d'água pela turbina pode também escoar parte do sedimento para a jusante, região que não foi avaliada pelo nosso estudo. Valores semelhantes de MO também foram encontrados em sedimentos de reservatórios de regiões temperadas, como o reservatório Vaso

na Polônia Central, que apresenta um teor máximo de 16,6 % de matéria orgânica nos perfis de sedimento. (TROJANOWSKA & IZYDORCZYK, 2010).

Em nosso estudo as concentrações de NT e PT nos sedimentos foram elevadas. No entanto, as concentrações de NT foram bem altas quando comparadas com as de PT. De maneira geral, as maiores concentrações de NT e PT foram encontradas no ambiente de transição, seguido dos ambientes de rio e barragem. Em relação aos perfis de sedimento, concentrações mais elevadas de NT foram encontradas na superfície. Quanto as regiões de margem e meio, somente no ambiente de barragem houve uma menor concentração nos pontos de margem. Uma explicação para o ambiente e barragem apresentar menos NT e PT pode estar relacionado à vazão e escoamento desses nutrientes pela tomada d'água, ou mesmo pela alta produtividade primária pelas algas que podem ser também lavadas (processo chamado flushing em Inglês) e escoadas para a jusante, como foi também observado por Rangel e colaboradores (2012). O padrão de maior concentração de nitrogênio e fósforo nas camadas superficiais do sedimento, por sua vez, também já foi registrado para sedimentos de outros sistemas, como o Lago Taihu (FAN & XING, 2016).

Nós encontramos também uma elevada razão molar NT:PT, principalmente na área de barragem. Essa maior disponibilidade de NT em relação ao PT pode também comprometer a composição da comunidade microbiana, uma vez que esses elementos e suas razões estequiométricas são limitantes para o seu metabolismo em solos e sedimentos (SINSABAUGH et al, 2009) e podem influenciar as taxas de processamento de matéria orgânica (SCHIMEL & SCHAEFFER 2012). Razões NP:PT semelhantes (entre 15,8 e 387,5) foram também encontradas para o reservatório Rio Bonito (ARAÚJO, et al, 2018).

9 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que houve uma ampla cobertura dos grupos microbianos avaliados nos ambientes de rio, transição e barragem nos sedimentos da UHE Funil. Houve um padrão decrescente de cobertura nos perfis de profundidade para o rio e crescente para os ambientes de transição e barragem. Foram encontradas elevadas concentrações de MO, NT e PT e uma elevada razão NT:PT em todos os ambientes e profundidades. Essas informações fornecem evidências da importância da estrutura da comunidade microbiana em sedimentos de água doce e podem contribuir para melhorar a compreensão dos processos e funcionamento desses ecossistemas.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, D. R.; MENDONÇA, A. S. F.; DOS REIS, J. A. T. Variance analysis and comparison of trophic state indexes: Rio bonito and suíça power plants reservoirs. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, [s.l.], v. 23, n. 1, p. 55–62, 2018.
- BIER, R. L.; BERNHARDT, E. S.; BOOT, C. M.; GRAHAM, E. B; LENNON, J. T.; NEMERGUT, D. R.; OSBORNE, B. B; RUIZ-GONZÁLEZ, C.; SCHIMMEL, J. P.; WALDROP, M. P.; WALLENSTEIN, M. D. Linking microbial community structure and microbial processes: An empirical and conceptual overview. **FEMS Microbiology Ecology**, [s.l.], v. 91, n. 10, p. 1–11, 2015.
- BOTARI, B.; ERCOLINI, D.; GATTI, M.; NEVIANI, E. Application of FISH technology for microbiological. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s.l.], v.73, p.485-494, 2006. doi: 10.1007/s00253-006-0615-z.
- BURTON, G. Allen. Sediment quality criteria in use around the world. **Limnology**, [s.l.], v. 3, n. 2, p. 65–75, 2002.
- CARDOSO, S. J.; VIDAL, L. O.; MENDONÇA, R. F; TRANVIK, L. J.; SOBEK, S.; ROLAND, F. Spatial variation of sediment mineralization supports differential CO² emissions from a tropical hydroelectric reservoir. **Frontiers in Microbiology**, [s.l.], v. 4, n. April, p. 1–8, 2013.
- CARDOSO, S. J.; QUADRA, G. R.; RESENDE, N. S.; ROLAND, F. The role of sediments in the carbon and pollutant cycles in aquatic ecosystems. [s.l.], **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 31, p. 1–13, 2018.
- CARMOUZE, J. P. **O metabolismo dos ecossistemas aquáticos: fundamentos teóricos, métodos de estudo e análises químicas**. São Paulo: Edgard Blucher/FAPESP, 1994.
- CARVALHO, N. O.; FILIZOLA JÚNIOR, N. P.; SANTOS, P.M.C.; LIMA, J. E. F. W. Guia de avaliação de assoreamento de reservatórios. **ANEEL**, Brasília, DF, p.140, 2000.
- CARVALHO, K. D. C.; PARANHOS, R. Analysis of bacterial abundance in the study of microbial ecology of marine sediments. **Oecologia Australis**, [s.l.], v. 14, n. 2, p.415-436, 2010.
- CHENG, W.; ZHANG, J.; WANG, Z.; WANG, M.; XIE, S. Bacterial communities in sediments of a drinking water reservoir. **Annals of Microbiology**, [s.l.] v. 64, n. 2, p. 875–878, 2014.
- CIFUENTES, A. ANTÓN, J.; BENLLOCH, S.; DONNELLY, A.; HERBERT, R. A.; RODRÍGUEZ-VALERA, F. Prokaryotic diversity in *Zostera noltii*-colonized marine sediments. **Applied and Environmental Microbiology**, [s.l.] v. 66, n. 4, p. 1715–1719, 2000.
- CRAPEZ, M. A. C.; BORGES, A. L. N.; BISPO, M. G. S.; PEREIRA E. D. C. Biorremediação: tratamento para derrames de petróleo. **Ciência hoje**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 179, p. 32-37, 2002.

CROCETTI, G.; MURTO, M.; BJÖRNSSON, L. An update and optimisation of oligonucleotide probes targeting methanogenic Archaea for use in fluorescence in situ hybridisation (FISH). **Journal of Microbiological Methods**, [s.l.] v. 65, n. 1, p. 194–201, 2006.

COTTRELL, M.; KIRCHMAN, D. Contribution of major bacterial groups to bacterial biomass production (thymidine and leucine incorporation) in the Delaware estuary. **Limnology and Oceanography**, [s.l.], v. 48, p.168–178, 2003.

FAN, X.; XING, P. The Vertical Distribution of Sediment Archaeal Community in the “Black Bloom” Disturbing Zhushan Bay of Lake Taihu. **Archaea**, [s.l.], v. 2016, p.1–8, 2016.

FERRÃO-FILHO, A. S.; SOARES, M. C.; ROCHA, M. I. A.; MAGALHÃES, V. F.; OLIVEIRA & AZEVEDO, S. M. F. Florações de Cianobactérias tóxicas no Reservatório do Funil : dinâmica sazonal e consequências para o zooplâncton. **Oecologia Brasiliensia**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 2, p. 346–365, 2009.

FENCHEL, T.; KING, G.; BLACKBURN. **Bacterial biogeochemistry: the ecophysiology of mineral cycling**. 3rd Edition. Ed. Academic Press. London, 312p, 2012

FORSBERG, C. Importance of sediments in understanding nutrient cycling in lakes. **Hydrobiologia**. [s.l.], v. 176/177, p. 263-277, 1989.

GILLAN, D. C.; DANIS, B.; PERNET, P.; JOLY, G.; DUBOIS, P. Structure of sediment-associated microbial communities along a heavy-metal contamination gradient in the marine environment. **Applied and Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 71, n. 2, p. 679–690, 2005.

GOULART, M.; CALLISTO, M. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. **Revista da FAPAM**, [s.l.], v. 2, n. 1, 2003.

HOEHLER, T. M. & ALPERIN, M. J. in *Microbial Growth on C1 Compounds* (eds. Lidstrom, M. E. & Tabita, F. R.) 326–333 (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, (1996).

HOSHINO, T.; INAGAKI, F. Abundance and distribution of Archaea in the subseafloor sedimentary biosphere. **ISME Journal**, [s.l.], v. 13, n. 1, p. 227–231, 2019.

HUPFER, M.; GÄCHTER, R.; GIOVANOLI, R. Transformation of phosphorus species in settling seston and during early sediment diagenesis. **Aquatic Sciences**, [s.l.], v. 57, n. 4, p. 305–324, 1995.

JONES, Stuart E.; LENNON, Jay T. Dormancy contributes to the maintenance of microbial diversity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s.l.], v. 107, n. 13, p. 5881–5886, 2010.

LAVOREL, S.; MCINTYRE, S.; LANDSBERG, J.; FORBES, T. D. A. Plant functional classifications: from general groups to specific groups based on response to disturbance. **Trends in Ecology and Evolution**, [s.l.], v. 12, p. 474-478, 1997.

- LIN, X.; WAKEHAM, S. G.; PUTNAM, I. F.; ASTOR, Y. M.; CHISTOSERDOV, S. A. Y.; TAYLOR, G. T. Comparison of vertical distributions of prokaryotic assemblages in the anoxic Cariaco basin and black sea by use of fluorescence in situ hybridization. **Applied and Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 72, n. 4, p. 2679–2690, 2006.
- LOY, A.; MAIXNER, F.; WAGNER, M.; HORN, M. probeBase - An online resource for rRNA-targeted oligonucleotide probes: New features 2007. **Nucleic Acids Research**, [s.l.], v. 35, n. SUPPL. 1, p. 800–804, 2007.
- MANZ, W.; AMANN, R.; LUDWIG, W.; WAGNER, M.; SCHLEIFER, H. Phylogenetic Oligodeoxynucleotide Probes for the Major Subclasses of Proteobacteria: Problems and Solutions. **Systematic and Applied Microbiology**, [s.l.], v. 15, n. 4, p. 593–600, 1992.
- MEDEIROS, J. D.; CANTÃO, M. E.; CESAR, D. E.; NICOLÁS, M. F.; DINIZ, C. G.; SILVA, V. L.; VASCONCELOS, A. T. R.; COELHO, C. M. Comparative metagenome of a stream impacted by the urbanization phenomenon. **Brazilian Journal of Microbiology**, [s.l.], v. 47, n. 4, p. 835–845, 2016.
- MEGONIGAL, J.P., HINE, M.E., VISSCHER, P.T. Anaerobic Metabolism: Linkages to Trace Gases and Aerobic Processes (317 – 392). **In Biogeochemistry**. Editor. Schlesinger, W. Ed. Elsevier. 8, 702p. 2005
- NEMERGUT, D.; SHADE, A.; VIOLLE, C. When, where and how does microbial community composition matter? **Frontiers in Microbiology**, [s.l.], v. 5, n. SEP, p. 2012–2014, 2014.
- OLSON, Robert J et al. Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 56, n. 6, p. 1919–1925, 1990. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=184531&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>.
- REEBURGH, W. S. in *Microbial Growth on C1 Compounds* (eds. Lidstrom, M. E. & Tabita, F. R.) 334–342 (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, (1996).
- ROCHA, J. C; ROSA, A, H; CARDOSO, A, A. **Introdução à Química Ambiental**. Ano: 2011 Editora: Bookman. ISBN 9788560031337
- PALMER, Margaret A. Ecosystem Biodiversity and in Freshwater Sediments. **Ambio**, [s.l.], v. 26, n. 8, p. 571–577, 1997.
- PROSSER, J. I; BRENDAN J. M; BOHANNAN, T. P; CURTIS, R. J; ELLIS, M. K; FIRESTONE, R. P; FRECKLETON, J. L; GREEN, L. E; GREEN, K. K.; JACK J.; LENNON, A. M O; MARTIN SOLAN, C. J.; VAN DER G; J; PETER W. Y. Bacteria and Archaea have an essential role in earth system processes. **Nature**, [s.l.], v. 5, n. May, p. 384–392, 2007.
- RANGEL, L.M.; SILVA, L. H. S.; ROSA, P.; ROLAND, F.; HUSZAR, V. L. M. Phytoplankton biomass is mainly controlled by hydrology and phosphorus concentrations in tropical hydroelectric reservoirs. **Hydrobiologia**, [s.l.], v. 693, n. 1, p. 13–28, 2012.

RASKIN, L.; STROMLEY, J. M.; RITTMANN, B. E.; STAHL, D. A. Group-specific 16S rRNA hybridization probes to describe natural communities of methanogens. **Applied and Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 60, n. 4, p. 1232–1240, 1994.

SCHIMEL, J. P.; SCHAEFFER, S. M. Microbial control over carbon cycling in soil. **Frontiers in Microbiology**, [s.l.], v. 3, n. SEP, p. 1–11, 2012.

SHERR, E B; SHERR, B F. **Microbial activity in aquatic systems from cell to biosphere**. 1999.

SINSABAUGH, R. L.; HILL, B. H.; FOLLSTAD, S, J. J. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment. **Nature**, [s.l.], v. 462, n. 7274, p. 795–798, 2009.

SONG, H.; Du, Z. L. B.; WANG, G.; DING, Y. Bacterial communities in sediments of the shallow Lake Dongping in China. **Journal of Applied Microbiology**, [s.l.], v. 112, n. 1, p. 79–89, 2012.

SOUZA JR, D. I. A degradação da bacia do rio Paraíba do Sul. **Engevista**, Rio de Janeiro, v. 6, n. 3, p. 99–105, 2004.

TAKAI, K.; CAMPBELL, B. J.; CARY, S. C.; OIDA, M. S. H.; NUNOURA, T.; HIRAYAMA, H.; NAKAGAWA, S.; SUZUKI, Y.; INAGAKI, F.; HORIKOSHI, K. Enzymatic and genetic characterization of carbon and energy metabolisms by deep-sea hydrothermal chemolithoautotrophic isolates of Epsilonproteobacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 71, n. 11, p. 7310–7320, 2005.

THOMPSON, L. R.; SANDERS, J.; MCDONALD, D. et al. A communal catalogue reveals Earth's multiscale microbial diversity. **Nature**, [s.l.], v. 551, n. 7681, p. 457–463, 2017.

TROJANOWSKA, A. A.; IZYDORCZYK, K. Phosphorus fractions transformation in sediments before and after Cyanobacterial bloom: Implications for reduction of eutrophication symptoms in dam reservoir. **Water, Air, and Soil Pollution**, [s.l.], v. 211, n. 1–4, p. 287–298, 2010.

WEI, G; MINGCONG, L.; FENGE, L.; HAN, L.; GAO, Z. Distinct distribution patterns of prokaryotes between sediment and water in the Yellow River estuary. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s.l.], v. 100, n. 22, p. 9683–9697, 2016.

WOBUS, A.; BLEUL, C.; MAASSEN, S.; SCHEERER, C.; SCHUPPLER, M.; JACOBS, E.; RÖSKE, I. Microbial diversity and functional characterization of sediments from reservoirs of different trophic state. **FEMS Microbiology Ecology**, [s.l.], v. 46, n. 3, p. 331–347, 2003.

YANG, J.; JIANG, H.; WU, G.; LIU, W.; ZHANG, G. Distinct factors shape aquatic and sedimentary microbial community structures in the lakes of Western China. **Frontiers in Microbiology**, [s.l.], v. 7, n. NOV, p. 1–8, 2016.

ZAGHDEN, H.; KALLEL, M.; ELLEUCH, B.; SALIOT, A. Sources and distribution of aliphatic and polyaromatic hydrocarbons in sediments of Sfax, Tunisia, Mediterranean Sea. **Marine Chemistry**, [s.l.] v. 105, n. 1, p. 70–89, 2007.

XU ZHANG, X.; GU, Q.; LONG, X. E.; LI, Z. L.; LIU, D. X.; YE, D. H.; HE, C. Q.; LIU, X. Y.; VÄÄNÄNEN, K.; CHEN, X. P. Anthropogenic activities drive the microbial community and its function in urban river sediment. **Journal of Soils and Sediments**, [s.l.], v. 16, n. 2, p. 716–725, 2016.

ZWART, G.; CRUMP, B. C.; AGTERVELD, M. P. K.; HAGEN, F.; HAN, S. K. Typical freshwater bacteria: An analysis of available 16S rRNA gene sequences from plankton of lakes and rivers. **Aquatic Microbial Ecology**, [s.l.], v. 28, n. 2, p. 141–155, 2002.

APÊNDICE A – Resultados das análises estatísticas realizadas para testar o efeito dos ambientes (rio, transição e barragem) das profundidades (2 cm, 4 cm, 6 cm, 8 cm, 10 cm) e das regiões (margem e meio) na UHE Funil. Siglas representam: MO = Matéria Orgânica; GL = Grau de liberdade; NT = Nitrogênio Total; PT = Fósforo Total

Tratamento	Teste	Estatística do teste	P	Teste Post-Hoc	Tratamentos	Estatística do teste	P
MO por ambientes	one-way Anova	F = 587,966	0,001	Holm-Sidak	barragem vs rio transição vs rio barragem vs transição	t = 32,717 t = 25,255 t = 7,462	p < 0,001 p < 0,001 p < 0,001
NT por ambientes	Kruskal-Wallis	H = 2,176, GL = 2	0,337				
NT - efeito profundidade ambiente rio	one-way Anova	F = 5,067	0,009	Holm-Sidak	4 vs 10 cm 6 vs 10 cm	t = 3,352 t = 4,186	0,039 0,008
NT - efeito profundidade ambiente transição	Kruskal-Wallis	H = 4,557, GL = 4	0,336				
NT - efeito profundidade ambiente barragem	Kruskal-Wallis	H = 3,243, GL = 4	0,518				
NT - efeito margem e meio ambiente rio	Mann-Whitney	U = 30,000	0,140				
NT - efeito margem e meio ambiente transição	Mann-Whitney	U = 28,000	0,104				
NT - efeito margem e meio ambiente barragem	Mann-Whitney	U = 21,000	0,031				
NT - efeito meio ambientes rio, transição e barragem	Kruskal-Wallis	H = 1,401, GL = 2	0,496				
NT - efeito margem ambientes rio, transição e barragem	one-way Anova	F = 2,266	0,123				
PT por ambientes	one-way Anova	F = 12,216	0,001	Holm-Sidak	rio vs barragem transição vs barragem	t = 4,363 t = 4,193	p < 0,05 p < 0,05
PT - efeito profundidade ambiente rio	Kruskal-Wallis	H = 1,971, GL = 4	0,741				
PT - efeito profundidade ambiente transição	Kruskal-Wallis	H = 0,743, GL = 4	0,946				
PT - efeito profundidade ambiente barragem	Kruskal-Wallis	H = 0,414, GL = 4	0,981				
PT - efeito margem e meio ambiente rio	Mann-Whitney	U = 33,000	0,212				
PT - efeito margem e meio ambiente transição	Mann-Whitney	U = 22,000	0,026				
PT - efeito margem e meio ambiente barragem	Mann-Whitney	U = 20,000	0,001				
PT - efeito meio ambientes rio, transição e barragem	Kruskal-Wallis	H = 7,226, GL = 2	0,027	Tukey	transição vs barragem	q = 3,592	p < 0,05
PT - efeito margem ambiente rio, transição e barragem	Kruskal-Wallis	H = 20,604, GL = 2	0,001	Tukey	rio vs barragem transição vs barragem	q = 6,178 q = 4,598	p < 0,05 p < 0,05

Continuação apêndice A

Tratamento	Teste	Estatística do teste	P	Teste Post-Hoc	Tratamentos	Estatística do teste	P
Razão NT:PT por ambientes	Kruskal-Wallis	H = 19,555, GL = 2	0,001	Tukey	barragem vs rio barragem vs transição	q = 5,429 q = 5,403	p < 0,05 p < 0,05
Razão NT:PT - efeito profundidade ambiente rio	Kruskal-Wallis	H = 3,600, GL = 4	0,463				
Razão NT:PT - efeito profundidade ambiente transição	Kruskal-Wallis	H = 3,929, GL = 4	0,416				
Razão NT:PT - efeito profundidade ambiente barragem	Kruskal-Wallis	H = 0,686, GL = 4	0,953				
Razão NT:PT - efeito margem e meio ambiente rio	Mann-Whitney	U = 27,000	0,089				
Razão NT:PT - efeito margem e meio ambiente transição	Mann-Whitney	U = 38,000	0,385				
Razão NT:PT - efeito margem e meio ambiente barragem	Mann-Whitney	U = 5,000	0,001				
Razão NT:PT - efeito meio ambientes rio, transição e barragem	Kruskal-Wallis	H = 3,486, GL = 2	0,175				
Razão NT:PT - efeito margem ambiente rio, transição e barragem	Kruskal-Wallis	H = 20,163 GL = 2	0,001	Tukey	barragem vs rio barragem vs transição	q = 6,107 q = 4,562	p < 0,05 p < 0,05
densidade de procariotos por ambientes	Kruskal-Wallis	H = 11,574 GL = 2	0,003	Tukey	rio vs barragem	q = 4,804	p < 0,05
densidade de procariotos - efeito profundidade ambiente rio	Kruskal-Wallis	H = 2,592, GL = 4	0,628				
densidade de procariotos - efeito profundidade ambiente transição	Kruskal-Wallis	H = 6,285, GL = 4	0,179				
densidade de procariotos - efeito profundidade ambiente barragem	Kruskal-Wallis	H = 12,927, GL = 4	0,012	Tukey	2 vs 10 cm	q = 4,679	p < 0,05
densidade de procariotos - efeito margem e meio ambiente rio	teste-t	t = 1,397, GL = 23	0,176				
densidade de procariotos - efeito margem e meio ambiente transição	teste-t	t = 0,146, GL = 23	0,885				
densidade de procariotos - efeito margem e meio ambiente barragem	Mann-Whitney	U = 64,000	0,560				
densidade de procariotos - efeito meio ambientes rio, transição e barragem	one-way Anova	F = 2,706	0,078				
densidade de procariotos - efeito margem ambientes rio, transição e barragem	Kruskal-Wallis	H = 5,701, GL = 2	0,058				
densidade de procariotos total - ambiente rio, transição e barragem	Kruskal-Wallis	H = 11,574, GL = 2	0,003	Tukey	rio vs barragem	q = 4,804	p < 0,05

Continuação apêndice A

Tratamento	Teste	Estatística do teste	P	Teste Post-Hoc	Tratamentos	Estatística do teste	P
densidade de arqueia (ARC915) por ambientes	Kruskal-Wallis	H = 15,395, GL = 2	0,001	Tukey	rio vs transição barragem vs transição	q = 5,497 q = 3,382	p < 0,05 p < 0,05
densidade de arqueia (ARC915) - efeito profundidade ambiente rio	Kruskal-Wallis	H = 4,210, GL = 4	0,378				
densidade de arqueia (ARC915) - efeito profundidade ambiente transição	Kruskal-Wallis	H = 6,968, GL = 4	0,138				
densidade de arqueia (ARC915) - efeito profundidade ambiente barragem	one-way Anova	F = 4,735	0,007	Holm-Sidak	2 vs 8 cm 2 vs 10 cm	t = 3,142 t = 4,118	0,045 0,005
densidade de arqueia (ARC915) - efeito margem e meio ambiente rio	Mann-Whitney	U = 72,000	0,889				
densidade de arqueia (ARC915) - efeito margem e meio ambiente transição	teste-t	t = -2,249, GL = 23	0,034				
densidade de arqueia (ARC915) - efeito margem e meio ambiente barragem	Mann-Whitney	U = 36,500	0,035				
densidade de arqueia (ARC915) - efeito meio ambientes rio, transição e barragem	Kruskal-Wallis	H = 6,857, GL = 2	0,032	Tukey	rio vs transição	q = 3,440	p < 0,05
densidade de arqueia (ARC915) - efeito margem ambientes rio, transição e barragem	Kruskal-Wallis	H = 12,132, GL = 2	0,002	Tukey	rio vs transição	q = 4,903	p < 0,05
densidade de arqueia metanogênica (MB311) por ambientes	Kruskal-Wallis	H = 4,521, GL = 2	0,104				
densidade de arqueia metanogênica (MB311) - efeito profundidade ambiente rio	Kruskal-Wallis	H = 0,638, GL = 4	0,959				
densidade de arqueia metanogênica (MB311) - efeito profundidade ambiente transição	one-way Anova	F = 0,274	0,891				
densidade de arqueia metanogênica (MB311) - efeito profundidade ambiente barragem	one-way Anova	F = 1,278	0,312				
densidade de arqueia metanogênica (MB311) - efeito margem e meio ambiente rio	Mann-Whitney	U = 38,500	0,045				
densidade de arqueia metanogênica (MB311) - efeito margem e meio ambiente transição	teste t	t = -0,841, GL = 23	0,409				
densidade de arqueia metanogênica (MB311) - efeito margem e meio ambiente barragem	Mann-Whitney	U = 58,500	0,374				

Continuação apêndice A

Tratamento	Teste	Estatística do teste	P	Teste Post-Hoc	Tratamentos	Estatística do teste	P
densidade de arqueia metanogênica (MB311) - efeito meio ambientes rio, transição e barragem	Kruskal-Wallis	H = 3,874, GL = 2	0,144				
densidade de arqueia metanogênica (MB311) - efeito margem ambientes rio, transição e barragem	Kruskal-Wallis	H = 2,008, GL = 2	0,366				
densidade de arqueia metanogênica (MSMX860) por ambientes	Kruskal-Wallis	H = 7,119, GL = 2	0,028	Tukey	barragem vs transição	q = 3,721	p < 0,05
densidade de arqueia metanogênica (MSMX860) - efeito profundidade ambiente rio	Kruskal-Wallis	H = 0,268, GL = 4	0,992				
densidade de arqueia metanogênica (MSMX860) - efeito profundidade ambiente transição	one-way Anova	F = 0,460	0,764				
densidade de arqueia metanogênica (MSMX860) - efeito profundidade ambiente barragem	Kruskal-Wallis	H = 4,887, GL = 4	0,299				
densidade de arqueia metanogênica (MSMX860) - efeito margem e meio ambiente rio	Mann-Whitney	U = 68,000	0,718				
densidade de arqueia metanogênica (MSMX860) - efeito margem e meio ambiente transição	teste t	t = -0,226, GL = 23	0,823				
densidade de arqueia metanogênica (MSMX860) - efeito margem e meio ambiente barragem	teste t	t = -1,855, GL = 23	0,076				
densidade de arqueia metanogênica (MSMX860) - efeito meio ambientes rio, transição e barragem	Kruskal-Wallis	H = 7,070, GL = 2	0,029	Tukey	barragem vs transição	q = 3,735	p < 0,05
densidade de arqueia metanogênica (MSMX860) - efeito margem ambientes rio, transição e barragem	Kruskal-Wallis	H = 0,257, GL = 2	0,880				
densidade de desulfovibrionales (SRB385) por ambientes	Kruskal-Wallis	H = 0,570, GL = 2	0,752				
densidade de desulfovibrionales (SRB385) - efeito profundidade ambiente rio	one-way Anova	F = 0,690	0,607				
densidade de desulfovibrionales (SRB385) - efeito profundidade ambiente transição	Kruskal-Wallis	H = 5,881, GL = 4	0,208				
densidade de desulfovibrionales (SRB385) - efeito profundidade ambiente barragem	one-way Anova	F = 0,739	0,576				

Continuação apêndice A

Tratamento	Teste	Estatística do teste	P	Teste Post-Hoc	Tratamentos	Estatística do teste	P
densidade de desulfovibriónales (SRB385) - efeito margem e meio ambiente rio	teste t	t = -3,064, GL = 23	0,005				
densidade de desulfovibriónales (SRB385) - efeito margem e meio ambiente transição	Mann-Whitney	U = 73,000	0,934				
densidade de desulfovibriónales (SRB385) - efeito margem e meio ambiente barragem	teste t	t = -1,845, GL = 23	0,078				
densidade de desulfovibriónales (SRB385) - efeito meio ambientes rio, transição e barragem	Kruskal-Wallis	H = 1,208, GL = 2	0,547				
densidade de desulfovibriónales (SRB385) - efeito margem ambientes rio, transição e barragem	Kruskal-Wallis	H = 2,860, GL = 2	0,239				
densidade de deltaproteobacteria (DELTA495a) por ambientes	Kruskal-Wallis	H = 1,527, GL = 2	0,466				
densidade de deltaproteobacteria (DELTA495a) - efeito profundidade ambiente rio	one-way Anova	F = 3,358	0,029	Holm-Sidak	2 vs 10 cm	t = 3,119	0,048
densidade de deltaproteobacteria (DELTA495a) - efeito profundidade ambiente transição	Kruskal-Wallis	H = 9,776, GL = 4	0,044	Tukey	2 vs 8 cm	q = 4,07	p < 0,05
densidade de deltaproteobacteria (DELTA495a) - efeito profundidade ambiente barragem	one-way Anova	F = 0,562	0,693				
densidade de deltaproteobacteria (DELTA495a) - efeito margem e meio ambiente rio	Mann-Whitney	U = 33,000	0,021				
densidade de deltaproteobacteria (DELTA495a) - efeito margem e meio ambiente transição	Mann-Whitney	U = 38,000	0,043				
densidade de deltaproteobacteria (DELTA495a) - efeito margem e meio ambiente barragem	teste t	t = -0,0961, GL = 23	0,924				
densidade de deltaproteobacteria (DELTA495a) - efeito meio ambientes rio, transição e barragem	Kruskal-Wallis	H = 4,500, GL = 2	0,105				
densidade de deltaproteobacteria (DELTA495a) - efeito margem ambientes rio, transição e barragem	Kruskal-Wallis	H = 1,410, GL = 2	0,494				

Continuação apêndice A

Tratamento	Teste	Estatística do teste	P	Teste Post-Hoc	Tratamentos	Estatística do teste	P
densidade de betaproteobacteria (BET42a) por ambientes	Kruskal-Wallis	H = 0,292, GL = 2	0,864				
densidade de betaproteobacteria (BET42a) - efeito profundidade ambiente rio	Kruskal-Wallis	H = 6,189, GL = 4	0,185				
densidade de betaproteobacteria (BET42a) - efeito profundidade ambiente transição	one-way Anova	F = 0,1978	0,137				
densidade de betaproteobacteria (BET42a) - efeito profundidade ambiente barragem	one-way Anova	F = 3,014	0,043				
densidade de betaproteobacteria (BET42a) - efeito margem e meio ambiente rio	Mann-Whitney	U = 30,000	0,013				
densidade de betaproteobacteria (BET42a) - efeito margem e meio ambiente transição	Mann-Whitney	U = 71,000	0,846				
densidade de betaproteobacteria (BET42a) - efeito margem e meio ambiente barragem	Mann-Whitney	U = 43,500	0,085				
densidade de betaproteobacteria (BET42a) - efeito meio ambientes rio, transição e barragem	Kruskal-Wallis	H = 3,727, GL = 2	0,155				
densidade de betaproteobacteria (BET42a) - efeito margem ambientes rio, transição e barragem	Kruskal-Wallis	H = 2,990, GL = 2	0,224				
densidade de gamaproteobacteria (GAM42a) por ambientes	Kruskal-Wallis	H = 0,636, GL = 2	0,728				
densidade de gamaproteobacteria (GAM42a) - efeito profundidade ambiente rio	Kruskal-Wallis	H = 6,883, GL = 4	0,142				
densidade de gamaproteobacteria (GAM42a) - efeito profundidade ambiente transição	one-way Anova	F = 5,347	0,004	Holm-Sidak	2 vs 6 cm	t = 4,031	0,007
					2 vs 8 cm	t = 3,451	0,020
					2 vs 10 cm	t = 3,52	0,019

Continuação apêndice A

Tratamento	Teste	Estatística do teste	P	Teste Post-Hoc	Tratamentos	Estatística do teste
densidade de gamaproteobacteria (GAM42a) - efeito profundidade ambiente barragem	one-way Anova	F = 1,544	0,228			
densidade de gamaproteobacteria (GAM42a) - efeito margem e meio ambiente rio	teste t	t = -2,021, GL = 23	0,055			
densidade de gamaproteobacteria (GAM42a) - efeito margem e meio ambiente transição	Mann-Whitney	U = 75,000	1,000			
densidade de gamaproteobacteria (GAM42a) - efeito margem e meio ambiente barragem	Mann-Whitney	U = 42,000	0,071			
densidade de gamaproteobacteria (GAM42a) - efeito meio ambientes rio, transição e barragem	one-way Anova	F = 1,804	0,177			
densidade de gamaproteobacteria (GAM42a) - efeito margem ambientes rio, transição e barragem	Kruskal-Wallis	H = 1,067, GL = 2	0,586			

Fonte: Elaborado pela autora (2020).

ANEXO A - Protocolo para tratamento de amostra

1. Colocar 0,5 g da amostra em frasco tipo falcon® e adicionar 1 ml de paraformoldeído 2% (PFA);
2. Resfriar a amostra a 4° C por 24 horas;
3. Adicionar 10 ml de água ultrapura no falcon®;
4. Sonicar a amostra, com tubo imerso no gelo, a amplitude de 90% (correspondente a um comprimento de onda de 110,7 μm) por três vezes com duração de 60 segundos com intervalo de 60 segundos entre cada sonicação;
5. Depois de sonicadas a amostra deve ser homogeneizada em Vortex;
6. Centrifugar a amostra a 500 g por 5 minutos, coletar e separar o sobrenadante (não descartar o material restante);
7. Adicionar 5 ml de água ultrapura e repetida o passo 6 mais duas vezes;
8. Juntar as três frações de sobrenadante em um frasco tipo falcon® etiquetados
9. Filtrar com o lado brilhante de filtro para cima o volume apropriado com filtro de policarbonato 15 mm de 0,2 μm ;
10. Cortar o filtro em pedaço menores;
11. Estocar os filtros na geladeira.

**Anexo B: Protocolo adaptado do LEBIOMM (COTTRELL & KIRCHMAN, 2000), para
Hibridização in situ fluorescente (FISH)**

1. Preparar frasco tipo falcon® de 50 ml para a câmara de hibridização. Coloque um pedaço de lenço de papel retorcido no fundo do frasco e sature com 1 ml de solução tampão de hibridização (NaCl 0.9 M; Tris-HCl 20 mM pH 7.2; EDTA 5 mM; SDS 0.01%; formamida). Obs.: a concentração de formamida varia de acordo com o tipo de sonda;
2. Colocar parafilme na lâmina. Marcar a área do parafilme para diferentes amostras;
3. Preparar a solução de sonda, usar uma concentração de sonda final de 2,5 ng/µl.
4. Colocar 30 µl da sonda 2,5 ng/µl no parafilme e coloque o pedaço do filtro.
5. Colocar a lâmina no frasco que foi preparado na etapa 1. Feche-o e incube por uma noite a 42°C em estufa
6. Após a incubação transfira o pedaço do filtro para uma placa de acrílico contendo 1 ml da solução de lavagem (Tris-HCl 20 mM pH 7.2; EDTA 10 mM; SDS 0.01%; NaCl) Obs.:a concentração de NaCl varia de acordo com o tipo de sonda;
7. .Esquentar a 48°C em banho Maria por 15 minutos;
8. Movimentar o pedaço de filtro dentro da solução de lavagem aquecida;
9. Colocar 500 µl de 2 µg/ml de DAPI em uma placa de acrílico para cada pedaço do filtro
10. Movimentar o pedaço de filtro na solução de DAPI
11. Corar por 3 minutos
12. Passar cada pedaço de filtro 3 vezes em etanol 80%
13. Secar em papel Whatman
14. Montar a lâmina com o pedaço de filtro já hibridizado com uma mistura de glicerol PBS (7:5) com Vectashield (4:1) e finalize a montagem da lâmina.

Anexo C: Protocolo adaptado para a determinação de nitrogênio total e fósforo total no sedimento (HUPFER; GÄCHTER; GIOVANOLI, 1995).

1. Secar o sedimento a 60° C;
2. Preparar o reagente de oxidação (RO); (Dissolva 50 g de peroxidissulfato de potássio (p.a) e 30g de ácido bórico (p.a.) em 350 ml de NaOH (hidróxido de sódio) 1M (14g em 350 ml) e completar para 1 litro com água destilada. O RO deve ser armazenado em recipiente plástico e escuro (âmbar ou coberto com folha de alumínio) em temperatura ambiente);
3. Pesar 0,01 g do sedimentos já seco;
4. Colocar em frasco de vidro que resista a alta temperatura;
5. Adicionar 13 ml de água destilada e 1,73 ml do reagente de RO feito no etapa 2;
6. Homegenizar bem as amostras;
7. Digerir em autoclave a 120° C por 1 hora;
8. Deixar esfriar em temperatura ambiente;
9. Após a digestão, retirar 10 ml da solução do frasco de vidro e colocar em frasco tipo falcon®. Tomar bastante cuidado para não resuspender o sedimento do fundo;
10. A concentração de NT e PT é determinada pelo método de colorométrico;
11. Nos 10 ml da solução digerida é adicionado 1 ml de reagente misto para a determinação do PT
12. Na amostra de NT é adicionado 0,2 ml de ácido sulfúrico (H₂SO₄)
13. Levar as amostras para a leitura em espectrofotômetria; PT 885 nm e NT 210 nm.

Obs: Para descontar das amostras a quantidade de N e P presente nos reagentes, na água e na vidraria é aconselhável que se execute uma bateria de brancos e brancos de reagente.

Branco de reagente: 13 ml de água destilada + 1,73 ml de RO.

Branco: 13 ml de água destilada.

Proceda a digestão e análise normalmente. Depois desconte o valor encontrado do valor da concentração final.