



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PORTO NACIONAL
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**RECUPERAÇÃO DE GENOMAS BACTERIANOS PROVENIENTES DE
SEDIMENTOS DO LAGO FLORENCIA, ILHA JAMES ROSS, ANTÁRTICA**

PORTO NACIONAL, TO

2025

KÁRITA CRISTINE RODRIGUES DOS SANTOS

**RECUPERAÇÃO DE GENOMAS BACTERIANOS PROVENIENTES DE
SEDIMENTOS DO LAGO FLORENCIA, ILHA JAMES ROSS, ANTÁRTICA**

Artigo apresentado à Universidade Federal do Tocantins (UFT), *campus* universitário de Porto Nacional, para obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas

Orientador: Prof. Dr. Fabyano Alvares Cardoso Lopes

PORTO NACIONAL, TO

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

S237r Santos, Kárita Cristine Rodrigues.
Recuperação de Genomas Bacterianos Provenientes de Sedimentos do
Lago Florencia, Ilha James Ross, Antártica. / Kárita Cristine Rodrigues
Santos. – Porto Nacional, TO, 2025.
37 f.
Artigo de Graduação - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus
Universitário de Porto Nacional - Curso de Ciências Biológicas, 2025.
Orientador: Fabyano Alvares Cardoso Lopes
1. Adaptação ao Frio. 2. Diversidade Microbiana. 3. Metagenômica
shotgun. 4. Potencial Biotecnológico. I. Título

CDD 570

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer
forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte.
A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184
do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da
UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

KÁRITA CRISTINE RODRIGUES DOS SANTOS

**RECUPERAÇÃO DE GENOMAS BACTERIANOS PROVENIENTES DE
SEDIMENTOS DO LAGO FLORENCIA, ILHA JAMES ROSS, ANTÁRTICA**

Artigo apresentado à Universidade Federal do Tocantins (UFT) - *campus* universitário de Porto Nacional, curso de Ciências Biológicas, foi avaliado para a obtenção do título de bacharel e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Orientador: Prof. Dr. Fabyano Alvares Cardoso Lopes

Data de Aprovação ____/____/____

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Fabyano Alvares Cardoso Lopes, UFT

Profa. Dra. Dayane Juliate Barros, UFT

Prof. Dr. Ronaldo Rodrigues Coimbra, UFT

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

MAGs - *Metagenome-Assembled Genomes* (Genomas Montados a partir de Metagenomas)

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

NGS - *Next-Generation Sequencing* (Sequenciamento de Nova Geração)

rRNA - Ácido Ribossômico Ribonucleico

tRNA - Ácido Ribossômico de Transferência

tmRNA - Ácido Ribossômico de Transferência de Mensagem

COG - *Cluster of Orthologous Genes* (Grupo de Genes Ortólogos)

KEGG - *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (Enciclopédia de Genes e Genomas de Kyoto)

GTDB - *Genome Taxonomy Database* (Base de Dados de Taxonomia de Genomas)

SRA - *Sequence Read Archive* (Arquivo de Leituras de Sequência)

NCBI - *National Center for Biotechnology Information* (Centro Nacional de Informação sobre Biotecnologia)

CDS - *Coding Sequences* (Sequências Codificantes)

GC% - Conteúdo de Guanina e Citosina

N50 - Comprimento mínimo do maior *contig* necessário para cobrir pelo menos 50% do genoma total

UV - Ultravioleta

PHAs - Polihidroxialcanoatos

BGCs - *Biosynthetic Gene Clusters* (Clusters de Genes Biossintéticos)

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo analisar e caracterizar genomas bacterianos recuperados a partir de metagenomas (MAGs) em sedimentos do Lago Florencia, localizado na Ilha James Ross, Antártica. A pesquisa buscou compreender a diversidade microbiana e suas funções ecológicas em um ambiente extremo, marcado por temperaturas congelantes, radiação ultravioleta intensa e escassez de nutrientes. Foram recuperados 21 MAGs, classificados principalmente nos filos Actinomycetota, Pseudomonadota e Acidobacteriota, com destaque para as classes Gammaproteobacteria, Limocyklinira e Acidimicrobiia. As análises funcionais dos MAGs revelaram a presença de genes relacionados à adaptação ao frio, metabolismo energético e biossíntese de metabólitos secundários, indicando estratégias de sobrevivência em condições extremas. A presença de genes envolvidos na produção de proteínas anticongelantes, crioprotetores e exopolissacarídeos sugere que essas bactérias desenvolveram mecanismos específicos para lidar com o estresse ambiental. Além disso, a diversidade taxonômica observada corrobora com estudos anteriores, que identificaram a predominância de Proteobactérias, Actinobactérias e Bacteroidetes em ambientes antárticos. O estudo também destacou o potencial biotecnológico dos micro-organismos antárticos, especialmente para a produção de compostos bioativos e enzimas adaptadas ao frio, com aplicações em diversas áreas, como a indústria farmacêutica e a biorremediação. A técnica de recuperação de MAGs mostrou-se essencial para desvendar a diversidade microbiana em ambientes extremos, onde a maioria dos micro-organismos não pode ser cultivada em laboratório. Em conclusão, a pesquisa contribuiu para o entendimento da biodiversidade microbiana antártica e reforçou a importância dessas comunidades na manutenção dos ecossistemas polares, além de destacar a necessidade de mais estudos para monitorar os impactos das mudanças climáticas sobre a microbiota polar e explorar o potencial biotecnológico desses micro-organismos.

Palavras-chave: Adaptação ao frio, diversidade microbiana, metagenômica shotgun, metabolismo energético, potencial biotecnológico;

ABSTRACT

The present study aimed to analyze and characterize bacterial genomes recovered from metagenome-assembled genomes (MAGs) in sediments from Lake Florencia, located on James Ross Island, Antarctica. This research sought to understand microbial diversity and its ecological functions in an extreme environment characterized by freezing temperatures, intense ultraviolet radiation, and nutrient scarcity. A total of 21 MAGs were recovered, primarily classified within the phyla Actinomycetota, Pseudomonadota, and Acidobacteriota, with notable representation from the classes Gammaproteobacteria, Limocyclinira, and Acidimicrobiia. Functional analyses of the MAGs revealed the presence of genes associated with cold adaptation, energy metabolism, and secondary metabolite biosynthesis, indicating survival strategies in extreme conditions. The presence of genes involved in producing antifreeze proteins, cryoprotectants, and exopolysaccharides suggests that these bacteria have developed specific mechanisms to cope with environmental stress. Furthermore, the observed taxonomic diversity aligns with previous studies that identified the predominance of Proteobacteria, Actinobacteria, and Bacteroidetes in Antarctic environments. The study also highlighted the biotechnological potential of Antarctic microorganisms, particularly for the production of bioactive compounds and cold-adapted enzymes, with applications in various fields such as the pharmaceutical industry and bioremediation. The MAG recovery approach proved to be essential for uncovering microbial diversity in extreme environments, where most microorganisms cannot be cultivated in the laboratory. In conclusion, this research contributes to the understanding of Antarctic microbial biodiversity and reinforces the importance of these communities in maintaining polar ecosystems. Additionally, it underscores the need for further studies to monitor the impacts of climate change on polar microbiota and explore the biotechnological potential of these microorganisms.

Keywords: Cold adaptation, microbial diversity, shotgun metagenomics, energy metabolism, biotechnological potential;

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS.....	12
2.1 Objetivo geral.....	12
2.2 Objetivos específicos	12
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
3.1 Locais de estudo e amostragem de sedimentos.....	13
3.2 Extração de DNA, construção de biblioteca e sequenciamento	15
3.3 Análise bioinformática, anotação taxonômica e funcional dos MAGs.....	15
4 RESULTADOS.....	16
4.1 Características gerais dos genomas bacterianos recuperados	16
4.2 Classificação taxonômica dos MAGs	16
4.3 Caracterização Funcional dos MAGs	19
5 DISCUSSÃO	20
5.1 Composição taxonômica dos MAGs e comparação com outros estudos.....	20
5.2 Formação e estruturação das comunidades microbianas ao longo de gradientes ambientais nos lagos Antárticos	21
5.3 Funções Metabólicas e Estratégias de sobrevivência	22
6 CONCLUSÃO	25
REFERÊNCIAS.....	26
MATERIAL SUPLEMENTAR.....	33

1 INTRODUÇÃO

O continente Antártico, com seus lagos isolados e ecossistemas extremos, é um ambiente que esconde por trás de sua aparente desolação, um mundo microscópico inteiro, marcado por aspectos, vibrantes e resilientes (LI; MORGAN-KISS, 2019). Micro-organismos adaptados a condições extremas como: temperaturas congelantes, radiação ultravioleta intensa e escassez de nutrientes, não apenas sobrevivem, mas prosperam, desempenhando papéis essenciais nos ciclos biogeoquímicos, mantendo assim, o equilíbrio desses ecossistemas (CAVICCHIOLI et al., 2019). Esses micro-organismos são peças-chave para entender como a vida responde às mudanças climáticas globais, especialmente em regiões polares, onde os efeitos do aquecimento são mais evidentes (ORTIZ et al., 2020). A Antártica, portanto, não é apenas um continente gelado, é um laboratório natural que nos oferece insights fascinantes sobre a adaptação e a evolução da vida em ambientes hostis (GOORDIAL; WHYTE, 2014).

Os lagos da Antártica são considerados ecossistemas fascinantes, onde a vida persiste sob condições extremas de frio, isolamento e baixa disponibilidade de nutrientes (CAVICCHIOLI, 2015). Nessas águas geladas, que passam por períodos de congelamentos e descongelamentos, as comunidades microbianas desempenham um papel central, atuando como os principais reguladores dos ciclos biogeoquímicos e garantindo a funcionalidade do ecossistema (KOO et al., 2018). Dentro do domínio Bacteria, grupos como as Proteobacteria, Actinobacteria e Cyanobacteria são frequentemente dominantes, cada um contribuindo de maneira distinta para a manutenção do ambiente. As Proteobacteria, por exemplo, são conhecidas por sua versatilidade metabólica, participando ativamente da decomposição de matéria orgânica e da ciclagem de nutrientes como nitrogênio e enxofre (KUMAR et al., 2019). Já as Actinobactérias destacam-se pela produção de compostos bioativos e pela capacidade de degradar polímeros complexos, como celulose e quitina, liberando compostos essenciais para outras formas de vida (ZHU et al., 2015). Entre os grupos bacterianos, as Cyanobactérias merecem destaque por sua capacidade de realizar fotossíntese em condições extremas, fornecendo carbono orgânico para o ecossistema e sustentando redes tróficas inteiras

(VELICHKO et al., 2021). Além disso, algumas linhagens de Cianobactérias são capazes de fixar nitrogênio atmosférico, um processo crucial em ambientes onde esse nutriente é escasso (JUNGBLUT et al., 2016). Esses micro-organismos não apenas sustentam a base da cadeia alimentar, mas também ajudam a mitigar os efeitos das mudanças climáticas, atuando como bioindicadores sensíveis às alterações ambientais (LAURO et al., 2011). Essas descobertas não apenas ampliam nosso entendimento sobre a vida microbiana em ambientes extremos, mas também destacam o papel desses organismos na manutenção da resiliência dos ecossistemas polares frente às mudanças climáticas globais (PESSI et al., 2016).

Estudar essas comunidades microbianas dos lagos antárticos vai além do interesse científico, é uma necessidade urgente em compreender como esses ecossistemas responderão às pressões ambientais futuras. A Antártica, como um dos locais mais sensíveis do planeta, serve como um modelo para entender os impactos das mudanças climáticas em escala global (CONVEY et al., 2014). Ao desvendar as funções e interações dos principais grupos bacterianos nesses ambientes, podemos não apenas prever cenários futuros, mas também desenvolver estratégias para a conservação desses ecossistemas únicos (BOWMAN et al., 2016). Portanto, investigar a diversidade e o funcionamento dessas comunidades microbianas é essencial para garantir a preservação dos lagos antárticos e, por extensão, do equilíbrio ecológico global (LAYBOURN-PARRY; PEARCE, 2007). No entanto, um desafio intrigante a ser superado, deve-se ao fato de que, a maioria desses micro-organismos ainda apresentam resistência ao cultivo em laboratório. Isso significa que, por décadas, grande parte da diversidade microbiana antártica permaneceu invisível aos nossos olhos, limitada pelas técnicas tradicionais de isolamento e cultivo (RUPARELIA et al., 2022).

O uso do sequenciamento do gene 16S rRNA para estudar comunidades microbianas na Antártida enfrenta várias limitações (PORETSKY et al., 2014). Embora esse método forneça informações valiosas sobre a composição da comunidade, ele é limitado pela disponibilidade de genomas representativos em bancos de dados públicos, onde micro-organismos antárticos acabam sendo sub-representados (BOWMAN, 2018). Diferentes regiões hipervariáveis do gene 16S rRNA podem produzir resultados variados em termos de resolução taxonômica e padrões de diversidade (VARLIERO et al., 2023). No entanto, o conjunto de primers V4-V5 mostrou-se promissor na captura da diversidade

bacteriana e arqueal em ambientes árticos (FADEEV et al., 2021). Fatores ambientais, especialmente a salinidade, influenciam fortemente a estrutura da comunidade microbiana em lagoas de água derretida da Antártida, destacando a importância de considerações específicas do habitat (JACKSON; HAWES; JUNGBLUT, 2021). Com os avanços tecnológicos que ocorreram nos últimos anos, como o sequenciamento de nova geração (NGS), novas abordagens de estudo surgiram e abriram as portas para um universo antes desconhecido, revelando não apenas quem está lá, mas também o que esses micro-organismos são capazes de fazer, além de identificar suas principais estratégias metabólicas, suas interações ecológicas e seu papel na manutenção do ecossistema como um todo (KHAN et al., 2023).

Dentro desse universo metagenômico, diversos avanços na ciência foram necessários para mudar esse cenário, onde uma técnica em particular tem se destacado positivamente em superar esse déficit, a recuperação de genomas montados a partir de metagenomas, ou MAGs (do inglês *Metagenome-Assembled Genomes*) (ZHOU; LIU; YANG, 2022). Essa técnica possibilita reconstruir os genomas de forma completa ou quase completa desses micro-organismos sem nunca o ter cultivado (MEZITI et al., 2021). Eles permitem desvendar as funções biológicas e os papéis ecológicos de micro-organismos que, de outra forma, permaneceriam no anonimato (BICKHART et al., 2022). Em ambientes extremos como a Antártica, onde a diversidade microbiana é frequentemente subestimada, os MAGs têm sido uma ferramenta indispensável, revelando segredos que antes estavam além do nosso alcance (LAPIDUS; KOROBEYNIKOV, 2021). Ao estudar esses genomas, não apenas ampliamos nosso conhecimento sobre a vida em condições extremas, mas também ganhamos insights valiosos sobre processos biogeoquímicos críticos e potenciais aplicações biotecnológicas que podem beneficiar a sociedade em várias áreas (SETUBAL, 2021).

Estudos recentes recuperaram MAGs de diversos ecossistemas, incluindo tapetes microbianos bentônicos em lagos cobertos de gelo (POWELL et al., 2024), águas marinhas (ROYO-LLONCH et al., 2021), regiões costeiras (DUTTA et al., 2023) e solos influenciados por colônias de animais marinhos (RAMÍREZ-FERNÁNDEZ et al., 2021), revelando uma ampla diversidade microbiana, com MAGs representando espécies ainda não descritas para ambientes polares. Diante desse cenário, o estudo de micro-organismos como as bactérias em ecossistemas extremos, particularmente no continente gelado, é

crucial para entender as adaptações microbianas e descobrir novos compostos antimicrobianos. Bactérias antárticas, incluindo filos como Proteobacteria, Actinobacteria e Bacteroidetes, mostraram potencial para a produção de novos antibióticos contra patógenos humanos e micro-organismos industriais (NÚÑEZ-MONTERO; BARRIENTOS, 2018). Além disso, por serem extremamente adaptadas ao frio possuem vantagens funcionais, tornando-as valiosas para diversas aplicações biotecnológicas (TAMANG et al., 2024). As técnicas de sequenciamento de última geração aceleraram a identificação de espécies microbianas anteriormente desconhecidas em ambientes antárticos (DOYTCHINOV; DIMOV, 2022). Portanto, essa pesquisa não apenas aprimora nossa compreensão dos mecanismos de sobrevivência microbiana, mas também contribui para a descoberta de novos metabólitos e o monitoramento dos impactos das mudanças climáticas em ambientes intocados.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Analisar e caracterizar os genomas bacterianos recuperados a partir de metagenomas (MAGs) em amostras de sedimentos do Lago Florencia, localizado em Clearwater Mesa, Ilha James Ross, na Antártica, a fim de compreender a diversidade microbiana e suas potenciais funções ecológicas nesse ambiente extremo.

2.2 Objetivos específicos

- Reconstruir e identificar genomas bacterianos (MAGs) a partir dos dados metagenômicos utilizando ferramentas bioinformáticas apropriadas.
- Analisar a diversidade taxonômica dos genomas bacterianos recuperados, determinando suas características gerais.
- Investigar o potencial funcional e metabólico das comunidades bacterianas reconstruídas, inferindo possíveis estratégias adaptativas ao ambiente antártico.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Locais de estudo e amostragem de sedimentos

O lago Florencia está situado na Ilha James Ross, na Antártica, apresentando características geológicas únicas que exercem influência sobre as comunidades microbianas presentes (GONÇALVES et al., 2023). Trata-se de um lago profundo, localizado em uma depressão formada por geleiras na região do *Foreland*, diretamente conectado à geleira *Blancmange* (Figura 1). A Clearwater Mesa, originada a partir de um vulcão tuya do período Pleistoceno, é constituída por camadas de lava basáltica dispostas de forma sub-horizontal e ocupa uma área de cerca de 8 km², atingindo uma altitude de 250 metros. Essa região é delimitada pela Baía Croft a oeste, pela Calota de Gelo *Haddington* a leste, pela geleira *Blancmange* ao nordeste e por uma geleira sem nome ao sul, abrigando mais de 70 lagos e lagoas que são alimentados pelo derretimento do gelo, alguns dos quais estão interligados (CORIA et al., 2024). Essas particularidades fazem do lago Florencia um ambiente excepcional em termos de profundidade e condições hidrográficas, impactando diretamente a ecologia dos micro-organismos presentes. Adicionalmente, a Clearwater Mesa, localizada na Península Antártica, sofre os efeitos das alterações climáticas regionais, servindo como um laboratório natural para o estudo dos impactos dessas mudanças ao longo do tempo (GONÇALVES et al., 2022).

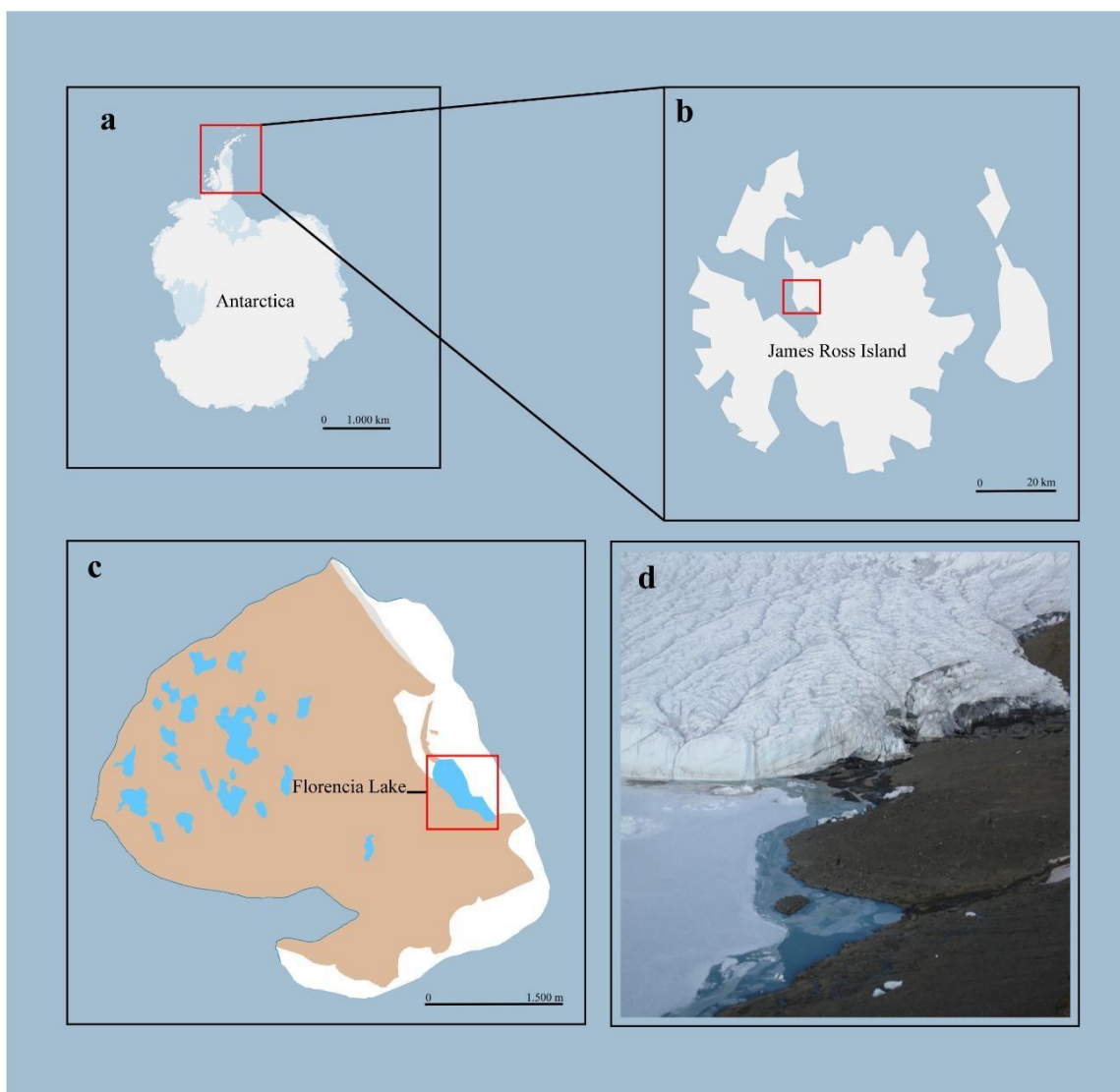


Figura 1. Lago na Península Antártica, Ilha James Ross. (a) Antártica com o retângulo em vermelho indicando a ilha James Ross. (b) Ilha James Ross, com o retângulo em vermelho indicando a região de Clearwater Mesa. (c) Clewater Mesa, com um retângulo em vermelho mostrando o Lago Florencia. (d) Lago Florencia ($64^{\circ}01'27.8''$ S; $57^{\circ}40'00.6''$ W). As imagens foram obtidas através do Quantarctica e os mapas produzidos no software QGis 3.16. Foto: Matej Roman.

Os sedimentos do lago foram coletados durante o período correspondente ao verão austral, compreendido entre outubro de 2020 e março de 2021, em triplicata, utilizando-se tubos de PVC previamente desinfetados (60 mm de diâmetro x 50 mm de comprimento), conforme o protocolo estabelecido por Ogaki et al., (2020), com o intuito de minimizar potenciais contaminações. A coleta foi realizada em três pontos distintos, distanciados aproximadamente 50 metros entre si, nas regiões costeiras do lago, em profundidades variando entre 20 e 50 cm. Após a coleta, cada amostra de sedimento, com massa aproximada de 500 g, foi subamostrada e acondicionada em sacos estéreis Whirl-pack (Nasco, Ft. Atkinson, WI, EUA), sendo subsequentemente armazenadas a -20°C para preservação até o processamento laboratorial. As análises foram conduzidas no

Laboratório da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Brasil. Para o processamento, as amostras foram descongeladas gradualmente a 4 °C por um período de 24 horas, visando preservar a integridade do material biológico. A extração de DNA foi realizada sob condições controladas, utilizando fluxo laminar para garantir a esterilidade do ambiente e evitar contaminações externas. Todos os procedimentos foram executados seguindo rigorosos protocolos de biossegurança, assegurando a obtenção de DNA de alta pureza e qualidade para análises subsequentes.

3.2 Extração de DNA, construção de biblioteca e sequenciamento

A extração do DNA total das amostras foi realizada empregando o *QIAGEN PowerLyze PowerSoil Kit* (QIAGEN, Carlsbad, EUA), seguindo rigorosamente as especificações do fabricante. A avaliação da qualidade do DNA foi conduzida por meio de eletroforese em gel de agarose a 1%, utilizando tampão Tris-borato-EDTA (TBE 1×), e a quantificação foi realizada através do ensaio *Quanti-iT™ PicoGreen dsDNA* (Invitrogen), que permite a detecção sensível de DNA de fita dupla. Para a construção das bibliotecas de DNA, foi utilizado o *TruSeq Nano DNA Kit* da Illumina, seguindo o protocolo estabelecido para sequenciamento metagenômico (parte #15041110 Rev. D). O sequenciamento *paired-end* (2 × 151 pares de bases) foi executado em um sistema *HiSeq* (Illumina), operado pela MacroGen Inc. (Coreia do Sul)

3.3 Análise bioinformática, anotação taxonômica e funcional dos MAGs

Para recuperação do genomas a partir dos metagenomas (MAGs) foi utilizado o workflow automatizado Metaphor v1.7.14 (SALAZAR et al., 2023). O controle de qualidade das leituras foi realizado utilizando o FastQC v0.12.1 (<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>) e a ferramenta fastp (<https://github.com/OpenGene/fastp>) para filtragem. A montagem dos genomas foi conduzida com Megahit v1.2.9, e a qualidade da montagem foi avaliada através do MetaQUAST v3.2 (<https://quast.sourceforge.net/metaquast>). As leituras originais foram então mapeadas contra os *contigs* montados utilizando Minimap2 v2.28 (LI, 2018), os arquivos resultantes foram processados com Samtools v1.21 (DANECEK et al., 2021). Para o *binning*, os *contigs* foram agrupados utilizando as ferramentas Vamb v4.1.3 (NISSEN et al., 2021), MetaBAT v2.12.1 (KANG et al., 2014) e CONCOCT (ALNEBERG et al., 2013), o refinamento foi realizado com DAS Tool v1.1.7 (SIEBER

et al., 2018) para melhorar a precisão dos *bins*. Após a recuperação, os genomas foram selecionados com base em métricas de qualidade: completude > 70% e contaminação <20% utilizando o CheckM v1.0.18 na plataforma KBase (ARKIN et al., 2018), outras métricas de qualidade dos MAGs como N50, *contigs*, RNA, tRNA e tmRNA foram avaliadas utilizando a ferramenta Quast v5.3.0 (GUREVICH et al., 2013) dentro do servidor online Galaxy v24.1.4.dev0 (<https://usegalaxy.org/>). A atribuição taxonômica dos MAGs foi feita usando GTDB-Tk v2.4.0 (CHAUMEIL et al., 2020) no servidor online Galaxy v24.1.4.dev0 (<https://usegalaxy.org/>).

A anotação funcional dos MAGs foi realizada utilizando a ferramenta Prokka v1.14.5 na plataforma KBase. As categorias funcionais foram determinadas usando o *eggNOG-mapper* v.2 (CANTALAPIEDRA et al., 2021), com base na anotação COG (*Cluster of Orthologous Genes*), utilizando o banco de dados *eggNOG* v5.0 (HUERTA-CEPAS et al., 2019), já o banco de dados KEGG foi utilizado para identificar as principais vias metabólicas, enzimas e genes de interesse presentes nos MAGs utilizando a ferramenta *KEGG mapper reconstruct* v5.2 (KANEHISA; SATO, 2020).

4 RESULTADOS

4.1 Características gerais dos genomas bacterianos recuperados

Duas réplicas pertencentes as amostras de sedimentos do Lago Florencia não obtiveram quantidade de DNA suficiente para o sequenciamento, portanto, esse trabalho possui apenas uma réplica com um total de 42,488,062 reads brutas, que foram processadas para recuperação dos genomas. Após a recuperação, um total de 39 MAGs foram obtidas, todas atribuídas ao domínio Bacteria, sendo posteriormente selecionadas com base em métricas de qualidade como >70% de completude e <20% de contaminação, resultando em um total de 21 MAGs que atendiam os requisitos. Todas as características gerais dos MAGs recuperados como, tamanho, completude, contaminação, G+C, N50, *contigs* e CDS podem ser encontradas na tabela suplementar 1.

4.2 Classificação taxonômica dos MAGs

Os MAGs foram classificados taxonomicamente em diferentes níveis hierárquicos como filo, classe, ordem, gênero e espécie. A distribuição da frequência dos diferentes grupos taxonômicos é apresentada nos gráficos da Figura 2.

A nível de filo, os grupos mais frequentes incluem Actinomycetota (23,80%) Pseudomonadota (19,05%) e Acidobacteriota (19,05%) enquanto outros filos, como Bacteroidota (9,52%), Chloroflexota (9,52%), Eisenbacteria (9,52%), Gemmatimonadota (4,76%) e Planctomycetota (4,76%) aparecem em menor frequência.

Com relação as classes, Gammaproteobacteria (19,05%) é a mais predominante, seguida por Limocyclinira (9,52%) e Acidimicrobiia (9,52%), com algumas outras classes que aparecem em menor frequência como, Actinomycetes (1), Thermoanaerobaculia (1), Gemmatimonadetes (1), Phycisphaerae (1), Vicinamibacteria (1), Blastocatellia (1), Bacteroidia (1) (33,33%) e outras com identificações desconhecidas (28,57%).

A nível de ordem, Burkholderiales (9,52%) se destaca como a mais frequente, seguida por Acidimicrobiales (9,52%), outras pouco frequentes como, Limnocyndrales (1), Gemmatimonadales (1), Pseudomonadales (1), Pyrinomonadales (1), Chitinophagales (1), Xanthomonadales (1) (28,57%) enquanto uma grande parcela permanece sem identificação (52,38%).

Com relação ao nível de gênero, a maioria dos MAGs permanece sem identificação, sendo que, apenas um MAG foi classificado como pertencente ao gênero *Pseudomonas*.

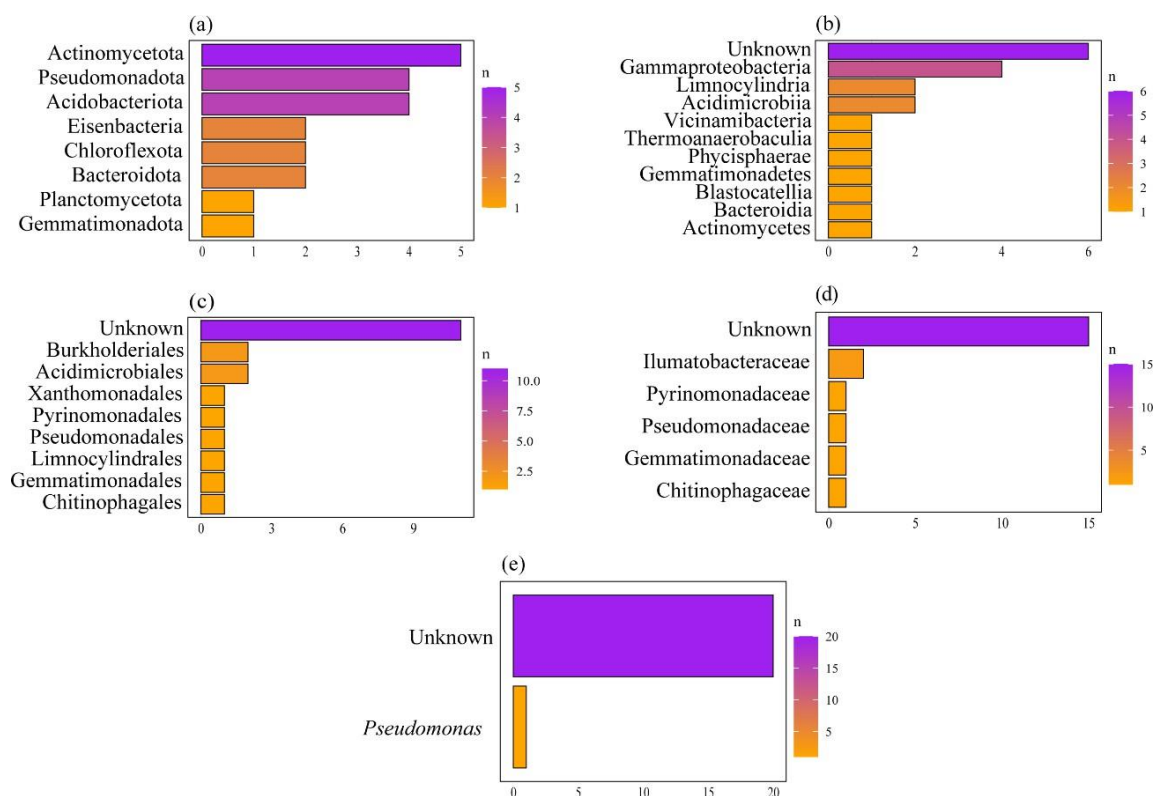


Figura 2. Classificação taxonômica dos MAGs recuperadas em diferentes níveis hierárquicos. Os gráficos representam a distribuição da frequência dos grupos taxonômicos para (a) Filo, (b) Classe, (c) Ordem, (d) Família e (e) Gênero.

4.3 Caracterização Funcional dos MAGs

As categorias mais abundantes entre os MAGs incluem tradução, estrutura ribossomal e biogênese (J), transporte e metabolismo de aminoácidos (E), produção e conversão de energia (C) e modificação pós-traducional, turnover de proteínas e chaperonas (O).

Os MAGs que apresentaram o maior número de genes funcionalmente anotados foram BAC13_F (*Pseudomonas*), BAC14_F (*Ilumatobacteraceae*), BAC16_F (*Vicinamibacteria*) e BAC17_F (*Pyrinomonadaceae*), demonstraram abundância de genes envolvidos em categorias como, metabolismo energético, biossíntese de metabólitos secundários e reparo do DNA. Em contrapartida, os MAGs BAC01_F (*Xanthomonadales*), BAC07_F (*Limnocyndria*) e BAC20_F (*Bacteroidota*) apresentaram menor frequência de genes funcionais.

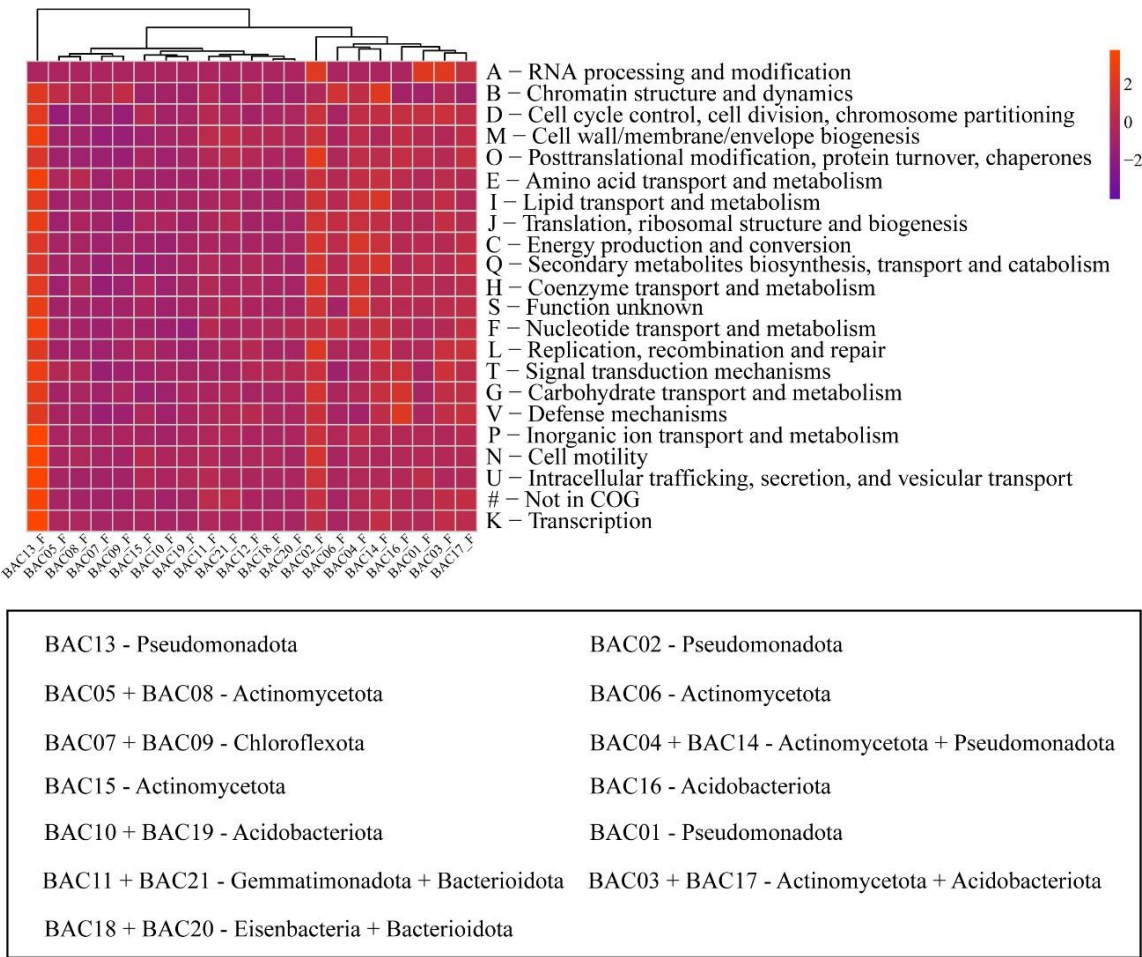


Figura 3. Mapa de calor representando o perfil funcional dos MAGs recuperadas, com anotações baseadas no banco de dados COG. As categorias funcionais foram atribuídas pelo número de genes anotados. O dendrograma sugere padrões de agrupamento entre os MAGs com base nas suas características funcionais.

5 DISCUSSÃO

5.1 Composição taxonômica dos MAGs e comparação com outros estudos

Os 21 genomas bacterianos recuperados nesse estudo foram classificados nos filos Actinomycetota, Pseudomonadota e Acidobacteriota, com destaque para as classes Gammaproteobacteria, Limocyclinira e Acidimicrobiia. Esse perfil taxonômico observado é por estudos anteriores, como o de Rizzo et al., (2020), onde foi identificado um perfil similar em comunidades microbianas antárticas, com abundância de Proteobacteria, Bacteroidetes e Actinobacteria. Além disso, Millán-Aguiñaga et al., (2019) destacaram a abundância de Actinobacteria em sedimentos antárticos, principalmente da ordem Actinomycetales, reconhecidas por suas propriedades antitumorais promissoras, sendo fontes valiosas de estudos relacionados a compostos bioativos que apresentem potenciais aplicações farmacêuticas (SILVA et al., 2020).

A ocorrência de Bacteroidota nos sedimentos do Lago Florencia, também foi observada corroborando com estudos que identificaram esse filo com grande importância para o ecossistema, dominando as comunidades bacterianas em salmouras de lagos cobertos de gelo (LO GIUDICE et al., 2021). Nos sedimentos lacustres de água doce da Península de Fildes, Bacteroidota também estava entre os filos mais abundantes e demonstrou potencial de oxidação de metano em temperaturas mais altas, sugerindo um possível candidato ao papel de mitigador em futuras emissões de metano (ROLDÁN et al., 2022).

Esses lagos antárticos também abrigam uma grande variedade de comunidades microbianas, com espécies do gênero *Pseudomonas* desempenhando um papel significativo, além de serem abundantes em lagos de água doce do norte da Terra de Victoria (MICHAUD et al., 2012). Espécies psicrófilas de *Pseudomonas* detectadas em lagos na Península de Stornes, Larsemann Hills, sugerem que esses ambientes fornecem condições adequadas para seu crescimento e sobrevivência (CHAUHAN et al., 2015). A presença de *Pseudomonas* nesses lagos é atribuída à sua capacidade de se adaptar a condições extremas, incluindo baixas temperaturas e disponibilidade de nutrientes (BHARTI; NIYOGI, 2015).

Pesquisas na Ilha King George revelaram espécies potencialmente novas de *Pseudomonas*, formando um novo subgrupo dentro do complexo *Pseudomonas*

fluorescens ao lado de outras espécies antárticas (VÁSQUEZ-PONCE et al., 2018). As cepas de *Pseudomonas* são prevalentes em lagos antárticos, particularmente em condições com limitação de nutrientes, tendo sua composição comunitária influenciada por gradientes ambientais, como disponibilidade de nutrientes e salinidade (PICAZO et al., 2019). Orellana-Saez et al., (2019) apresentam a versatilidade metabólica excepcional de uma cepa psicotolerante antártica *Pseudomonas* sp. MPC6, que exibe a capacidade de degradar compostos aromáticos e utilizar açúcares C5 e C6, além disso, possui múltiplas PHA sintases, permitindo a produção de diversos biopolímeros, possui alta tolerância a metais pesados e baixas temperaturas, tornando as cepas de *Pseudomonas* antárticas candidatas promissoras para usos na biorremediação e produção de biopolímeros em condições extremas. Além disso, *Pseudomonas* antárticas possuem plasmídeos únicos que facilitam a transferência horizontal de genes dentro de suas populações (ROMANIUK et al., 2019).

Além disso, há evidências de que existem diversos processos que vão influenciar nos padrões de distribuição microbiana nesses ambientes extremos (CAI et al., 2024). Como por exemplo, estudos atuais que reforçam a importância do filo Actinomycetota, particularmente de ambientes antárticos, como fontes valiosas de novos clusters de genes biossintéticos (BGCs) com potenciais aplicações biotecnológicas (BRUNA et al., 2024). As classes Burkholderiales e Actinomycetales são grupos bacterianos dominantes compartilhados entre os diferentes lagos tibetanos, antárticos e árticos (LIU et al., 2021).

5.2 Formação e estruturação das comunidades microbianas ao longo de gradientes ambientais nos lagos Antárticos

A análise dos MAGs recuperadas no Lago Florencia também permitiu inferir sobre as estratégias adaptativas das comunidades microbianas em resposta às condições extremas do ambiente antártico. Como por exemplo, a presença de genes nos MAGs relacionados ao metabolismo energético, biossíntese de metabólitos secundários e reparo de DNA sugere que essas bactérias desenvolveram mecanismos específicos para sobreviver em temperaturas congelantes, radiação UV intensa e escassez de nutrientes como proteínas induzidas pelo frio, crioprotetores e produção de exopolissacarídeos (KOO et al., 2018). No Vale Seco de McMurdo, os lagos são moldados por colunas de água estratificadas com comunidades microbianas distintas em camadas óxicas e anóxicas (LI; MORGAN-KISS, 2019). As comunidades de águas superficiais são particularmente sensíveis a distúrbios como aumento do nível do lago ou a perda de cobertura de gelo,

apresentando mudanças na composição e aumento do carbono orgânico dissolvido (SHERWELL et al., 2022).

Estudos metagenômicos reforçam o papel de diversos táxons e vias metabólicas nesses ambientes utilizando diferentes camadas dos lagos (GRECO et al., 2024). Salmouras hipersalinas em lagos congelados por exemplo, apresentam abundância procariótica, além de uma importante viabilidade em respostas metabólicas (AZZARO et al., 2021). Além disso, Panwar et al., (2020) ilustram em seu estudo que, o ciclo da luz polar pode afetar significativamente a estrutura da comunidade microbiana, em particular os fototróficos como bactérias sulfurosas verdes e cianobactérias, cuja abundância tende a apresentar variações significativas entre o verão e o inverno.

5.3 Funções Metabólicas e Estratégias de sobrevivência

As análises funcionais dos MAGs revelaram a abundância de genes envolvidos em categorias como tradução, transporte de aminoácidos, produção de energia e modificação pós-traducional de proteínas. Essas funções estão diretamente relacionadas às estratégias de sobrevivência em ambientes extremos, como a produção de proteínas anticongelantes, crioprotetores e exopolissacarídeos (KOO et al., 2018). Viver nesse extremo, fez com que esses micro-organismos antárticos desenvolvessem rápidas adaptações extremas únicas, como por exemplo, as espécies de *Pseudoalteromonas*, que são utilizadas como organismos modelo para estudar os mecanismos de adaptação ao frio (PARRILLI et al., 2021). Além disso, bactérias antárticas, incluindo os filos Proteobacteria, Actinobacteria e Firmicutes, são fontes de grande potencial para o isolamento de novos compostos antimicrobianos, visto que há uma crescente preocupação com a resistência a antibióticos (NÚÑEZ-MONTERO; BARRIENTOS, 2018).

Psychrobacter sp. possuem adaptações ao frio por meio da regulação positiva de genes envolvidos na tradução, dobramento de proteínas e fluidez da membrana em temperaturas abaixo de zero (KOH et al., 2017). *Chryseobacterium frigidisoli* PB4T, isolado de solos de campo frontal de geleiras antárticas, apresenta reestruturação complexa de ácidos graxos da membrana celular em resposta a mudanças de temperatura e pH (BAJERSKI; WAGNER; MANGELSDORF, 2017). *Planococcus* sp. ANT_H30 e *Rhodococcus* sp. ANT_H53B podem produzir metabólitos biotecnologicamente valiosos, como surfactantes, sideróforos e carotenóides (STYCZYNSKI et al., 2020). A levedura psicrófila *Glaciozyma antarctica* PI12 emprega várias estratégias moleculares e

fisiológicas para adaptação ao frio, incluindo a produção de proteínas anticongelantes e modificações na fluidez da membrana (YUSOF; HASHIM; BHARUDIN, 2021).

Pseudomonas antarctica isoladas de ambientes extremos exibem estratégias adaptativas notáveis para lidar com condições adversas, demonstrando tolerância a temperaturas congelantes, radiação UV e outros estressores (MUKHIA et al., 2022). *Pseudomonas extremaustralis* possui genes associados à resistência ao frio e à radiação, bem como a regulação positiva de genes de oxidação do etanol em baixas temperaturas (TRIBELLI et al., 2015). Além disso, um estudo evidenciou que isolados de *Pseudomonas* podem produzir enzimas ativas a frio e polihidroxialcanoatos (PHAs) em temperaturas baixas e moderadas, mostrando seu potencial biotecnológico (PACHECO et al., 2019).

A notável adaptabilidade de *Pseudomonas* as condições extremas da Antártica, se deve ao fato de conseguirem modificar a fluidez da membrana aumentando os ácidos graxos insaturados, utilizar enzimas e moléculas adaptadas ao frio, além de mecanismos eficientes de reparo de DNA (PAVANKUMAR; MITTAL; HALLSWORTH, 2021). Além disso, o extenso genoma de *Pseudomonas* contribui significativamente para sua ampla capacidade adaptativa (JURADO-MARTÍN; SAINZ-MEJÍAS; MCCLEAN, 2021). As espécies pertencentes ao grupo das *Pseudomonas*, desempenham papéis cruciais nos processos ecológicos e têm diversas aplicações biotecnológicas, incluindo promoção do crescimento das plantas, biocontrole, biodegradação e biorremediação (CHAUHAN et al., 2023).

Esses psicrófilos possuem enzimas tolerantes ao frio, mantêm a fluidez da membrana e expressam genes específicos para sobrevivência em baixas temperaturas (LAURITANO et al., 2020; SATHYANARAYANA REDDY; CHATTOPADHYAY; SHIVAJI, 2016). Eles possuem capacidade de empregar antioxidantes e proteínas universais do estresse afim de combater o estresse oxidativo associado ao frio, com adaptações no metabolismo energético, como a indução de enzimas do ciclo do glioxilato em baixas temperaturas (ALIYU; DE MAAYER; COWAN, 2016). Estudos identificaram diversas enzimas de reparo de DNA em metagenomas do Vale Seco da Antártica, incluindo nucleases únicas e ligases de DNA dependentes de ATP (RZOSKA-SMITH et al., 2023).

A bactéria marinha *Rhodococcus* sp. NJ-530 exibe uma fotoliase de DNA induzível por UV que repara efetivamente os danos ao DNA induzidos por UV (HE et al., 2021). Da mesma forma, a microalga antártica *Chlamydomonas* sp. ICE-L possui um gene (6-4) fotoliase que é regulado positivamente em resposta à exposição aos raios UV e demonstra atividade de reparo do DNA (AN et al., 2018). De acordo com Fuentes-León et al., (2020) a luz solar do final da primavera na Antártica pode causar danos significativos ao DNA, incluindo dímeros de ciclobutano pirimidina, bases oxidadas e quebras de fita simples, destacando a importância de mecanismos eficientes de reparo do DNA.

As comunidades microbianas nos sedimentos antárticos são moldadas pela temperatura e radiação solar, com funções relacionadas ao estresse e genes para resposta ao estresse oxidativo sendo diferencialmente enriquecidos ao longo do tempo (CENTURION et al., 2021). Genes de estresse em resposta ao frio, incluindo aqueles para crioprotetores e biossíntese de exopolissacarídeos, são comuns em diferentes ecossistemas antárticos (KOO et al., 2018). As fotoliasas, enzimas responsáveis por repararem danos ao DNA causados por UV, têm sido estudadas em organismos antárticos para possíveis aplicações na proteção da pele (RAMÍREZ-FERNÁNDEZ et al., 2021). Além disso, estudos ômicos revelaram adaptações genéticas nessas comunidades microbianas como, mudanças metabólicas relacionadas ao metabolismo lipídico e sistemas de defesa, incluindo a regulação positiva de proteínas de ligação ao gelo, chaperonas e enzimas antioxidantes (LAURITANO et al., 2020).

Mikucki et al., (2016) identificaram que o lago Whillans subglacial hospeda ecossistemas microbianos ativos utilizando N, S, Fe e CH₄ reduzidos como fontes de energia. Já no Lago Untersee, foi observado uma dinâmica diferente, onde cianobactérias dominam as lâminas superficiais, enquanto as camadas mais profundas mostram maiores abundâncias de outros filos bacterianos, com outras funções metabólicas previstas (KOO et al., 2017). No lago Bonney, os protistas apresetaram versatilidade metabólica, com grupos bacterianos associados a microalgas fotossintéticas e nanoflagelados heterotróficos indicando relações de parasitismo (LI; PODAR; MORGAN-KISS, 2016). No lago Untersee, as cianobactérias participam da formação das morfologias pertencentes as esteiras microbianas, enquanto o grupo das Nitrospiraceae oxidantes de amônia são observadas como abundantes, eliminação de nutrientes e a reciclagem de moléculas

biológicas, são estratégias importantes nesses ambientes oligotróficos (GRECO et al., 2024).

De acordo com Vick-Majors et al., (2014) durante a transição para a noite polar ocorrem mudanças na composição microbiana dos lagos cobertos de gelo favorecendo micro-organismos quimiolitotrofos e mixotróficos, além de uma complexa rede de interações entre bactérias, arqueas e eucariotos, com estruturas de comunidade influenciadas por parâmetros biogeoquímicos e disponibilidade de luz. Avanços recentes em abordagens ômicas e aprendizado de máquina têm aprimorando cada vez mais nossa compreensão desses micro-organismos e seu potencial para futuras aplicações biotecnológicas (RAMASAMY et al., 2023).

6 CONCLUSÃO

Nosso estudo dos genomas bacterianos recuperados a partir de metagenomas em sedimentos do Lago Florencia, Antártica, é marco importante para a comunidade científica, ao contribuir com 21 novos genomas de bactérias para o continente antártico, bem como, o enriquecimento de banco de dados públicos. Revelando uma diversidade microbiana significativa, composta principalmente pelos filos Actinomycetota, Pseudomonadota e Acidobacteriota. As análises funcionais realizadas aqui demonstraram a presença de mecanismos essenciais para a adaptação ao frio, metabolismo energético e produção de metabólitos secundários, reforçando a relevância dessas comunidades microbianas para a manutenção do ecossistema antártico.

Além disso, aplicamos técnicas de metagenômica na ampliação do conhecimento sobre os micro-organismos que habitam ambientes extremos, permitindo não apenas sua classificação taxonômica, mas também a inferência de suas prováveis funções ecológicas, evidenciando o potencial biotecnológico desses micro-organismos, especialmente no desenvolvimento de enzimas e compostos bioativos com aplicações industriais e ambientais. Dessa forma, este estudo contribui para o entendimento da biodiversidade microbiana antártica e reforça a necessidade de mais pesquisas voltadas para a preservação desses ecossistemas únicos, considerando os possíveis impactos das mudanças climáticas sobre a microbiota polar.

REFERÊNCIAS

- ALIYU, H.; DE MAAYER, P.; COWAN, D. The genome of the Antarctic polyextremophile *Nesterenkonia* sp. AN1 reveals adaptive strategies for survival under multiple stress conditions. **FEMS microbiology ecology**, v. 92, n. 4, p. fiw032, 2016.
- ALNEBERG, J. et al. CONCOCT: clustering contigs on coverage and composition. **arXiv preprint arXiv:1312.4038**, 2013.
- AN, M. et al. The first (6-4) photolyase with DNA damage repair activity from the Antarctic microalga *Chlamydomonas* sp. ICE-L. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 809, p. 13–19, 2018.
- ARKIN, A. P. et al. KBase: the United States department of energy systems biology knowledgebase. **Nature biotechnology**, v. 36, n. 7, p. 566–569, 2018.
- AZZARO, M. et al. The prokaryotic community in an extreme Antarctic environment: The brines of Boulder Clay lakes (Northern Victoria Land). **Hydrobiologia**, v. 848, p. 1837–1857, 2021.
- BAJERSKI, F.; WAGNER, D.; MANGELSDORF, K. Cell membrane fatty acid composition of *Chryseobacterium frigidisoli* PB4T, isolated from Antarctic glacier forefield soils, in response to changing temperature and pH conditions. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 677, 2017.
- BHARTI, P. K.; NIYOGI, U. K. Environmental conditions of psychrophilic *Pseudomonas* spp. **Antarctic Lake at Stornes Peninsula, Larsemann Hills, east Antarctica. International Journal of Environmental Monitoring and Protection**. 2015c, v. 2, n. 3, p. 27–30, 2015.
- BICKHART, D. M. et al. Generating lineage-resolved, complete metagenome-assembled genomes from complex microbial communities. **Nature biotechnology**, v. 40, n. 5, p. 711–719, 2022.
- BOWMAN, J. S. et al. Microbial community dynamics in two polar extremes: The lakes of the McMurdo Dry Valleys and the West Antarctic Peninsula marine ecosystem. **BioScience**, v. 66, n. 10, p. 829–847, 2016.
- BOWMAN, J. S. Identification of microbial dark matter in Antarctic environments. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 3165, 2018.
- BRUNA, P. et al. Biosynthetic gene clusters with biotechnological applications in novel Antarctic isolates from Actinomycetota. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 108, n. 1, p. 325, 2024.
- CAI, M. et al. Microbial difference and its influencing factors in ice-covered lakes on the three poles. **Environmental Research**, v. 252, p. 118753, 2024.
- CANTALAPIEDRA, C. P. et al. eggNOG-mapper v2: functional annotation, orthology assignments, and domain prediction at the metagenomic scale. **Molecular biology and evolution**, v. 38, n. 12, p. 5825–5829, 2021.

CAVICCHIOLI, R. Microbial ecology of Antarctic aquatic systems. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, n. 11, p. 691–706, 2015.

CAVICCHIOLI, R. et al. Scientists' warning to humanity: microorganisms and climate change. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 9, p. 569–586, 2019.

CENTURION, V. B. et al. Dynamics of microbial stress responses driven by abiotic changes along a temporal gradient in Deception Island, Maritime Antarctica. **Science of the total environment**, v. 758, p. 143671, 2021.

CHAUHAN, A. et al. Psychrophilic pseudomonas in antarctic freshwater lake at stornes peninsula, larsemann hills over east Antarctica. **Springerplus**, v. 4, p. 1–6, 2015.

CHAUHAN, M. et al. Cold adapted Pseudomonas: ecology to biotechnology. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1218708, 2023.

CHAUMEIL, P.-A. et al. **GTDB-Tk: a toolkit to classify genomes with the Genome Taxonomy Database**. [s.l.] Oxford University Press, 2020.

CONVEY, P. et al. The spatial structure of Antarctic biodiversity. **Ecological monographs**, v. 84, n. 2, p. 203–244, 2014.

CORIA, S. H. et al. Geochemistry of lake sediments from the South Shetland Islands and James Ross Archipelago, north Antarctic Peninsula. **Antarctic Science**, v. 36, n. 3, p. 160–180, 2024.

DANECEK, P. et al. Twelve years of SAMtools and BCFtools. **Gigascience**, v. 10, n. 2, p. giab008, 2021.

DOYTCHINOV, V. V.; DIMOV, S. G. Microbial community composition of the Antarctic ecosystems: Review of the bacteria, fungi, and archaea identified through an NGS-based metagenomics approach. **Life**, v. 12, n. 6, p. 916, 2022.

DUTTA, A. et al. Depth drives the distribution of microbial ecological functions in the coastal western Antarctic Peninsula. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1168507, 2023.

FADEEV, E. et al. Comparison of two 16S rRNA primers (V3–V4 and V4–V5) for studies of arctic microbial communities. **Frontiers in microbiology**, v. 12, p. 637526, 2021.

FUENTES-LEÓN, F. et al. DNA damage induced by late spring sunlight in Antarctica. **Photochemistry and Photobiology**, v. 96, n. 6, p. 1215–1220, 2020.

GONÇALVES, V. N. et al. Diversity and ecology of fungal assemblages present in lake sediments at Clearwater Mesa, James Ross Island, Antarctica, assessed using metabarcoding of environmental DNA. **Fungal Biology**, v. 126, n. 10, p. 640–647, 2022.

GONÇALVES, V. N. et al. Soil fungal diversity and ecology assessed using DNA metabarcoding along a deglaciated chronosequence at Clearwater Mesa, James Ross Island, Antarctic Peninsula. **Biology**, v. 12, n. 2, p. 275, 2023.

GOORDIAL, J.; WHYTE, L. Microbial life in Antarctic permafrost environments. Em: **Antarctic terrestrial microbiology: Physical and biological properties of antarctic soils**. [s.l.] Springer, 2014. p. 217–232.

GRECO, C. et al. Genome-resolved metagenomics reveals diverse taxa and metabolic complexity in Antarctic lake microbial structures. **Environmental Microbiology**, v. 26, n. 6, p. e16663, 2024.

GUREVICH, A. et al. QUAST: quality assessment tool for genome assemblies. **Bioinformatics**, v. 29, n. 8, p. 1072–1075, 2013.

HE, Y. et al. DNA photolyase from Antarctic marine bacterium *Rhodococcus* sp. NJ-530 can repair DNA damage caused by ultraviolet. **3 Biotech**, v. 11, p. 1–9, 2021.

HUERTA-CEPAS, J. et al. eggNOG 5.0: a hierarchical, functionally and phylogenetically annotated orthology resource based on 5090 organisms and 2502 viruses. **Nucleic acids research**, v. 47, n. D1, p. D309–D314, 2019.

JACKSON, E. E.; HAWES, I.; JUNGBLUT, A. D. 16S rRNA gene and 18S rRNA gene diversity in microbial mat communities in meltwater ponds on the McMurdo Ice Shelf, Antarctica. **Polar Biology**, v. 44, n. 4, p. 823–836, 2021.

JUNGBLUT, A. D. et al. Microbial mat communities along an oxygen gradient in a perennially ice-covered Antarctic lake. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 82, n. 2, p. 620–630, 2016.

JURADO-MARTÍN, I.; SAINZ-MEJÍAS, M.; MCCLEAN, S. *Pseudomonas aeruginosa*: an audacious pathogen with an adaptable arsenal of virulence factors. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 6, p. 3128, 2021.

KANEHISA, M.; SATO, Y. KEGG Mapper for inferring cellular functions from protein sequences. **Protein Science**, v. 29, n. 1, p. 28–35, 2020.

KANG, D. et al. MetaBAT: metagenome binning based on abundance and tetranucleotide frequency. 2014.

KHAN, A. et al. Microbial Community Dynamics of Antarctica: Their Ecological Potential and Industrial Importance. Em: **Microbial Bioactive Compounds: Industrial and Agricultural Applications**. [s.l.] Springer, 2023. p. 261–289.

KOH, H. Y. et al. Proteomic and transcriptomic investigations on cold-responsive properties of the psychrophilic Antarctic bacterium *Psychrobacter* sp. PAMC 21119 at subzero temperatures. **Environmental microbiology**, v. 19, n. 2, p. 628–644, 2017.

KOO, H. et al. Microbial communities and their predicted metabolic functions in growth laminae of a unique large conical mat from Lake Untersee, East Antarctica. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 1347, 2017.

KOO, H. et al. Metagenomic analysis of microbial community compositions and cold-responsive stress genes in selected Antarctic lacustrine and soil ecosystems. **Life**, v. 8, n. 3, p. 29, 2018.

- KUMAR, S. et al. Microbial diversity and soil physiochemical characteristic of higher altitude. **PLoS One**, v. 14, n. 3, p. e0213844, 2019.
- LAPIDUS, A. L.; KOROBEYNIKOV, A. I. Metagenomic data assembly—the way of decoding unknown microorganisms. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 613791, 2021.
- LAURITANO, C. et al. Physiological and molecular responses to main environmental stressors of microalgae and bacteria in polar marine environments. **Microorganisms**, v. 8, n. 12, p. 1957, 2020.
- LAURO, F. M. et al. An integrative study of a meromictic lake ecosystem in Antarctica. **The ISME journal**, v. 5, n. 5, p. 879–895, 2011.
- LAYBOURN-PARRY, J.; PEARCE, D. A. The biodiversity and ecology of Antarctic lakes: models for evolution. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 362, n. 1488, p. 2273–2289, 2007.
- LI, H. Minimap2: pairwise alignment for nucleotide sequences. **Bioinformatics**, v. 34, n. 18, p. 3094–3100, 2018.
- LI, W.; MORGAN-KISS, R. M. Influence of environmental drivers and potential interactions on the distribution of microbial communities from three permanently stratified Antarctic lakes. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 1067, 2019.
- LI, W.; PODAR, M.; MORGAN-KISS, R. M. Ultrastructural and single-cell-level characterization reveals metabolic versatility in a microbial eukaryote community from an ice-covered Antarctic lake. **Applied and environmental microbiology**, v. 82, n. 12, p. 3659–3670, 2016.
- LIU, K. et al. Bacteria in the lakes of the Tibetan Plateau and polar regions. **Science of the Total Environment**, v. 754, p. 142248, 2021.
- LO GIUDICE, A. et al. Prokaryotic diversity and metabolically active communities in brines from two perennially ice-covered Antarctic lakes. **Astrobiology**, v. 21, n. 5, p. 551–565, 2021.
- MEZITI, A. et al. The reliability of metagenome-assembled genomes (MAGs) in representing natural populations: insights from comparing MAGs against isolate genomes derived from the same fecal sample. **Applied and environmental microbiology**, v. 87, n. 6, p. e02593-20, 2021.
- MICHAUD, L. et al. Predominance of Flavobacterium, Pseudomonas, and Polaromonas within the prokaryotic community of freshwater shallow lakes in the northern Victoria Land, East Antarctica. **FEMS microbiology ecology**, v. 82, n. 2, p. 391–404, 2012.
- MIKUCKI, J. A. et al. Subglacial Lake Whillans microbial biogeochemistry: a synthesis of current knowledge. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 374, n. 2059, p. 20140290, 2016.
- MILLÁN-AGUIÑAGA, N. et al. Awakening ancient polar Actinobacteria: diversity, evolution and specialized metabolite potential. **Microbiology**, v. 165, n. 11, p. 1169–1180, 2019.

MUKHIA, S. et al. Multilocus sequence based identification and adaptational strategies of *Pseudomonas* sp. from the supraglacial site of Sikkim Himalaya. **PLoS One**, v. 17, n. 1, p. e0261178, 2022.

NISSEN, J. N. et al. Improved metagenome binning and assembly using deep variational autoencoders. **Nature biotechnology**, v. 39, n. 5, p. 555–560, 2021.

NÚÑEZ-MONTERO, K.; BARRIENTOS, L. Advances in Antarctic research for antimicrobial discovery: a comprehensive narrative review of bacteria from Antarctic environments as potential sources of novel antibiotic compounds against human pathogens and microorganisms of industrial importance. **Antibiotics**, v. 7, n. 4, p. 90, 2018.

OGAKI, M. B. et al. Diversity and bioprospecting of cultivable fungal assemblages in sediments of lakes in the Antarctic Peninsula. **Fungal Biology**, v. 124, n. 6, p. 601–611, 2020.

ORELLANA-SAEZ, M. et al. In-depth genomic and phenotypic characterization of the antarctic psychrotolerant strain *Pseudomonas* sp. MPC6 reveals unique metabolic features, plasticity, and biotechnological potential. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 1154, 2019.

ORTIZ, M. et al. Microbial nitrogen cycling in Antarctic soils. **Microorganisms**, v. 8, n. 9, p. 1442, 2020.

PACHECO, N. et al. Exploiting the natural poly (3-hydroxyalkanoates) production capacity of Antarctic *Pseudomonas* strains: from unique phenotypes to novel biopolymers. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 46, n. 8, p. 1139–1153, 2019.

PANWAR, P. et al. Influence of the polar light cycle on seasonal dynamics of an Antarctic lake microbial community. **Microbiome**, v. 8, p. 1–24, 2020.

PARRILLI, E. et al. The art of adapting to extreme environments: the model system *Pseudoalteromonas*. **Physics of Life Reviews**, v. 36, p. 137–161, 2021.

PAVANKUMAR, T. L.; MITTAL, P.; HALLSWORTH, J. E. Molecular insights into the ecology of a psychrotolerant *Pseudomonas syringae*. **Environmental Microbiology**, v. 23, n. 7, p. 3665–3681, 2021.

PESSI, I. S. et al. On the use of high-throughput sequencing for the study of cyanobacterial diversity in Antarctic aquatic mats. **Journal of Phycology**, v. 52, n. 3, p. 356–368, 2016.

PICAZO, A. et al. Bacterioplankton community composition along environmental gradients in lakes from Byers Peninsula (Maritime Antarctica) as determined by next-generation sequencing. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 908, 2019.

PORETSKY, R. et al. Strengths and limitations of 16S rRNA gene amplicon sequencing in revealing temporal microbial community dynamics. **PloS one**, v. 9, n. 4, p. e93827, 2014.

POWELL, T. et al. Metagenome-assembled bacterial genomes from benthic microbial mats in ice-covered Lake Vanda, Antarctica. **Microbiology Resource Announcements**, v. 13, n. 5, p. e01250-23, 2024.

RAMASAMY, K. P. et al. Comprehensive insights on environmental adaptation strategies in Antarctic bacteria and biotechnological applications of cold adapted molecules. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1197797, 2023.

RAMÍREZ-FERNÁNDEZ, L. et al. Diversity of microbial communities and genes involved in nitrous oxide emissions in Antarctic soils impacted by marine animals as revealed by metagenomics and 100 metagenome-assembled genomes. **Science of the Total Environment**, v. 788, p. 147693, 2021.

RIZZO, C. et al. Cultivable bacterial communities in brines from perennially ice-covered and pristine Antarctic lakes: Ecological and biotechnological implications. **Microorganisms**, v. 8, n. 6, p. 819, 2020.

ROLDÁN, D. M. et al. Diversity and effect of increasing temperature on the activity of methanotrophs in sediments of fildes Peninsula freshwater lakes, King George Island, Antarctica. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 822552, 2022.

ROMANIUK, K. et al. Diversity and horizontal transfer of antarctic pseudomonas spp. plasmids. **Genes**, v. 10, n. 11, p. 850, 2019.

ROYO-LLONCH, M. et al. Compendium of 530 metagenome-assembled bacterial and archaeal genomes from the polar Arctic Ocean. **Nature Microbiology**, v. 6, n. 12, p. 1561–1574, 2021.

RUPARELIA, J. et al. Isolation methods for evaluation of extremophilic microbial diversity from Antarctica region. Em: **Microbial Diversity in Hotspots**. [s.l.] Elsevier, 2022. p. 267–289.

RZOSKA-SMITH, E. et al. DNA repair enzymes of the Antarctic Dry Valley metagenome. **Frontiers in microbiology**, v. 14, p. 1156817, 2023.

SALAZAR, V. W. et al. Metaphor—a workflow for streamlined assembly and binning of metagenomes. **GigaScience**, v. 12, p. giad055, 2023.

SATHYANARAYANA REDDY, G.; CHATTOPADHYAY, M. K.; SHIVAJI, S. Biodiversity, adaptation and biotechnological importance of bacteria occurring in cold climates. **Biotechnology of Extremophiles: Advances and Challenges**, p. 47–81, 2016.

SETUBAL, J. C. Metagenome-assembled genomes: concepts, analogies, and challenges. **Biophysical reviews**, v. 13, n. 6, p. 905–909, 2021.

SHERWELL, S. et al. Antarctic lake phytoplankton and bacteria from near-surface waters exhibit high sensitivity to climate-driven disturbance. **Environmental Microbiology**, v. 24, n. 12, p. 6017–6032, 2022.

SIEBER, C. M. et al. Recovery of genomes from metagenomes via a dereplication, aggregation and scoring strategy. **Nature microbiology**, v. 3, n. 7, p. 836–843, 2018.

SILVA, L. J. et al. Actinobacteria from Antarctica as a source for anticancer discovery. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 13870, 2020.

STYCZYNSKI, M. et al. Genome-based insights into the production of carotenoids by Antarctic bacteria, *Planococcus* sp. ANT_H30 and *Rhodococcus* sp. ANT_H53B. **Molecules**, v. 25, n. 19, p. 4357, 2020.

TAMANG, S. et al. Bacterial community structure, adaptations and prevalence of antimicrobial resistance in bacteria from Antarctica: A review. **Polar Science**, v. 40, p. 101034, 2024.

TRIBELLI, P. M. et al. Novel essential role of ethanol oxidation genes at low temperature revealed by transcriptome analysis in the Antarctic bacterium *Pseudomonas extremaustralis*. **PLoS One**, v. 10, n. 12, p. e0145353, 2015.

VARLIERO, G. et al. The use of different 16S rRNA gene variable regions in biogeographical studies. **Environmental Microbiology Reports**, v. 15, n. 3, p. 216–228, 2023.

VÁSQUEZ-PONCE, F. et al. Phylogenetic MLSA and phenotypic analysis identification of three probable novel *Pseudomonas* species isolated on King George Island, South Shetland, Antarctica. **Brazilian journal of microbiology**, v. 49, p. 695–702, 2018.

VELICHKO, N. et al. A survey of Antarctic cyanobacteria. **Hydrobiologia**, v. 848, n. 11, p. 2627–2652, 2021.

VICK-MAJORS, T. J.; PRISCU, J. C.; AMARAL-ZETTLER, L. A. Modular community structure suggests metabolic plasticity during the transition to polar night in ice-covered Antarctic lakes. **The ISME journal**, v. 8, n. 4, p. 778–789, 2014.

YUSOF, N. A.; HASHIM, N. H. F.; BHARUDIN, I. Cold adaptation strategies and the potential of psychrophilic enzymes from the antarctic yeast, *Glaciozyma antarctica* PI12. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 7, p. 528, 2021.

ZHOU, Y.; LIU, M.; YANG, J. Recovering metagenome-assembled genomes from shotgun metagenomic sequencing data: methods, applications, challenges, and opportunities. **Microbiological research**, v. 260, p. 127023, 2022.

ZHU, R. et al. Bacterial diversity is strongly associated with historical penguin activity in an Antarctic lake sediment profile. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 17231, 2015.

MATERIAL SUPLEMENTAR

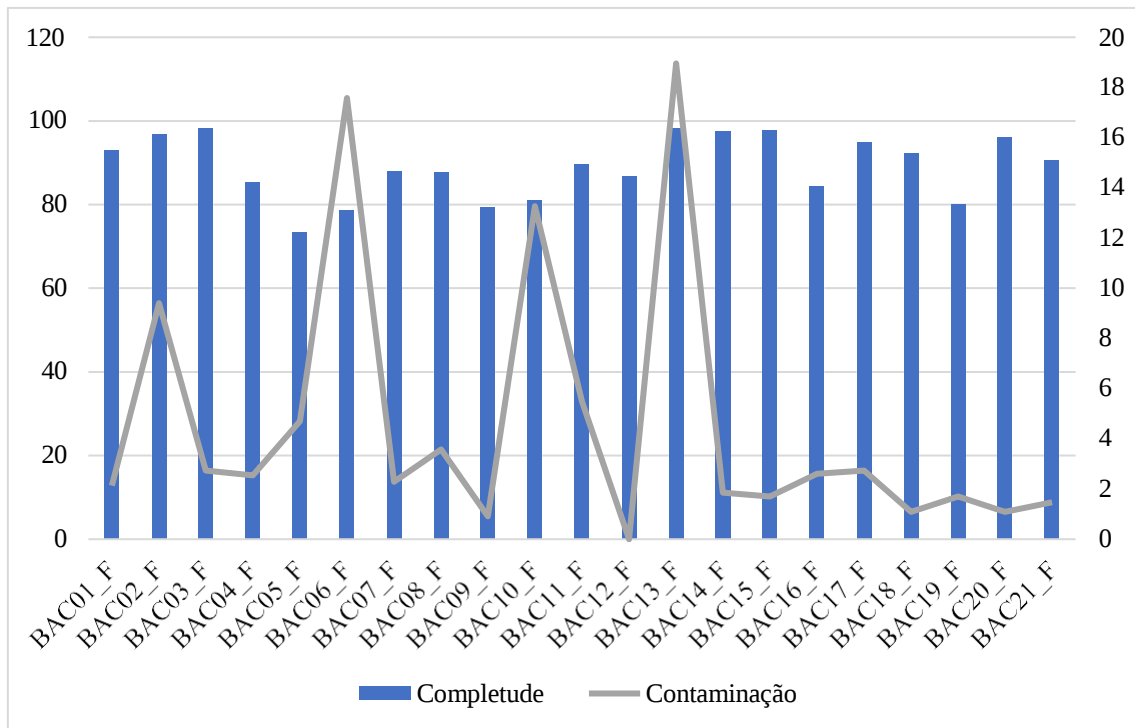


Figura suplementar 1. MAGs recuperadas nesse estudo que atenderam os requisitos mínimos de qualidade todos pertencentes ao domínio Bacteria. >70% de completude e <20% de contaminação.

Tabela suplementar 1. Características gerais dos genomas bacterianos recuperados a partir de metagenomas (MAGs). Identificação dos MAGs (ID MAG), classificação taxonômica atribuída pelo metaphor (*Metaphor classification*), classificação taxonômica obtida através do GTDB-Tk (*GTDB classification*), identificação dos genomas no SRA e no GenBank no NCBI (*SRA identifier e GenBank identifier*), número de *contigs* no genoma (*Contigs*), completude dos genomas (*Completeness*), contaminação dos genomas (*Contamination*), tamanho do genoma (Total length), conteúdo GC (GC%), comprimento mínimo do maior *contig* necessário para cobrir pelo menos 50% do genoma total (N50), sequência codificante de proteínas (CDS), RNA ribossomal (rRNA), RNA transportador (tRNA) e RNA transportador de mensagem (tmRNA).

ID MAG	<i>Metaphor classification</i>	<i>GTDB classification</i>	<i>SRA identifier</i>	<i>GenBank identifier</i>	<i>Contigs</i>	<i>Completeness</i>	<i>Contamination</i>	<i>Total length</i>	GC%	N50	CDS	rRNA	tRNA	tmRNA
BAC01_F	'c__Gammaproteobacteria', '# genomes'	d__Bacteria;p__Pseudomonadota;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__SZUA-36;g__SHZL01;s__	-	-	68	92.98	2.14	3,394,447	58.24	13	3124	-	34	-
BAC02_F	'c__Betaproteobacteria', '# genomes'	d__Bacteria;p__Pseudomonadota;c__Gammaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__JACQAP01;g__JACQAP01;s__	-	-	621	96.84	9.41	5,116,899	61.03	149	5082	2	49	1
BAC03_F	'o__Actinomycetales', '# genomas'	d__Bacteria;p__Actinomycetota;c__Actinomycetes;o__JACCUZ01;f__JACCUZ01;g__JACCUZ01;s__	-	-	296	98.37	2.74	3,640,181	72.66	62	3544	1	51	1
BAC04_F	'c__Betaproteobacteria', '# genomas'	d__Bacteria;p__Pseudomonadota;c__Gammaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__SG8-41;g__PALSA-1004;s__	-	-	509	85.37	2.55	4,047,937	62.20	121	3992	-	36	1
BAC05_F	'k__Bacteria', '# genomes'	d__Bacteria;p__Actinomycetota;c__UBA4738;o__UBA4738;f__HRBIN12;g__CALGFI01;s__	-	-	257	73.40	4.7	2,156,339	69.26	69	2177	-	33	1
BAC06_F	'k__Bacteria', '# genomes'	d__Bacteria;p__Actinomycetota;c__Acidimicrobiia;o__Acidimicrobiales;f__Ilumatobacteraceae;g___BACL27;s__	-	-	938	78.63	17.58	2,093,172	51.09	261	2037	-	43	-

BAC07_F	'k__Bacteria', # genomes'	d__Bacteria;p__Chl oroflexota;c__Limn ocylindria;o__QHB O01;f__QHBO01;g ____CF-167;s__	-	-	170	88.07	2.29	1,676,4 72	68.99	33	1710	1	30	1
BAC08_F	'k__Bacteria', # genomes'	d__Bacteria;p__Act inomycetota;c__UB A4738;o__UBA473 8;f__HRBIN12;g__ AC-51;s__	-	-	199	87.74	3.58	2,368,2 68	67.50	42	2377	1	39	-
BAC09_F	'k__Bacteria', # genomes'	d__Bacteria;p__Chl oroflexota;c__Limn ocylindria;o__Limn ocylindrales;f__CS P1- 4;g__SPCO01;s__	-	-	268	79.29	0.91	2,055,7 87	70.39	63	1946	1	35	-
BAC10_F	'k__Bacteria', # genomes'	d__Bacteria;p__Aci dobacteriota;c__The rmoanaerobaculia;o __Gp7- AA8;f__Gp7- AA8;g__s__	-	-	351	81.03	13.27	2,159,3 72	62.06	98	1952	-	21	1
BAC11_F	'k__Bacteria', # genomes'	d__Bacteria;p__Ge mmatimonadota;c__ Gemmatimonadetes ;o__Gemmatimonad ales;f__Gemmatimo nadaceae;g__UBA4 720;s__	-	-	44	89.61	5.49	3,084,5 10	62.29	5	2820	2	50	-
BAC12_F	'k__Bacteria', # genomes'	d__Bacteria;p__Eis enbacteria;c__RBG- 16-71-46;o__RBG- 16-71-46;f__RBG- 16-71- 46;g__JAIOPA01;s__	-	-	111	86.81	0.0	3,847,0 76	68.98	23	3160	2	41	1
BAC13_F	'k__Bacteria', # genomes'	d__Bacteria;p__Pse udomonadota;c__G ammaproteobacteria ;o__Pseudomonadal es;f__Pseudomonad aceae;g__Pseudomo nas_E;s__Pseudom onas_E sp002874965	-	-	432	98.27	18.96	7,749,3 25	60.80	76	7109	3	75	1

BAC14_F	'k__Bacteria', # genomes'	d__Bacteria;p__Actinomyces; c__Acidimicrobia; o__Acidimicrobiales; f__Ilumatobacteraceae; g__JAENVT01; s__	-	-	91	97.43	1.85	4,604,696	65.88	15	4366	2	53	-
BAC15_F	'k__Bacteria', # genomes'	d__Bacteria;p__Planctomycetota; c__Phycisphaerae; o__UBA1845; f__UBA1845; g__SBAX01; s__	-	-	166	97.72	1.70	3,527,940	60.53	35	3085	2	47	-
BAC16_F	'k__Bacteria', # genomes'	d__Bacteria;p__Acidobacteriota; c__Vicinamibacteria; o__Fen-336; f__Fen-336; g__	-	-	619	84.40	2.61	4,586,656	68.66	164	4172	1	43	-
BAC17_F	'k__Bacteria', # genomes'	d__Bacteria;p__Acidobacteriota; c__Blastocatellia; o__Pyrimonadales; f__Pyrimonadaceae; g__UBA11740; s__	-	-	266	94.87	2.73	5,738,881	55.79	52	5054	-	72	1
BAC18_F	'k__Bacteria', # genomes'	d__Bacteria;p__Eisenbacteria; c__RBG-16-71-46; o__RBG-16-71-46; f__RBG-16-71-46; g__JACOSU01; s__	-	-	71	92.30	1.09	3,267,454	68.18	11	2762	2	44	1
BAC19_F	'k__Bacteria', # genomes'	d__Bacteria;p__Acidobacteriota; c__UBA6911; o__RPQK01; f__	-	-	459	80.00	1.70	2,764,521	59.54	134	2377	-	28	1
BAC20_F	'k__Bacteria', # genomes'	d__Bacteria;p__Bacteroidota; c__UBA10030; o__UBA10030; f__UBA10030; g__2-02-FULL-55-14; s__	-	-	83	96.15	1.09	3,108,335	53.25	16	2638	3	45	1
BAC21_F	'p__Bacteroidetes', # genomes'	d__Bacteria;p__Bacteroidota; c__Bacteroidia; o__Chitinophagales; f__Chitinophagaceae; g__JJ008; s__	-	-	239	90.72	1.47	3,278,430	39.55	47	2926	1	33	1