



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

ÂNGELO FELIPE BARBOSA DE OLIVEIRA

MICROBIOMAS DE PRAIAS URBANAS EXPOSTOS À POLUIÇÃO APRESENTAM
RESISTÊNCIA ANTIBIÓTICA E POTENCIAL METABÓLICO PARA DEGRADAÇÃO
DE XENOBIÓTICOS: UMA ABORDAGEM COM NANOPORE

BELÉM-PA

2025

ÂNGELO FELIPE BARBOSA DE OLIVEIRA

MICROBIOMAS DE PRAIAS URBANAS EXPOSTOS À POLUIÇÃO APRESENTAM
RESISTÊNCIA ANTIBIÓTICA E POTENCIAL METABÓLICO PARA DEGRADAÇÃO
DE XENOBIÓTICOS: UMA ABORDAGEM COM NANOPORE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Genética e Biologia Molecular da Universidade
Federal do Pará, como parte dos requisitos necessários
para obtenção do título de Mestre em Genética e Biologia
Molecular.

Linha de pesquisa: Genética de microrganismos.

Orientador: Prof^o Dr. Diego Assis das Graças

BELÉM-PA

2025

ÂNGELO FELIPE BARBOSA DE OLIVEIRA

MICROBIOMAS DE PRAIAS URBANAS EXPOSTOS À POLUIÇÃO APRESENTAM
RESISTÊNCIA ANTIBIÓTICA E POTENCIAL METABÓLICO PARA DEGRADAÇÃO
DE XENOBIÓTICOS: UMA ABORDAGEM COM NANOPORE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Genética e Biologia Molecular da Universidade
Federal do Pará, como parte dos requisitos necessários
para obtenção do título de Mestre em Genética e Biologia
Molecular.

Linha de pesquisa: Genética de microrganismos.

Orientador: Profº Dr. Diego Assis das Graças

DATA DE APROVAÇÃO: __/__/____.

CONCEITO:

BANCA EXAMINADORA

Prof.º Dr. Diego Assis das Graças - Orientador
PPGBM - Universidade Federal do Pará

Dra. Ana Carolina Favacho Miranda - Interno
PPGBM - Universidade Federal do Pará

Dr. Fabiano Cordeiro Moreira - Interno
PPGBM - Universidade Federal do Pará

Dra. Amanda Gonçalves Bendia - Externo
PPGO - Universidade de São Paulo

Dr. Rafael Azevedo Baraúna - Suplente
PPGBM - Universidade Federal do Pará

RESUMO

Ecossistemas costeiros desempenham papéis essenciais na manutenção da biodiversidade e na oferta de serviços ecossistêmicos, mas estão cada vez mais sujeitos aos impactos da urbanização acelerada, poluição e mudanças climáticas. As praias urbanas, em particular, estão expostas a elevados níveis de contaminantes orgânicos e químicos oriundos de atividades antrópicas, como despejos domésticos e industriais, o que resulta em alterações profundas na estrutura das comunidades microbianas locais. Microrganismos são elementos fundamentais nos ambientes costeiros, atuando na ciclagem de nutrientes, decomposição da matéria orgânica, degradação de poluentes e na manutenção da saúde ecossistêmica. No entanto, alterações nos parâmetros físico-químicos induzidas por atividades humanas podem favorecer táxons oportunistas e resistentes, potencialmente comprometendo processos ecológicos críticos. Neste estudo, caracterizamos a diversidade bacteriana e os perfis funcionais em praias urbanas e insulares de Belém, Brasil. As análises de diversidade alfa e beta revelaram que as praias urbanas apresentaram maior riqueza e plasticidade funcional, associadas à entrada de poluentes e à heterogeneidade ambiental, enquanto praias insulares sustentaram microbiomas mais especializados e estáveis. O perfil taxonômico indicou a dominância de *Pseudomonas* e *Vibrio* nas praias urbanas, e de *Synechococcus* e *Candidatus Pelagibacter* nas praias insulares. A análise metagenômica funcional revelou um enriquecimento de genes relacionados à degradação de xenobióticos, resistência a antibióticos e resposta ao estresse nos microbiomas urbanos, em contraste com genes associados à produção de energia e especialização biossintética dos microbiomas insulares. Esses achados enfatizam a divergência ecológica entre ambientes costeiros impactados e naturais, ressaltando a importância do monitoramento de microbiomas para subsidiar estratégias de conservação e gestão sustentável dos ecossistemas costeiros.

Palavras chave: metagenômica; sequenciamento nanopore; microbiomas; resistência a antibióticos; resistência à xenobióticos.

ABSTRACT

Coastal ecosystems play essential roles in biodiversity maintenance and the provision of ecosystem services but are increasingly impacted by rapid urbanization, pollution, and climate change. Urban beaches, in particular, are exposed to high levels of organic and chemical contaminants from anthropogenic activities such as domestic and industrial discharges, leading to profound alterations in local microbial community structure. Microorganisms are fundamental in coastal environments, driving nutrient cycling, organic matter decomposition, pollutant degradation, and overall ecosystem health. However, shifts in physicochemical parameters induced by human activities can favor opportunistic and resistant taxa, potentially disrupting critical ecological processes. In this study, we characterized bacterial diversity and functional profiles in urban and island beaches from Belém, Brazil. Alpha and beta diversity analyses revealed that urban beaches exhibited higher richness and functional plasticity, associated with pollutant input and environmental heterogeneity, while island beaches supported specialized and stable microbiomes. Taxonomic profiling indicated a dominance of *Pseudomonas* and *Vibrio* in urban beaches and *Synechococcus* and *Candidatus Pelagibacter* in island beaches. Functional metagenomic analysis showed enrichment of genes related to xenobiotic degradation, antibiotic resistance, and stress response in urban microbiomes, contrasting with energy production and biosynthetic specialization in island microbiomes. These findings emphasize the ecological divergence between impacted and natural coastal environments, highlighting the need for microbiome monitoring to inform conservation strategies and the sustainable management of coastal ecosystems.

Keywords: metagenomics; nanopore sequencing; microbiomes; antibiotic resistance; xenobiotic resistance.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	7
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	9
2.1. Metagenômica.....	9
2.2. Sequenciamento de próxima geração –Next-Generation Sequencing (NGS).....	9
2.2.1. Sequenciamento por nanoporos –Nanopore Sequencing.....	9
2.3. Microbiomas.....	10
2.3.1. Microbioma aquático.....	10
2.4. Balneabilidade e saúde pública.....	11
2.5. Bactérias multirresistentes e ARGs.....	12
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
3.1. Local do estudo e coleta de amostras.....	13
3.2. Processamento das amostras.....	13
3.3. Sequenciamento e processamento de DNA: Amplicon e Shotgun.....	14
4. RESULTADOS.....	17
4.1. Parâmetros físico-químicos no local de amostragem.....	17
4.2. DATA output e rendimento.....	17
4.3. Diversidade alfa.....	18
4.4. Diversidade beta.....	19
4.5. Estrutura taxonômica.....	20
4.6. Análise diferencialmente abundante (DESeq).....	21
4.7. Análise Comparativa dos Perfis Metagenômicos: Praias Urbanas vs. Praias Insulares.....	24
5. DISCUSSÃO.....	26
5.1. Parâmetros físico-químicos.....	26
5.2. Estrutura microbiana.....	26
5.3. Análises estatísticas diferenciais com DESeq2.....	32
5.4. Táxons mais abundantes e suas funções ecológicas.....	33
5.5. Diversidade funcional das comunidades bacterianas e análise comparativa dos perfis metagenômicos em praias urbanas versus praias insulares.....	35
5.6. Potencial de Degradação de Xenobióticos e Resistência a Antibióticos.....	40
5.7. Implicações para reservatórios de patógenos e transferência de genes associados a contaminantes.....	42
5.8. Categorias cog de baixa abundância, mas ecologicamente importantes.....	43
5.9. Reservatório genético não caracterizado / conteúdo genômico não anotado ou “matéria escura microbiana”.....	43
6. CONCLUSÃO.....	45
REFERÊNCIAS.....	46

1. INTRODUÇÃO

Os ecossistemas costeiros são ambientes dinâmicos nos quais as comunidades microbianas desempenham funções ecológicas essenciais, como a ciclagem de nutrientes, a decomposição da matéria orgânica e a estabilidade biogeoquímica (Zhi et al., 2023). A diversidade bacteriana impulsiona esses processos, influenciando a resiliência dos ecossistemas frente a pressões naturais e antrópicas. Urbanização, poluição e mudanças climáticas ameaçam essas comunidades microbianas, ressaltando a importância de estudos que investiguem como fatores ambientais afetam sua estrutura e funcionalidade (Sharpe et al., 2023).

A urbanização introduz poluentes como resíduos orgânicos, metais pesados e contaminantes emergentes, os quais alteram a diversidade microbiana e a composição das comunidades, frequentemente favorecendo táxons oportunistas e resistentes ao estresse. Em contrapartida, ambientes insulares, com menor impacto antrópico, oferecem uma linha de base para a compreensão da organização e funcionalidade natural dos microrganismos. A comparação entre comunidades microbianas desses ambientes fornece subsídios valiosos sobre adaptação microbiana, resiliência ecológica e sucessão ecológica (Zhao et al., 2022; Miglani et al., 2022).

Métricas de diversidade alfa, como os estimadores de riqueza (Chao1, ACE) e os índices de diversidade (Shannon, Simpson), refletem a estrutura das comunidades microbianas (Finn, 2024). Praias urbanas tendem a apresentar maior riqueza e diversidade, impulsionadas por múltiplas fontes microbianas e heterogeneidade ambiental. Já as praias insulares abrigam comunidades mais especializadas e estáveis, moldadas por gradientes ambientais naturais.

As análises de diversidade beta, utilizando técnicas como Análise de Coordenadas Principais (PCoA) e Análise de Redundância (RDA), evidenciam as diferenças na composição das comunidades entre os sítios amostrados. Tais análises demonstram como fatores ambientais, como pH, turbidez, oxigênio dissolvido e temperatura, estruturam os agrupamentos microbianos, indicando diferenciação de nicho entre praias urbanas e insulares (Liu et al., 2020).

O perfil funcional baseado nas categorias COG (Clusters of Orthologous Groups) revela que os microbiomas urbanos são enriquecidos com genes relacionados à degradação de xenobióticos, resistência a antibióticos e adaptação ao estresse (Cantalapiedra et al., 2021). Em contraste, microbiomas insulares priorizam vias metabólicas primárias voltadas à

produção de energia, biossíntese e ciclagem de nutrientes, refletindo estratégias ecológicas distintas, moldadas pela influência antrópica.

A detecção de táxons patogênicos e oportunistas, especialmente em ambientes urbanos, levanta preocupações quanto à segurança das águas costeiras e à disseminação de genes de resistência antimicrobiana. Por outro lado, praias insulares abrigam predominantemente microrganismos fototróficos e envolvidos na ciclagem de nutrientes, ressaltando seu valor ecológico na preservação da diversidade microbiana natural.

Este estudo tem como objetivo caracterizar as comunidades bacterianas em praias urbanas e insulares por meio da integração de dados taxonômicos, funcionais e ambientais. Busca-se compreender o impacto da urbanização na estrutura das comunidades microbianas, identificar bioindicadores da saúde ambiental e explorar o potencial biotecnológico de consórcios microbianos em contextos costeiros contrastantes. Esta pesquisa contribui para o monitoramento ambiental, conservação e uso sustentável dos recursos microbianos frente ao avanço das pressões antrópicas (Alanzi, 2024).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Metagenômica

A genômica é um ramo da genética que estuda toda a informação genética de um organismo que está codificada em seu DNA ou em seu RNA, como em casos de alguns vírus, este conjunto de informação gênica também é chamada de genoma (Pace, 1997, Gibson et al., 2009).

A metagenômica é a análise genômica de uma determinada comunidade de microrganismos presentes em um ambiente, utilizando técnicas independentes de cultivo (Pace, 1997). Esta análise consiste na extração do material genético diretamente do ambiente em questão, construindo um conjunto de dados misto, permitindo o acesso a genes de bactérias e outros microrganismos não cultiváveis (Simon et al., 2023).

A metagenômica permite o estudo de microrganismos de maneira individual, todavia, limitando-se à avaliação da filogenia, taxonomia e uma estimativa da diversidade microbiana da biosfera estudada (Amann et al., 1995, Oliva et al., 2024).

2.2. Sequenciamento de próxima geração –*Next-Generation Sequencing* (NGS)

Introduzido entre os anos de 2004 e 2006, as tecnologias de sequenciamento de nova geração transformando o campo biomédico, aumentando significativamente o data-output dos sequenciamentos (Mardis, 2013). O aumento na quantidade de saída de dados é devido às inovações em nanotecnologia que permitem sequenciamento paralelo massivo de uma única molécula de DNA.

As abordagens das plataformas de sequenciamento de segunda geração tais como Ion Torrent ou Illumina normalmente começam com a fragmentação do DNA, reparo, ligação de adaptadores e amplificação in-situ, gerando fragmentos pequenos ou “short-read”. Já os sequenciamentos de terceira geração, como o Nanopore da Oxford Nanopore Technologies®, geram fragmentos maiores ou “long-read”, de tamanhos maiores de 10 kb (Hu et al., 2021).

2.2.1. Sequenciamento por nanoporos –*Nanopore Sequencing*

Desenvolvido pela empresa Oxford Nanopore Technologies® a tecnologia Nanopore permite o sequenciamento de fragmentos pequenos e grandes simultaneamente de maneira mais precisa, com fragmentos excedendo os 4 Mb de contigs (trechos ininterruptos de DNA sobreposto) (Buytaers et al., 2024, Kaviarasu et al., 2024, Spohr et al., 2024).

A utilização do Nanopore permite o sequenciamento completo de genomas e plasmídeos com leituras de tamanhos quase irrestritos, permitindo a identificação taxonômica a nível de espécie, caracterização de genes e fatores de virulência em tempo real, identificar a α -diversidade e β -diversidade além de possibilitar o estudo de expressão gênica e o perfil funcional de comunidades microbianas (Girgis et al., 2022, Zhao et al., 2023).

2.3. Microbiomas

É uma comunidade de microrganismos que podem ser encontrados vivendo em conjunto em qualquer ambiente, tendo sua definição em 1988 por Whipps et al. diferindo de microbiota, que são os membros presentes que formam o microbioma. Sendo as bactérias, arqueias, fungos, algas e alguns protistas sendo parte destes microbiomas, com os vírus, fagos, plasmídeos e outros elementos genéticos móveis sendo controversos dentre a comunidade científica (Berg et al., 2020, Boctor et al., 2023).

Microrganismos interagem entre si, algumas destas interações são simbióticas e possuem impacto direto na aptidão, dinâmica populacional e capacidade funcional do microbioma (Semenov et al., 2007, Banerjee et al., 2018). Estas interações podem ser entre indivíduos de espécies distintas, gêneros, famílias e domínios, podendo ser separadas em interações positivas, negativas ou neutras (Jiang et al., 2017, Unc et al., 2006).

Interações positivas são aquelas que podem ser identificadas como mutualistas, sinérgicas ou sendo de comensalismo. As negativas incluem amensalismo, parasitismo, predatórias, antagonistas ou de maneira competitiva. Já as interações neutras são as que não se é possível identificar efeitos positivos ou negativos nas capacidades funcionais ou de aptidão entre as espécies que interagem (Banerjee et al., 2018, Kern et al., 2021).

2.3.1. Microbioma aquático

O ciclo da água urbana é um exemplo de como a atividade humana pode afetar os ambientes aquáticos, onde as águas acabam desaguando em rios e lagos, transferindo microrganismos da rede urbana para o meio ambiente (Karkman et al., 2019, Leonard et al., 2022). O microbioma aquático é fundamental para a reciclagem de nutrientes e no ciclo do carbono, oxigênio e na manutenção das propriedades químicas e físicas da água, impactando outras formas de vida marinha (Cloern e Dufford 2005, 2014, Costa et al., 2009, Archana et al., 2021).

Cianobactérias constituem a maior parte da comunidade microbiana marinha (Delong et al., 2006, Coutinho et al., 2016). Estudos sobre a biodiversidade de águas usando abordagens metagenômicas aumentaram o conhecimento sobre a composição taxonômica, funcional e metabólica e abundância relativa de genes e sua interação com uma variedade de parâmetros do ambiente em diferentes tipos de corpos aquáticos (Venter et al., 2004, Delong et al., 2006, Sunagawa et al., 2015, Diez et al., 2016).

O litoral do Brasil possui mais de cem estuários, porém os estudos utilizando técnicas metagenômicas com o objetivo de avaliar o microbioma nestes ecossistemas são levianos, sendo o estudo realizado em 2012 na baía de Guanabara, no Rio de Janeiro avaliando a qualidade da água na baía e a presença de microrganismos patogênicos o mais relevante até então (Gregoracci et al., 2012).

2.4. Balneabilidade e saúde pública

Mais de 50% da população global vive em áreas urbanas e grande parte das águas de escoamento provindo de chuvas e águas residuais acabam em infraestruturas de esgoto, integrando o ciclo da água. Na medida que estas águas escoam para cursos naturais como rios e praias, parte de microbiomas humanos e animais são lançados no meio ambiente, refletindo fontes de contaminação e poluição fecal. Altas quantidades de microrganismos são transportados por meio de canos para águas costeiras, além do mais, o sistema de esgoto possui sua própria comunidade bacteriana única, e quando são transportados para a natureza podem acarretar em criação de reservatórios para patógenos emergentes, alteração do fluxo de nutrientes de cadeias aquáticas naturais e troca genética entre diversos pools genéticos distintos, permitindo a expansão e permanência de microrganismos resistentes em meios que antes permaneciam estáveis biologicamente (Yang et al., 2023, Mclellan et al., 2015).

A maioria das práticas regulatórias de monitoramento de rotina da qualidade da água e balneabilidade se baseiam em métodos de cultura convencional e contagem de colônias de bactérias indicadoras fecais (FIB) (Yang et al., 2023). Em Belém o órgão responsável pela realização dos testes de balneabilidade é a Secretaria Municipal de Meio Ambiente (SEMMA), e as análises utilizadas para determinar a balneabilidade se baseiam na resolução CONAMA nº 274 de novembro de 2000.

A resolução estabelece os parâmetros de salinidade, coliformes fecais (termotolerantes), *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp. e floração. Tal resolução acaba não fornecendo dados sobre outras bactérias patogênicas, como por exemplo *Vibrio cholerae*,

Staphylococcus spp., *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., alguns vírus como o vírus da Hepatite A, dentre outros. Devido ao uso de metodologias dependentes de cultura, alguns microrganismos acabam não sendo detectados, pois muitos não são cultiváveis por métodos tradicionais, sendo necessárias abordagens metagenômicas.

2.5. Bactérias multirresistentes e ARGs

A resistência à antibiótico ou resistência antimicrobiana é a capacidade de um microrganismo de resistir a uma medicação que já foi utilizada ao seu combate, normalmente à antibióticos. Quando um microrganismo passa a resistir a dois ou mais medicamentos este passa a ser considerado multirresistente (Lindenberg et al., 2024, Sun et al., 2024, Niu et al., 2024).

Estas resistências podem aparecer de maneiras diferentes, de maneira natural, mutação genética ou através de transferência horizontal de espécie para outra (recentemente foi descoberto que algumas espécies de bactérias podem adquirir material genético de outros microrganismos de outras classes taxonômicas) (Niu et al., 2021, Telling et al., 2018, Moreau et al., 2028, Reichard et al., 2016).

ARGs são os genes presentes no material genético dos microrganismos que conferem resistência ao medicamento. Diversos organismos possuem diferentes resistências, como os fungos à antifúngicos, vírus à antivirais dentre outros. No caso das bactérias, estas possuem resistência à antibióticos (Larsson and Flach, 2022).

Quando falamos de transferência horizontal um agravante se torna o descarte irregular de esgoto, que pelo mais tardar, acaba desaguando em galerias subterrâneas ou diretamente em rios e lagos, levando à proliferação de ARGs (Bain et al., 2014, Pal et al., 2016, Karkman et al., 2018, Karkman et al., 2019, Leonard et al., 2022).

Fezes humanas são comprovadamente reservatórios de ARGs (Karkman et al., 2019, Leonard et al., 2022), logo o descarte destes resíduos à natureza de forma não tratada ou parcialmente tratada, contribui com a disseminação de ARGs para o ambiente e para outros microrganismos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Local do estudo e coleta de amostras

As amostras foram coletadas em julho de 2024, abrangendo 10 praias distintas para a obtenção de amostras de água superficial ambiental. A coleta foi realizada com sacos estéreis Whirl-Pak® Standard, sendo coletada uma amostra por praia (n=10), cada uma contendo 1 litro. Para a nomenclatura das amostras, utilizaram-se os distritos urbanos: ICO para o distrito de Icoaraci, OUT para o distrito de Outeiro e COT para o distrito da ilha de Cotijuba. No entanto, para fins analíticos, as amostras foram agrupadas em dois grupos: o grupo urbano (distritos de Icoaraci e Outeiro) e o grupo insular (distrito de Cotijuba) (os pontos de coleta estão representados no Mapa 01). Em cada local, também foram coletados 2 litros de água adjacentes para análises de parâmetros físico-químicos. Metadados adicionais, incluindo coordenadas exatas dos pontos de amostragem, bem como características geográficas, regionais e climáticas, foram registrados.

mapa 01. Pontos de coleta



3.2. Processamento das amostras

As amostras foram acondicionadas em recipientes isotérmicos (~4–6 °C) durante o transporte até o Laboratório de Engenharia Biológica (ENGBIO, PCT Guamá) para extração de material genético e análises biomoleculares, e para o Instituto Evandro Chagas, Seção de Meio Ambiente (SEAMB/IEC), para análise físico-química no mesmo dia da coleta. O processamento foi iniciado logo após a chegada ao laboratório, utilizando-se o método de centrifugação a frio para precipitação do material, seguido da extração do precipitado. A centrifugação foi realizada a 5000 g por 5 minutos a 4 °C, com posterior descarte do sobrenadante e coleta dos pellets em tubos Falcon estéreis de 15 mL para extração de DNA.

A extração foi realizada utilizando o kit SPINeasy® DNA para Microbioma (MP Biomedicals), seguindo as instruções do fabricante. O DNA extraído foi armazenado a -20 °C até a amplificação do gene 16S rDNA por PCR e sequenciamento shotgun. Para cada amostra de DNA extraído, a concentração de DNA fita dupla (dsDNA) foi quantificada com fluorímetro Qubit (Invitrogen, Waltham, MA, EUA), utilizando o kit Qubit dsDNA High Sensitivity Assay, e a pureza foi determinada com espectrofotômetro NanoDrop lite (Invitrogen, Thermo Scientific, MA, EUA). A amplificação foi realizada com 5 ng de DNA por amostra, utilizando PCR de amplicon visando o gene 16S rRNA completo com os primers 16S-27F (5'- AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG -3') e 16S-1492R (5'- CGG TTA CCT TGT TAC GAC TT -3'). As concentrações de dsDNA foram novamente medidas após a PCR de amplicon.

As análises físico-químicas seguiram práticas padrão de monitoramento ambiental da qualidade da água. Foram avaliadas in situ as variáveis: pH, oxigênio dissolvido (OD), condutividade elétrica, salinidade, temperatura e sólidos totais dissolvidos (STD), utilizando uma sonda multiparâmetros portátil (HI9829, HANNA®, EUA), previamente calibrada conforme especificações do fabricante. A alcalinidade foi determinada por titulação volumétrica, seguindo procedimentos titulométricos clássicos. A turbidez foi medida por espectrofotometria, utilizando um espectrofotômetro DR3900 (HACH®, EUA). As concentrações de cloreto (Cl⁻), nitrito (N-NO₂⁻), nitrato (N-NO₃⁻), sulfato (SO₄²⁻), sódio (Na⁺), potássio (K⁺), cálcio (Ca²⁺) e magnésio (Mg²⁺) foram quantificadas por cromatografia iônica utilizando o sistema de dois canais ICS3000DUAL (Thermo Scientific/DIONEX®, EUA), operado conforme protocolo do fabricante para análise de águas ambientais.

3.3. Sequenciamento e processamento de DNA: Amplicon e Shotgun

Para o sequenciamento do gene 16S, a preparação das bibliotecas foi realizada utilizando o kit Ligation Sequencing Kit Amplicon - Native Barcoding Kit 96 V14 (SQD-114.96, Oxford Nanopore Technologies), com 200 ng de cada amplicon e aplicação final de 200 fmol. As leituras brutas em formato FASTQ foram avaliadas com FastQC e MultiQC (De Coster et al., 2018). As sequências foram filtradas com Filtlong, removendo leituras inferiores a 1000 pb. O filtro por qualidade média não foi necessário, visto que o software nativo da plataforma (PromethION 2 Solo) já descarta leituras com escore de qualidade abaixo de Q10. A média de qualidade foi Q15, com comprimento médio das leituras em torno de 1580 pb.

A classificação taxonômica foi realizada com base no banco de dados 16S rRNA (Sayers et al., 2020). As tabelas taxonômica e de abundância, bem como a árvore filogenética, foram geradas utilizando Kraken2, Bracken, MAFFT e FastTree (Katoh et al., 2013; Wood et al., 2019; Lu et al., 2017; Price et al., 2010). Esses resultados, juntamente com a tabela de metadados, foram importados para o ambiente RStudio (versão R-4.5.0), utilizando os pacotes phyloseq (v3.2.1) e vegan (v2.6-10) para análises posteriores (McMurdie et al., 2013; Oksanen et al., 2024). O objeto physeq retornou 8875 táxons em 10 amostras, distribuídos em 7 níveis taxonômicos e 18 variáveis de amostra. Leituras associadas a táxons não observados foram excluídas para refinar o conjunto de dados do microbioma. O filtro taxonômico foi realizado conforme descrito por Callahan et al. (2016).

A cobertura do sequenciamento por amplicon foi avaliada por curva de rarefação, revelando um platô em aproximadamente 100.000 leituras, indicando que a profundidade de sequenciamento foi suficiente para representar a diversidade presente. À medida que o número de amostras aumentou, as curvas se aproximaram de uma assíntota, sugerindo que a maioria das espécies presentes foi adequadamente amostrada.

Para o sequenciamento shotgun, a preparação das bibliotecas foi realizada com o Ligation Sequencing gDNA - Native Barcoding Kit 96 V14 (SQK-NBD114.96, Oxford Nanopore Technologies), utilizando 400 ng de DNA por amostra. O filtro por qualidade média foi igualmente desnecessário devido ao processamento automático da plataforma PromethION 2 Solo, sendo que leituras menores que 500 pb foram descartadas com Filtlong.

A montagem dos contigs foi realizada com a ferramenta Flye v2.9.5, utilizando o parâmetro --meta, recomendado para dados metagenômicos (Kolmogorov et al., 2020), e com o Megahit v1.2.9 (Li et al., 2015). Os arquivos de cobertura foram gerados com Minimap2 v2.28-r1209 (Li et al., 2018) e Samtools v1.16.1 (Danecek et al., 2021), alinhando as

sequências FASTQ aos genomas montados em FASTA. A avaliação da qualidade foi novamente conduzida com FastQC e MultiQC (Ewels et al., 2016).

Com os arquivos processados, a predição gênica foi realizada com Prodigal v2.6.3 utilizando o parâmetro --meta (ajustado para metagenomas), seguida da anotação funcional com eggNOG-mapper (Cantalapiedra et al., 2021; Huerta-Cepas et al., 2018; Buchfink et al., 2021; Steinegger & Söding, 2017), visando a comparação da abundância de categorias funcionais entre amostras.

Para visualização gráfica das diferenças funcionais, foram utilizados pacotes em R como o ggplot2, bem como análises de enriquecimento funcional com os pacotes GSeq e ClusterProfiler, permitindo identificar categorias funcionais enriquecidas entre os grupos analisados.

4. RESULTADOS

4.1. Parâmetros físico-químicos no local de amostragem

Os valores medianos de diversos parâmetros físico-químicos foram medidos em duas localidades distintas: Urbana e Insular. A tabela também apresenta o desvio padrão ($\pm$ DP) para cada parâmetro, fornecendo uma visão geral da variabilidade dentro das respectivas amostras (**Tabela T1**).

Tabela T1: Mediana dos Parâmetros Físico-Químicos por Localidade

Parâmetro	Urbana	$\pm$ DP	Insular	$\pm$ DP
Temperatura ($^{\circ}$ C)	33.4	2.1	37.0	0
pH	6.8	0.15	7.5	0.1
Temperatura da amostra	30	1	26.4	2.7
Condutividade (μ S/cm)	416.2	36.3	1516.4	152.3
Sólidos totais dissolvidos (mg/L)	208.2	17.8	738.2	35.4
Oxigênio dissolvido (mg/L)	5.8	0.1	4.0	0.1
Salinidade (psu/ppt)	0.2	0.01	0.74	0.02
Turbidez (NTU)	41.1	6.6	66.7	4.5
Cloreto (mg/L)	237.3	237.2	458.0	28.1
Nitrato (mg/L)	0.41	0.4	1.7	0.3
Nitrito (mg/L)	0.0	0	0.0	0
Sulfato (mg/L)	33.2	4.3	46.0	21
Sódio (mg/L)	201.0	60	371.9	57
Potássio (mg/L)	889.5	195	646.9	386
Magnésio (mg/L)	21.0.	2.9	19.5	7.5
Cálcio (mg/L)	10.0	1.1	11.2	1.9
Alcalinidade (mg/L)	23.0	7.3	28.8	3.2

4.2. DATA output e rendimento

Tabela T2. Identificação das Amostras e Rendimento do Sequenciamento

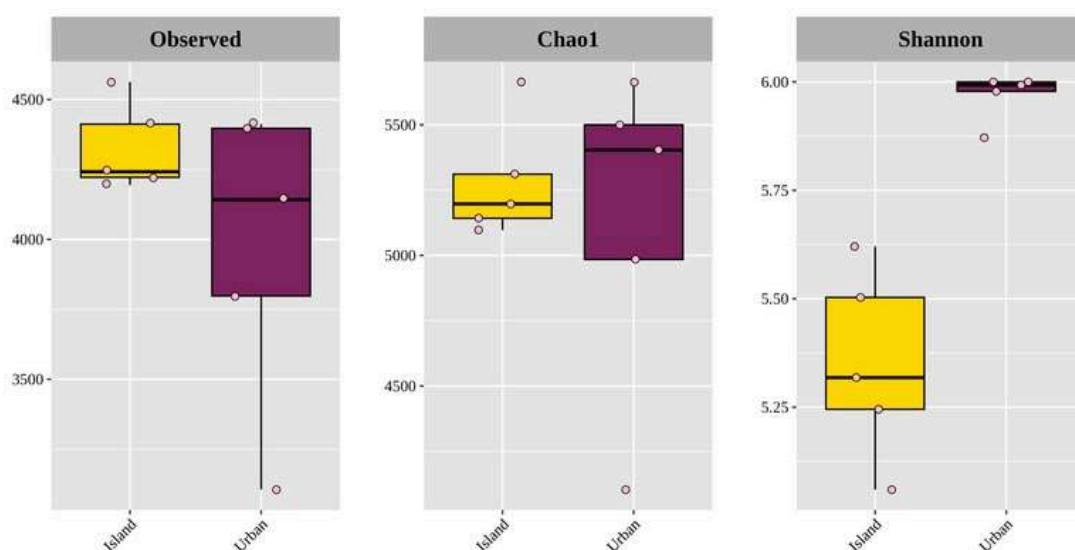
Sample ID	Beach Type	Amplicon reads	Shotgun Reads
ICO1	urban	92.035	1.7M
OUT1	urban	155.883	2.2M
OUT2	urban	91.269	1.5M
OUT3	urban	115.524	1.3M
OUT4	urban	135.968	1.5M
COT1	island	142.034	147K
COT2	island	156.063	262K

Sample ID	Beach Type	Amplicon reads	Shotgun Reads
COT3	island	140.102	184K
COT4	island	173.952	122K
COT5	island	125.383	137K

4.3. Diversidade alfa

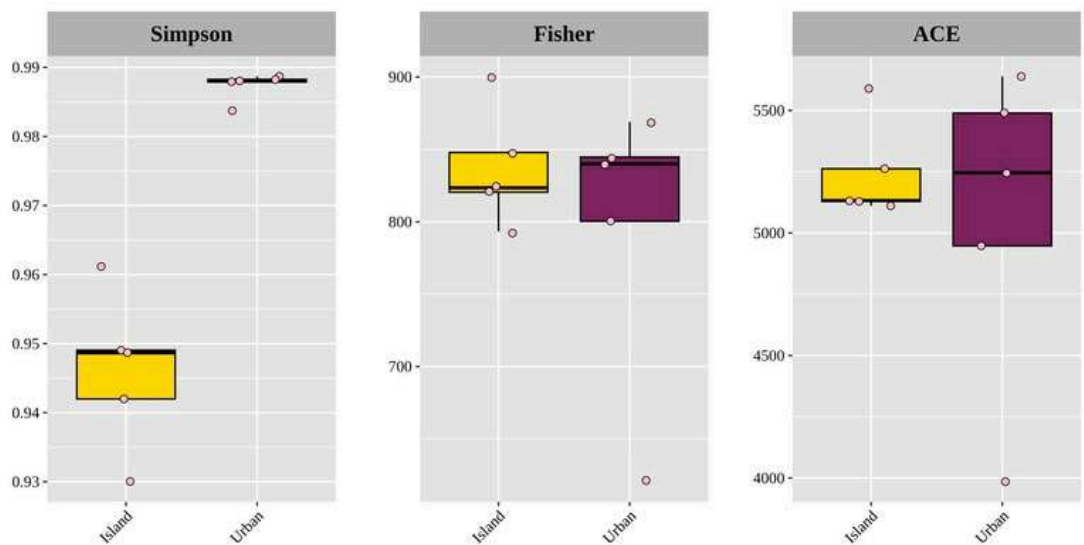
A diversidade alfa foi avaliada por meio de métricas como número de OTUs observados, Chao1, Shannon, Simpson, Fisher e ACE. As estimativas de riqueza (Chao1 e ACE) foram maiores nas amostras urbanas, sugerindo maior riqueza taxonômica nesse ambiente. Da mesma forma, o índice de Shannon — que considera tanto a riqueza quanto a uniformidade das espécies — também foi mais elevado nas amostras urbanas, indicando uma distribuição mais homogênea das espécies, conforme demonstrado na **Figura 01**.

Figura 01. Métricas de alfa diversidade: Observed, Chao1 e Shannon.



Por outro lado, o índice de Simpson, que mede a dominância de espécies, apresentou valores mais altos nas amostras urbanas, sugerindo menor disparidade na distribuição das espécies. O índice de Fisher exibiu variação moderada entre os ambientes, sem diferenças significativas, como mostrado na **Figura 02**.

Figura 02. Métricas de alfa diversidade: Simpson, Fisher e ACE.



4.4. Diversidade beta

A diversidade beta foi explorada por meio de análises de PCoA (Principal Coordinates Analysis) (**Figura 04**) e RDA (Redundancy Analysis, que utiliza ordenação multivariada do tipo de análise de regressão canônica) (**Figura 03**), evidenciando uma separação clara entre as amostras de acordo com os diferentes ambientes analisados. Isso destaca que a composição microbiana varia não apenas em termos de diversidade interna (alfa), mas também na estrutura geral das comunidades nos diferentes locais de amostragem.

Figura 03. Plotagem de beta diversidade: análise de RDA.

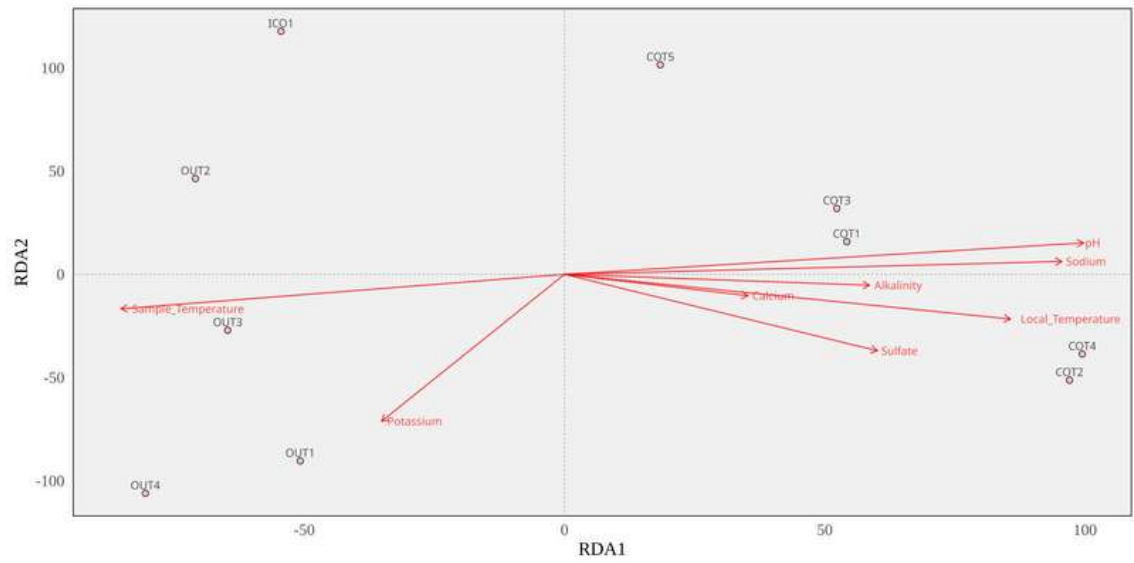
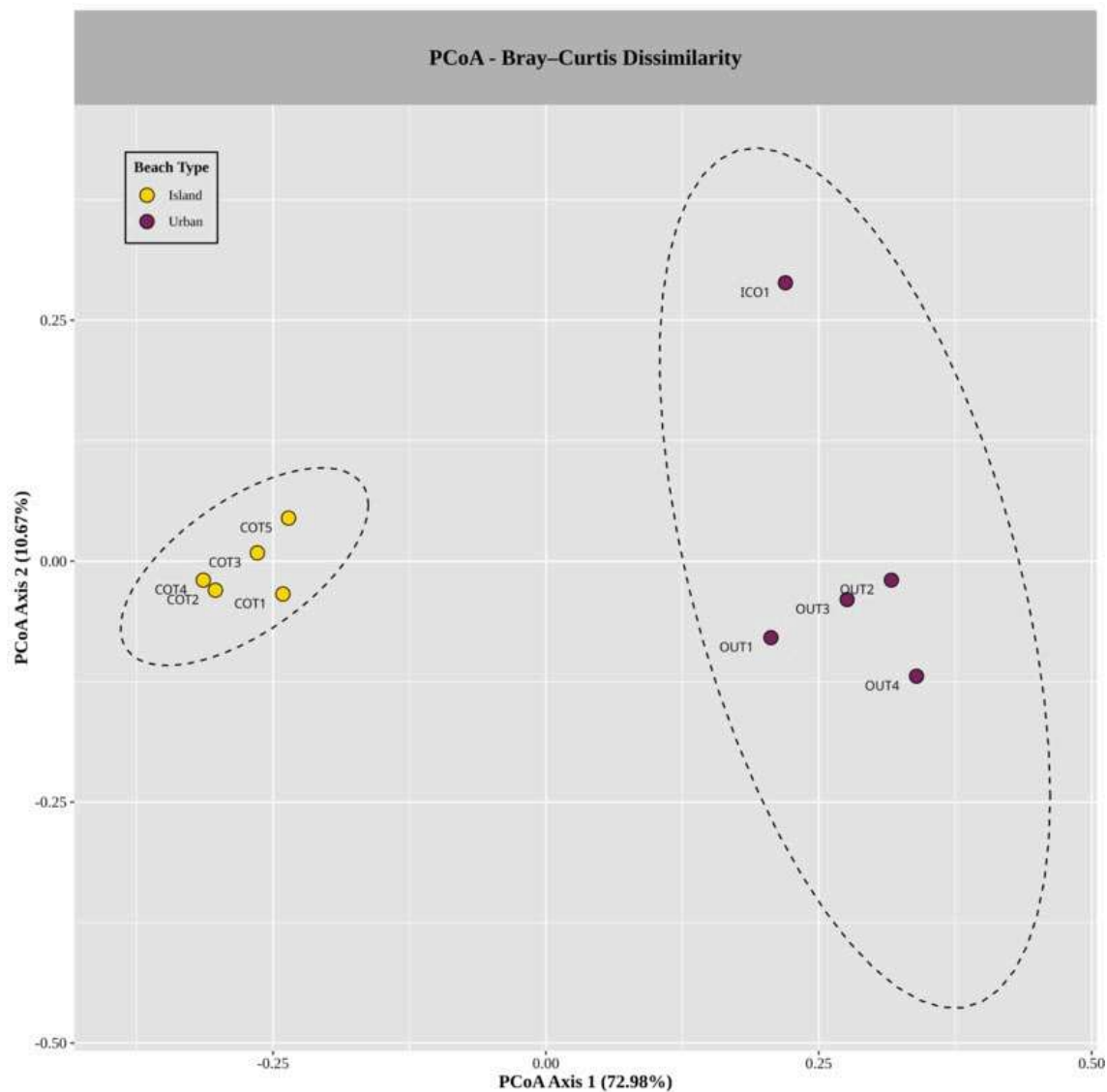


Figura 04. Métrica de beta diversidade: PCoA.

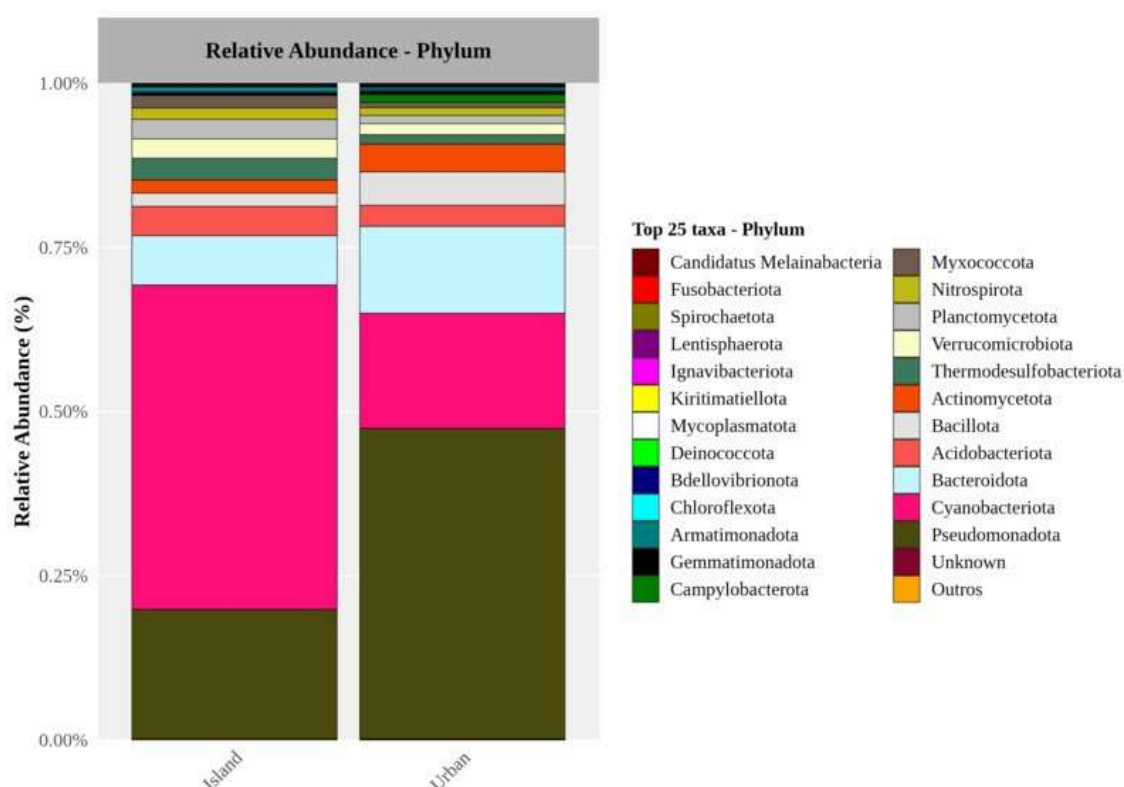


O primeiro eixo da PCoA explicou 72,98% da variação dos dados, sugerindo que a maior parte das diferenças entre os microbiomas dos dois ambientes está relacionada a um fator predominante — provavelmente, diferenças ambientais. O segundo eixo explicou 10,67% da variação, indicando que outros fatores secundários também contribuem para a diferenciação das comunidades.

4.5. Estrutura taxonômica

A análise taxonômica revelou uma predominância de aproximadamente 80% das sequências distribuídas em cinco filos: Pseudomonadota, Cyanobacteriota, Bacteroidota, Acidobacteriota e Bacillota, conforme ilustrado na **Figura 05**. Observou-se uma prevalência do filo Pseudomonadota (anteriormente classificado como Firmicutes), seguido por Cyanobacteriota e Bacteroidota nas amostras do grupo urbano. Nas amostras do grupo insular, o filo predominante foi Cyanobacteriota, seguido por Pseudomonadota e Bacteroidota.

Figura 05. Plotagem de abundância relativa a nível de Filo.



4.6. Análise diferencialmente abundante (DESeq)

A análise de abundância diferencial realizada com o pacote DESeq2 (**Figuras 11, 12, 13 e 14**) identificou OTUs com diferenças estatisticamente significativas na abundância entre as praias insulares e urbanas, refletindo as condições ambientais distintas de cada local. Os gráficos gerados destacam as espécies e os gêneros diferencialmente abundantes em ambientes com diferentes perfis de contaminação e influência antrópica.

Figura 11. Plotagem de DESeq a nível de gênero filtrando os táxons estatisticamente significativos ($\text{padj} < 0.05$)

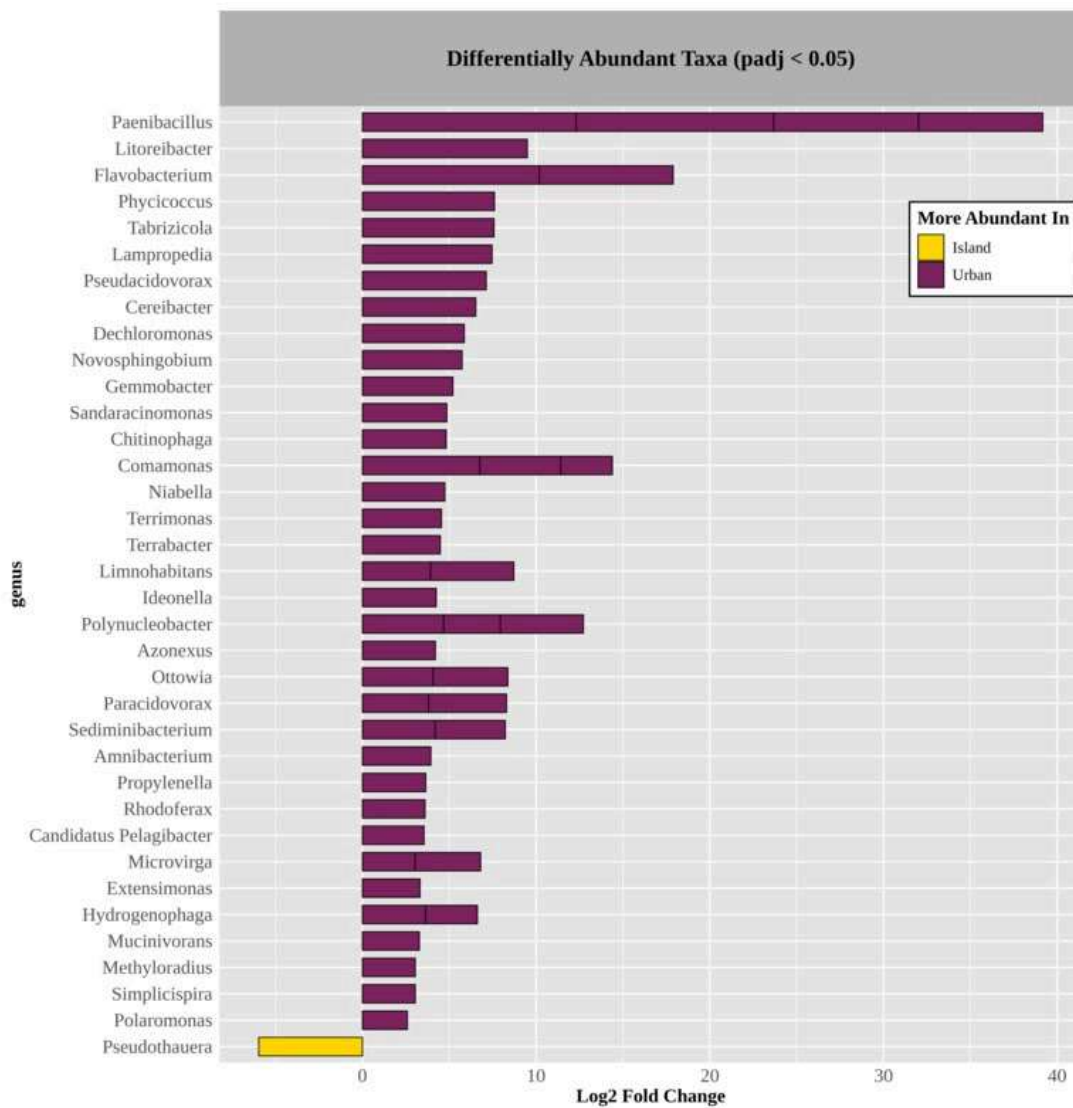


Figura 12. Plotagem de DESeq a nível de ordem filtrando os táxons estatisticamente significativos (padj < 0.05)

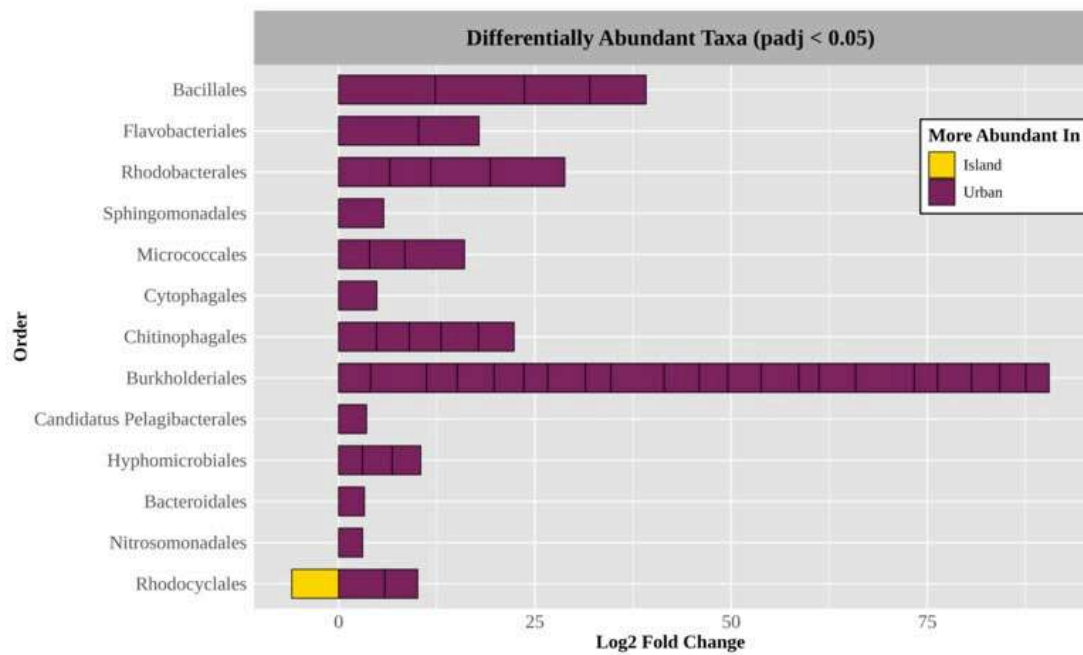


Figura 13. Plotagem de DESeq a nível de família filtrando os táxons estatisticamente significativos (padj < 0.05)

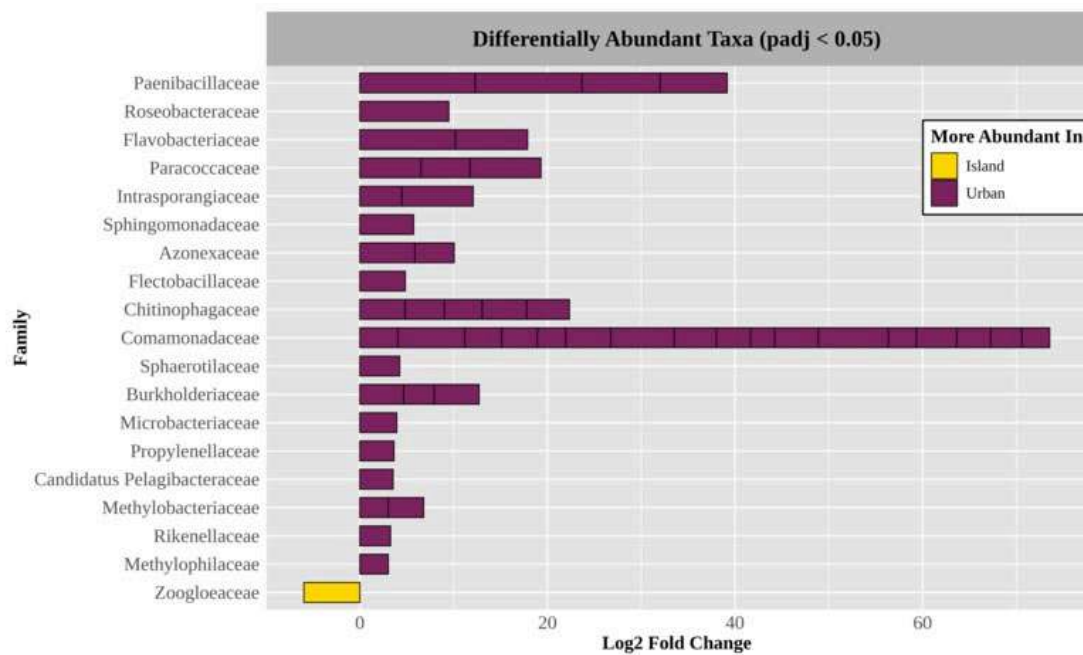
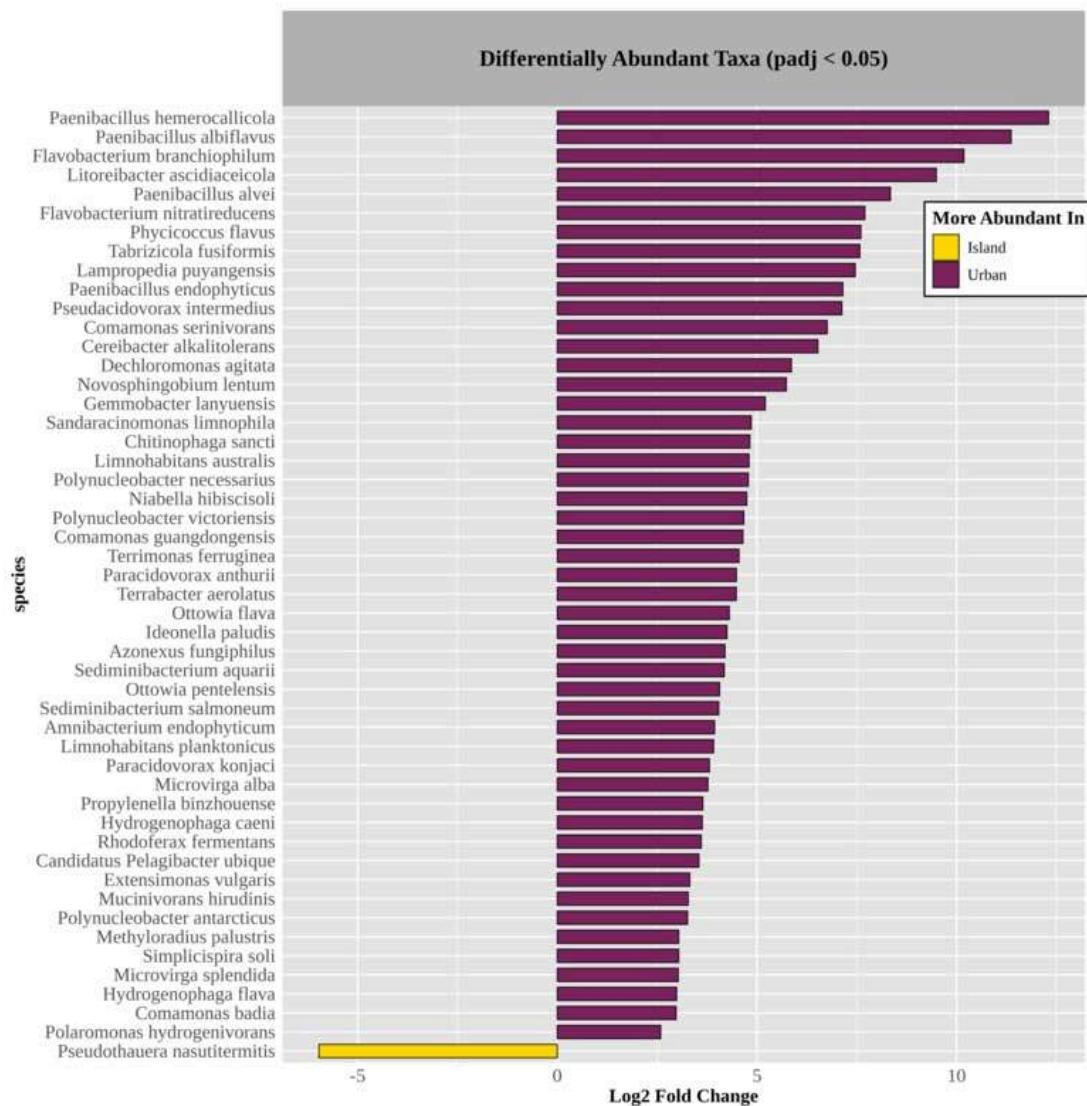


Figura 14. Plotagem de DESeq a nível de espécie filtrando os táxons estatisticamente significativos (padj < 0.05)



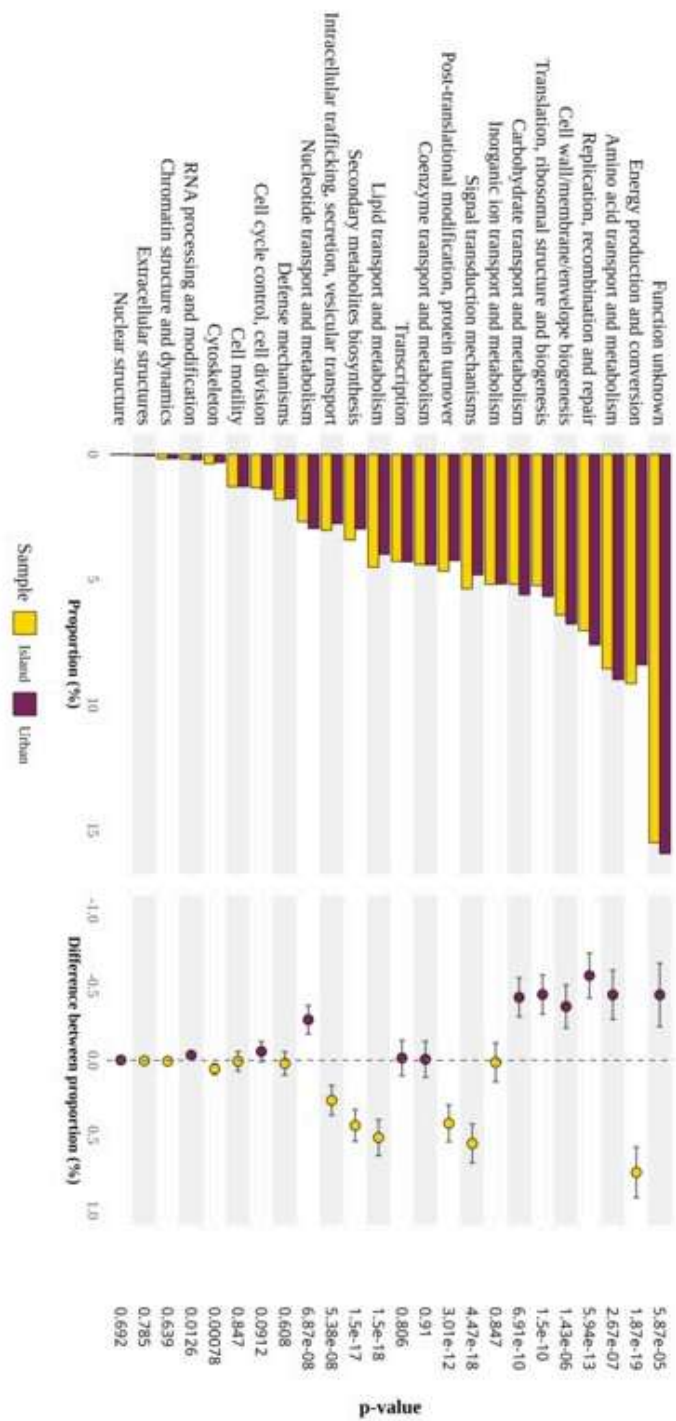
4.7. Análise Comparativa dos Perfis Metagenômicos: Praias Urbanas vs. Praias Insulares

A análise dos perfis metagenômicos das praias urbanas e insulares revelou diferenças significativas na composição funcional das comunidades bacterianas. As categorias funcionais foram caracterizadas principalmente com base nas categorias COG (Clusters de Grupos Ortólogos), que abrangem uma ampla gama de processos celulares e vias metabólicas.

Os gráficos de barras apresentados na **Figura 15** mostram a abundância relativa das diferentes categorias COG em cada ambiente. A análise concentrou-se na comparação das abundâncias de categorias como metabolismo, processamento de informação ambiental, processos celulares e sistemas dos organismos. Os gráficos de abundância e os diagramas circulares de distribuição ilustraram de forma clara os perfis distintos entre as amostras,

refletindo adaptações microbianas às condições ambientais e pressões antrópicas específicas de cada cenário.

Figura 15. Plotagem de perfil funcional com base em COGS e abundância relativa estatisticamente significantes (p-value ao lado).



5. DISCUSSÃO

5.1. Parâmetros físico-químicos

A análise dos parâmetros físico-químicos revelou diferenças marcantes entre as amostras das áreas urbana e insular, com destaque para a condutividade elétrica. Os valores médios alcançaram 416,2 $\mu\text{S/cm}$ na área urbana e 1516,4 $\mu\text{S/cm}$ na área insular. Essa diferença substancial pode estar associada a uma maior concentração de íons dissolvidos, notadamente sódio (Na^+) e cloreto (Cl^-), cujos níveis também foram mais elevados nas amostras insulares ($\text{Na}^+ = 371,9 \text{ mg/L}$; $\text{Cl}^- = 458,0 \text{ mg/L}$) em comparação com as amostras urbanas ($\text{Na}^+ = 201,0 \text{ mg/L}$; $\text{Cl}^- = 237,3 \text{ mg/L}$). A maior salinidade observada na região insular (0,74 psu) reforça essa associação com o aumento da presença de íons dissolvidos, influenciando diretamente a condutividade da água.

De modo geral, o perfil físico-químico das águas amostradas sugere boa qualidade ambiental, com pH, oxigênio dissolvido, turbidez e sólidos totais dissolvidos situando-se dentro de faixas compatíveis com ambientes aquáticos equilibrados e em conformidade com os padrões sanitários nacionais. Contudo, é importante enfatizar que a avaliação exclusiva desses parâmetros não é suficiente para determinar a potabilidade da água. Análises microbiológicas complementares e de contaminantes químicos específicos são essenciais, conforme recomendado pelas diretrizes de monitoramento da qualidade da água.

5.2. Estrutura microbiana

As medidas de diversidade alfa revelaram a presença de algumas amostras atípicas (outliers), sugerindo variabilidade na estrutura da comunidade microbiana dentro de cada grupo, possivelmente relacionada a fatores ambientais específicos que afetam cada amostra. A alta diversidade alfa observada nas amostras urbanas pode refletir a influência de múltiplas fontes de contaminação e uma maior heterogeneidade ambiental. Ao comparar as amostras coletadas de diferentes localidades (praias insulares versus urbanas), as métricas de diversidade alfa avaliaram aspectos distintos de riqueza e equitatividade nas comunidades microbianas, fornecendo uma visão abrangente da diversidade nas praias estudadas. Esses achados indicam que o ambiente urbano abriga uma comunidade microbiana mais diversa e equilibrada em comparação ao ambiente insular, provavelmente devido ao aumento da complexidade ambiental e às múltiplas fontes de influxo microbiano.

A dispersão das amostras no gráfico de ordenação por RDA sugere que diferentes fatores ambientais podem modular a diversidade microbiana em cada ambiente (Jiang et al., 2021). A forte influência de variáveis como pH e turbidez reforça a ideia de que as características físico-químicas da água desempenham um papel fundamental na estruturação das comunidades microbianas. A alcalinidade e a temperatura local apresentaram fortes correlações com as amostras urbanas, juntamente com o pH, reforçando a ideia de que esses fatores são elementos-chave na conformação da composição do microbioma em ambientes urbanos. Em contraste, o oxigênio dissolvido surgiu como um fator determinante nas amostras insulares, sugerindo que ambientes insulares favorecem comunidades microbianas adaptadas a condições mais naturais e com menor influência antrópica (Garg, 2025). Esses achados são visualmente corroborados pela distribuição das amostras e dos vetores ambientais na ordenação por RDA.

A análise de PCoA baseada na distância de Bray-Curtis confirmou esses achados, mostrando que alguns pontos de amostragem compartilham padrões de similaridade, mas se agrupam em conjuntos distintos devido a fatores específicos, como diferenças nas fontes de contaminação e na composição química da água. Essas diferenças podem estar associadas a fatores ambientais específicos, como qualidade da água, presença de poluentes, variações no regime hidrológico e influência antrópica. Assim, a diversidade beta reforça a existência de nichos ecológicos com comunidades microbianas distintas (Plantinga, 2021; Simon et al., 2024; Xie et al., 2024). A separação clara entre os microbiomas sugere que os dois ambientes abrigam comunidades microbianas distintas moldadas por pressões ecológicas diferentes.

Pseudomonadota foi o filo mais abundante, frequentemente associado a ambientes aquáticos caracterizados por variabilidade de nutrientes e exposição a fontes de contaminação (Liang et al., 2023). A presença de Bacteroidota também foi notável, sugerindo um papel-chave na degradação de polímeros complexos e resíduos orgânicos presentes na coluna d'água e nos sedimentos (Manal Chrairi et al., 2024). Bacillota foram mais frequentemente encontrados em amostras de locais com maior deposição de matéria orgânica, indicando potencialmente condições eutróficas. A presença desses táxons corrobora a hipótese de que certos pontos de amostragem são influenciados por fontes antrópicas de nutrientes, como descargas de efluentes domésticos (Filippidou et al., 2016; Sanz-Montero, 2019; Liang et al., 2020; Ge et al., 2024; Mo et al., 2024).

Na **Figura 06**, no nível de gênero, observou-se maior abundância de *Candidatus Pelagibacter* nas amostras de praias insulares, enquanto os gêneros *Comamonas* e *Hydrogenophaga* foram mais prevalentes nas praias urbanas. Isso sugere que as praias urbanas

estão mais associadas a fontes de contaminação (Ryan et al., 2022) e à maior disponibilidade de matéria orgânica, promovendo a proliferação de táxons adaptados a condições eutróficas. Em contraste, os táxons dominantes nas praias insulares são mais característicos de ecossistemas marinhos menos perturbados. Um padrão semelhante foi observado no nível de família na **Figura 07**, onde famílias como Cyanothecaceae e Burkholderiaceae foram mais abundantes em áreas urbanas. A dominância de Comamonadaceae nas amostras urbanas pode refletir níveis mais elevados de poluição (Antonelli et al., 2024), visto que membros dessa família são conhecidos pela capacidade de degradar compostos orgânicos complexos.

Figura 06. Plotagem de abundância relativa a nível de Gênero.

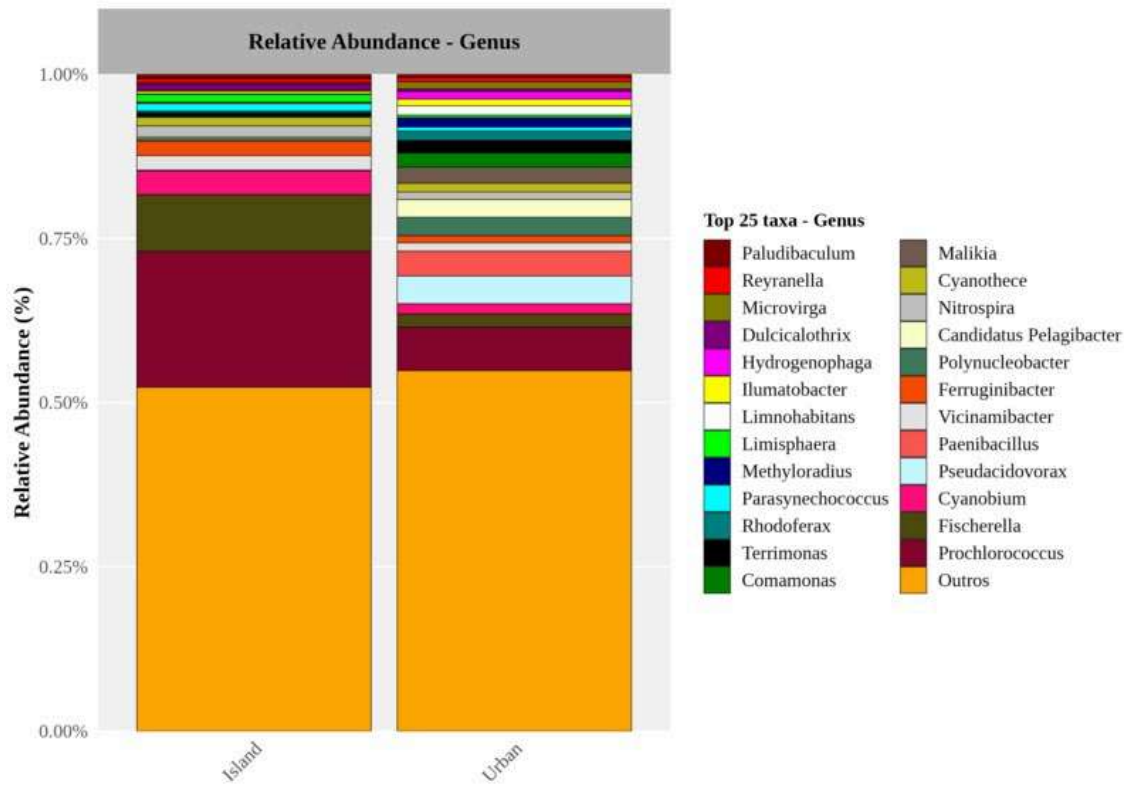
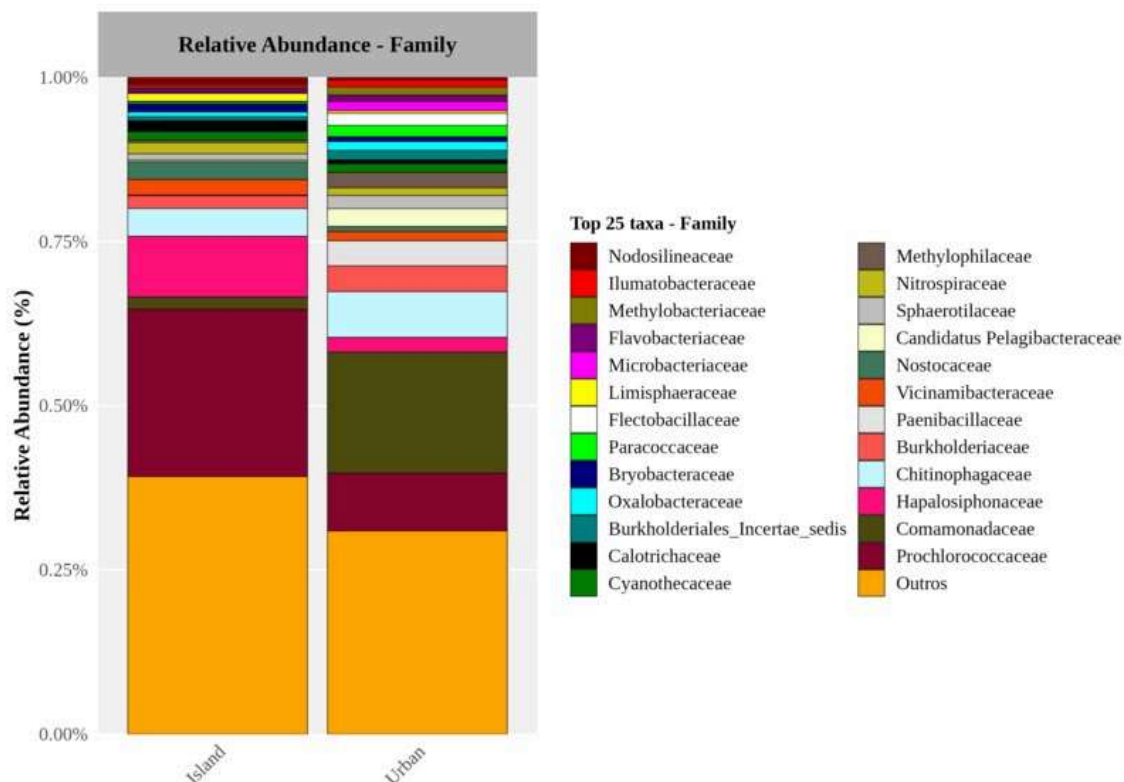


Figura 07. Plotagem de abundância relativa a nível de Família.



Na **Figura 08**, no nível de ordem, Burkholderiales foi o grupo dominante em praias urbanas, corroborando a hipótese de que esses ambientes apresentam maiores cargas de nutrientes e poluentes. Por sua vez, Chroococcales, um grupo associado a microrganismos fotossintetizantes, foi mais abundante nas praias insulares. Isso sugere que essas áreas oferecem condições mais favoráveis à produção primária e são menos impactadas por atividades antrópicas (Tavares et al., 2020). A análise em nível de classe reforçou essas diferenças, conforme demonstrado na **Figura 09**, com Betaproteobacteria e Gammaproteobacteria sendo mais abundantes em praias urbanas, enquanto Cyanophyceae, uma classe associada às cianobactérias, dominou as praias insulares. Esses resultados ilustram como os fatores ambientais e antrópicos moldam a estrutura da comunidade microbiana, com áreas urbanas apresentando um perfil taxonômico adaptado a condições mais poluídas.

Figura 08. Plotagem de abundância relativa a nível de Ordem.

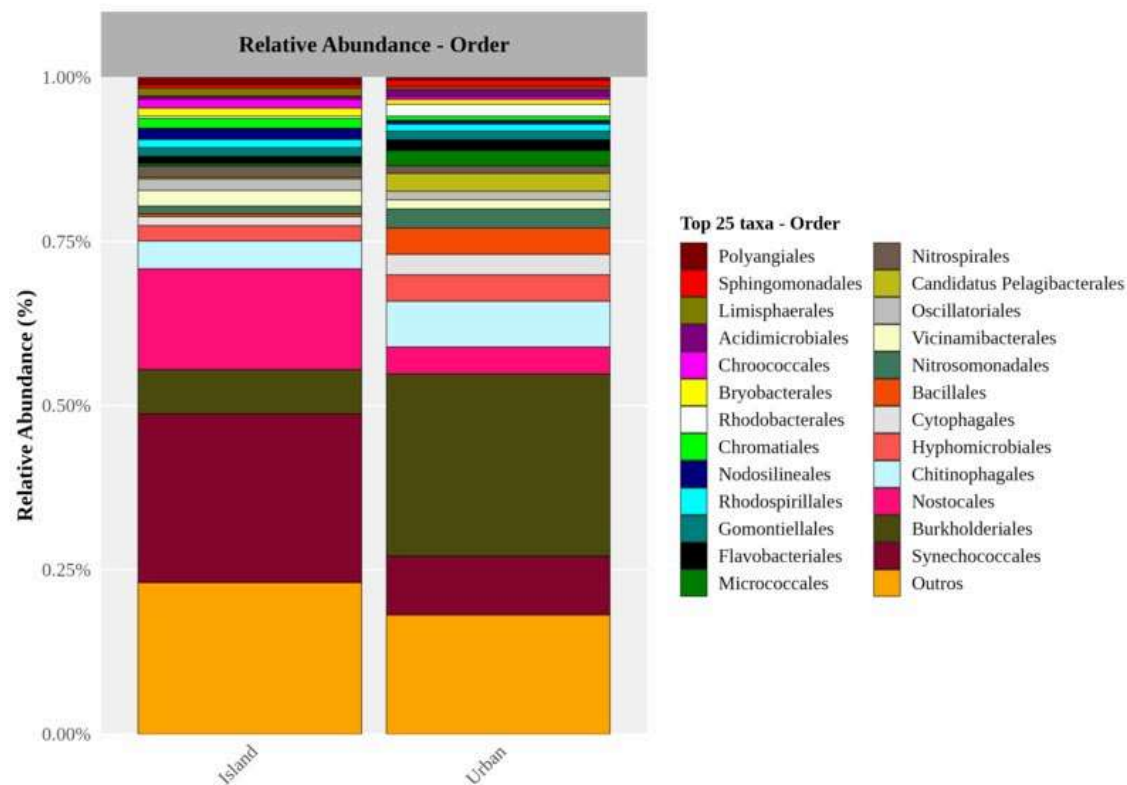
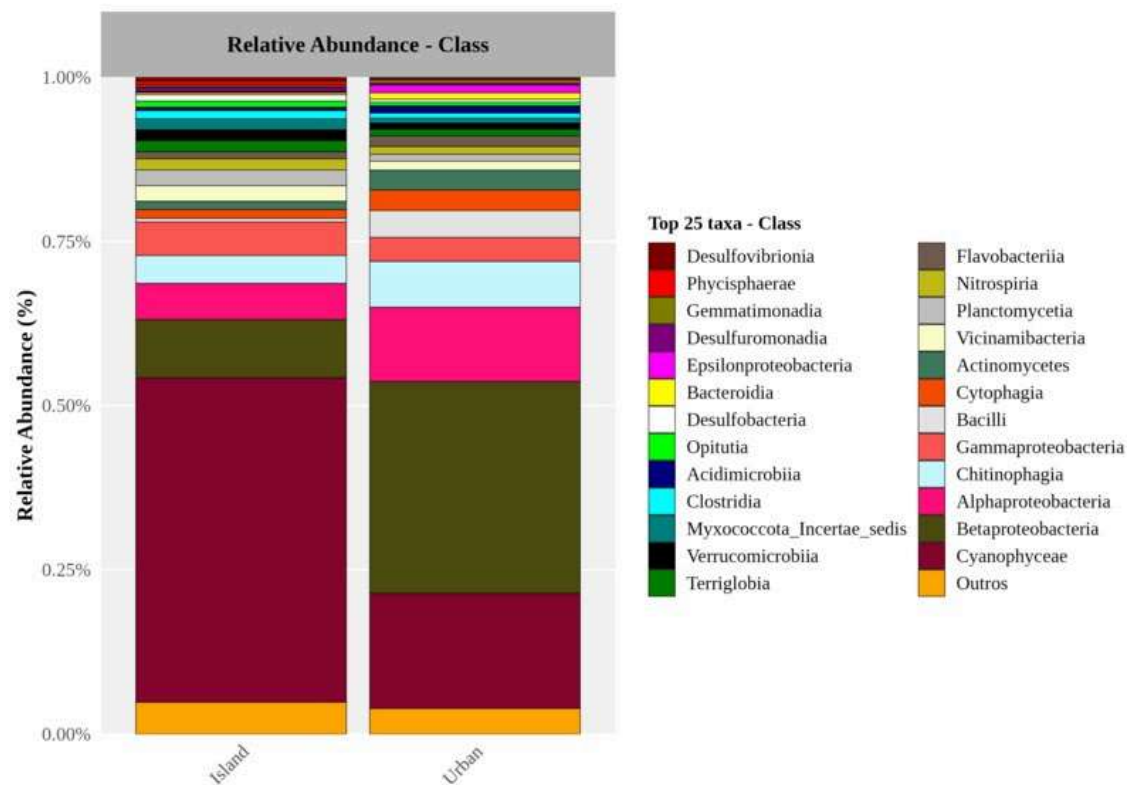
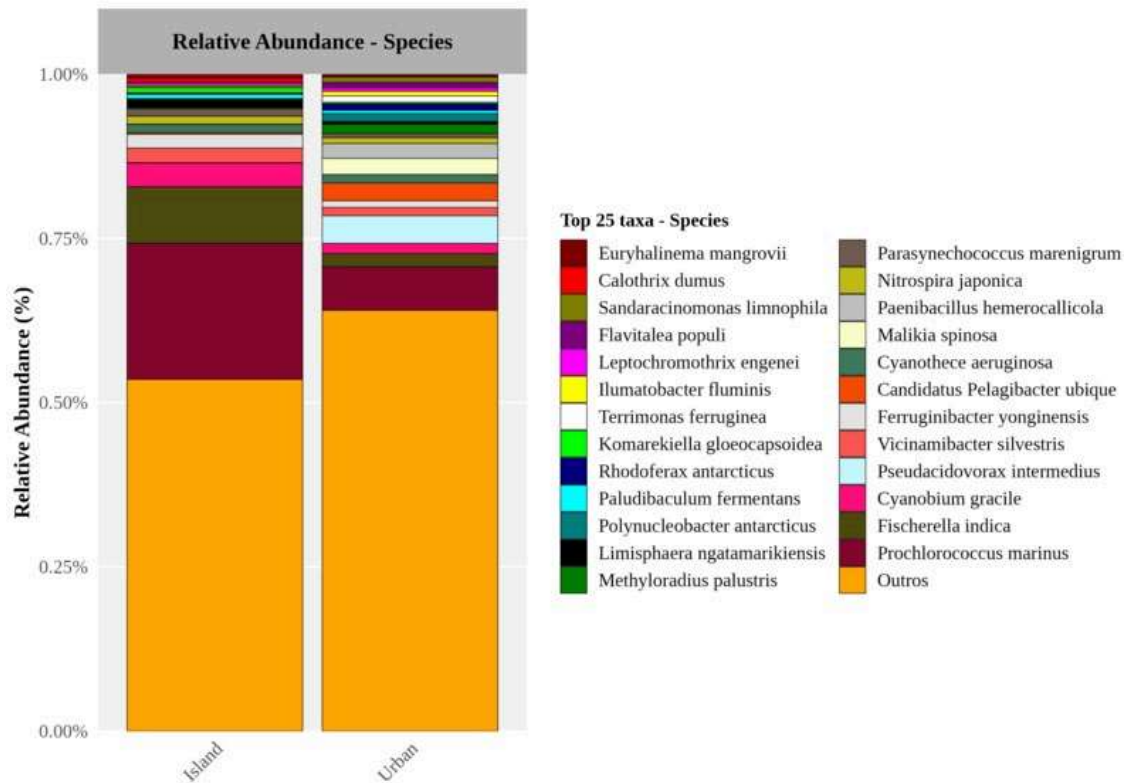


Figura 09. Plotagem de abundância relativa a nível de Classe.



A **Figura 10** mostra a abundância em nível de espécie, onde foram identificadas bactérias indicadoras de contaminação ambiental, incluindo espécies dos gêneros *Escherichia* e *Clostridium*, conhecidas por seu potencial patogênico e associação com fontes fecais humanas e animais (Braz et al., 2020). A detecção dessas espécies ressalta a importância do monitoramento microbiológico para avaliar a segurança das praias para recreação humana. Além disso, espécies ambientalmente relevantes, como membros do gênero *Rhodobacter*, foram identificadas, contribuindo para os ciclos do carbono e enxofre em ecossistemas costeiros (Dang et al., 2008). Apesar dos impactos antrópicos, a diversidade funcional dessas comunidades microbianas indica que funções ecológicas essenciais ainda são mantidas.

Figura 10. Plotagem de abundância relativa a nível de Espécie.



De maneira geral, as análises taxonômicas sugerem que a composição microbiana das praias de Belém é complexa, refletindo uma interação entre processos ecológicos naturais e distúrbios induzidos por atividades humanas (Albuquerque et al., 2018). A variação nas proporções relativas de grupos taxonômicos específicos destaca a influência de fatores como a proximidade de áreas urbanas e fontes de contaminação orgânica. Esses padrões de distribuição taxonômica entre praias urbanas e insulares reforçam a ideia de que fatores ambientais, incluindo poluição e disponibilidade de nutrientes, desempenham papel

fundamental na estruturação das comunidades microbianas (Lin et al., 2021; Zhang et al., 2024).

5.3. Análises estatísticas diferenciais com DESeq2

Com as análises realizadas pelo DESeq2, por exemplo, observou-se que gêneros bacterianos como *Vibrio* e *Pseudomonas* estavam significativamente mais abundantes nas amostras urbanas, com valores de log2 fold change indicando sua proliferação em ambientes impactados por poluição e matéria orgânica (Santos et al., 2025). Esses gêneros estão frequentemente associados a condições de estresse ambiental e à presença de compostos orgânicos complexos, sugerindo seu potencial como indicadores biológicos confiáveis da qualidade da água em ambientes contaminados. Por outro lado, a análise revelou uma redução acentuada na abundância de OTUs do filo Actinobacteria, que desempenham papéis essenciais na degradação de compostos naturais e na produção de metabólitos secundários (Selim, 2021; Donald et al., 2022). A menor abundância desses organismos, particularmente nas praias urbanas contaminadas, indica uma possível disrupção de funções ecológicas críticas e processos microbianos essenciais para o ciclo de nutrientes. Esses resultados reforçam fortemente a noção de que o microbioma das praias analisadas é altamente sensível a distúrbios ambientais e pode servir como uma ferramenta poderosa para o monitoramento da saúde ambiental. Além disso, a presença de bactérias patogênicas identificadas na análise de abundância diferencial destaca a necessidade de monitoramento contínuo para mitigar riscos de contaminação e subsidiar políticas de saúde pública voltadas à redução da poluição ambiental.

Além da abundância diferencial, a dispersão das amostras nos índices de diversidade alfa revelou diferenças significativas tanto na riqueza quanto na equitatividade entre os sítios, sugerindo a influência de fatores ambientais locais, como salinidade, matéria orgânica e atividade antrópica. As praias urbanas apresentaram maior prevalência de gêneros comumente associados à contaminação e influência antrópica, o que está de acordo com a hipótese de que esses ambientes são moldados por escoamento de poluentes e matéria orgânica oriunda de atividades humanas. Essa mudança na composição microbiana sugere que praias urbanas são mais propensas a abrigar comunidades microbianas adaptadas a ambientes poluídos.

Os gráficos de abundância diferencial em nível de família, gênero e espécie fornecem uma visualização clara dessas mudanças, com algumas famílias, como Paenibacillaceae, Flavobacteriaceae e Vibrionaceae, apresentando diferenças marcantes de abundância entre os

dois ambientes. A análise em nível de gênero revelou uma forte dominância de *Paenibacillus* nas amostras urbanas, indicando uma possível adaptação às condições específicas do ambiente urbano, enquanto a análise em nível de espécie identificou *Paenibacillus hemerocallicola* e *Flavobacterium branchiophilum* como espécies-chave mais abundantes em áreas poluídas (Lenart-Boroń et al., 2022). Os padrões gerais de distribuição das espécies nos dois ambientes reforçam a ideia de que as comunidades microbianas são profundamente influenciadas por fatores ambientais e antrópicos, destacando a importância dos estudos de microbioma na avaliação dos impactos das atividades humanas sobre os ecossistemas naturais.

5.4. Táxons mais abundantes e suas funções ecológicas

O táxon mais abundante de forma geral foi classificado como *Synechococcus*, com representação significativamente maior nas amostras da Ilha (152.513 contra 38.945 nas amostras Urbanas). Este gênero é amplamente reconhecido por seu papel na produção primária marinha, fixação de carbono e no ciclo do nitrogênio. Sua dominância nas praias insulares está de acordo com os altos níveis de oxigênio, menor turbidez e maior penetração de luz observados, fornecendo condições ideais para o crescimento fotoautotrófico. Esse padrão está alinhado com as tendências funcionais observadas nos microbiomas das amostras insulares, que enfatizam a estabilidade metabólica e o metabolismo energético (Sharpe et al., 2023).

Além de *Synechococcus*, outros grupos de cianobactérias como *Nostocales* e *Oscillatoriales* estavam entre os táxons mais abundantes nas amostras da Ilha. Esses táxons contribuem para a formação de biofilmes, fixação de nitrogênio e até mesmo biossíntese de compostos bioativos, como pigmentos protetores contra radiação UV (Zhi et al., 2023). A presença dessas cianobactérias sugere que as praias da Ilha sustentam um microbioma intimamente integrado aos processos naturais de ciclagem de nutrientes, com baixa interferência antrópica.

Em contraste, as amostras Urbanas apresentaram enriquecimento de diversos táxons da ordem *Burkholderiales* e da classe *Alphaproteobacteria*, como a família *Candidatus Pelagibacteraceae*. Por exemplo, um táxon de *Burkholderiales* teve 24.873 leituras nas amostras Urbanas contra apenas 269 nas amostras da Ilha. Essas bactérias estão frequentemente associadas à degradação heterotrófica de matéria orgânica (Zhao et al., 2022), incluindo xenobióticos e poluentes de origem antrópica (Migliani et al., 2022). São

metabolicamente versáteis, capazes de degradar poluentes orgânicos complexos, resistir a compostos antimicrobianos e sobreviver em condições físico-químicas flutuantes (Santos et al., 2021; Singh et al., 2022).

A dominância de Burkholderiaceae, Comamonadaceae e outros Betaproteobacteria em ambientes urbanos indica um microbioma adaptado a condições eutróficas e contaminadas. Sua presença está frequentemente associada à alta disponibilidade de nutrientes, degradação de poluentes (incluindo hidrocarbonetos e xenobióticos) e transferência horizontal de genes de resistência. Esses táxons podem atuar como biodegradadores e sentinelas, respondendo e processando insumos antrópicos como esgoto, escoamento superficial e resíduos industriais (Santos et al., 2021; Singh et al., 2022).

Notavelmente, membros do filo Acidobacteriota, como Vicinamibacteria e Terriglobia, foram abundantes em ambos os ambientes, mas com maior representação nas amostras da Ilha. Esses táxons são comumente encontrados em ecossistemas de solo e sedimento, frequentemente envolvidos na reciclagem de matéria orgânica, produção de metabólitos secundários e resistência ao estresse (Cheng et al., 2023). Sua presença nos ambientes praianos provavelmente reflete as dinâmicas da interface solo-ambiente marinho, onde insumos terrestres se encontram com comunidades microbianas costeiras.

O aumento da abundância desses grupos nas praias da Ilha pode também indicar entradas naturais de matéria orgânica, em oposição à poluição antrópica, sugerindo uma comunidade microbiana semi-terrestre moldada por distúrbios naturais, e não urbanos.

A classe Chitinophagia (filo Bacteroidota), particularmente o gênero Chitinophaga, também esteve entre os 10 táxons mais abundantes, com maior prevalência nas amostras da Ilha. Essas bactérias são conhecidas por sua capacidade de degradar polissacarídeos complexos como quitina e celulose, indicando um papel importante na reciclagem da biomassa detrital, especialmente em ecossistemas costeiros com alto aporte de vegetação aquática e invertebrados (Lu et al., 2023).

Em ambos os ambientes, membros de Bacteroidota contribuem significativamente para a degradação de matéria orgânica na coluna d'água e nos sedimentos, mas seu aumento de abundância nas amostras da Ilha sugere um ecossistema menos poluído, porém rico em detritos, onde predominam processos de decomposição naturais (Yadav et al., 2024).

Um táxon importante a ser destacado é Candidatus Pelagibacter (clado SAR11), encontrado predominantemente nas amostras da Ilha. Como uma bactéria marinha extremamente abundante e com genoma simplificado, Pelagibacter prospera em águas oligotróficas, onde desempenha papel chave nos ciclos do carbono e do enxofre. Sua

dominância em ambientes insulares reafirma as condições estáveis e pobres em nutrientes presentes nesses locais, em forte contraste com as condições eutróficas das praias urbanas (Carini et al., 2012).

Um táxon notável observado nas amostras Urbanas foi Paenibacillaceae (Filo Firmicutes), com mais de 13.000 leituras nas amostras Urbanas e apenas 4 nas da Ilha. Membros desse grupo são conhecidos por sua capacidade de formar esporos (Galperin, 2016), degradar substratos orgânicos recalcitrantes e produzir compostos antimicrobianos. Sua presença sugere resiliência frente a flutuações ambientais severas e, possivelmente, ligação com contaminação terrestre (Eltokhy et al., 2021). Esses organismos são frequentemente isolados de ambientes impactados por resíduos orgânicos ou esgoto, apoiando a hipótese de maior impacto antrópico nas praias urbanas. Além disso, algumas espécies de Paenibacillus possuem capacidade de redução de nitrato e desnitrificação, indicando envolvimento em processos de transformação do nitrogênio (Behrendt et al., 2010).

A dominância de cianobactérias fototróficas nas praias insulares implica um ecossistema impulsionado pela produção primária e ciclagem estável de nutrientes, com comunidades microbianas adaptadas à baixa disponibilidade de nutrientes e baixa contaminação. Em contraste, as praias urbanas abrigam consórcios microbianos moldados para lidar com complexidade química, com táxons capazes de detoxificar poluentes, resistir a antibióticos e utilizar rapidamente diversos substratos orgânicos.

Esses padrões refletem duas estratégias ecológicas microbianas distintas:

Ilha: especialização, fototrofia, estabilidade metabólica e potencial genético não caracterizado.

Urbana: generalismo, metabolismo de xenobióticos, traços de resistência e plasticidade.

Além disso, a presença de “indicadores microbianos” como *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Comamonas* e *Escherichia* nas praias urbanas confirma a exposição a insumos antrópicos e a bactérias potencialmente patogênicas, reforçando a importância do monitoramento microbiológico da qualidade da água em áreas litorâneas de uso público.

5.5. Diversidade funcional das comunidades bacterianas e análise comparativa dos perfis metagenômicos em praias urbanas versus praias insulares

A análise das categorias funcionais com base no banco de dados COG entre as comunidades microbianas revelou diferenças marcantes na estrutura funcional e no potencial metabólico entre os ecossistemas analisados, conforme ilustrado na **Figura 16**. A categoria

“Processamento de Informações Ambientais” apresentou abundância significativamente maior nos metagenomas das praias urbanas, evidenciando a adaptação das comunidades bacterianas a estressores ambientais. Genes envolvidos em mecanismos de transdução de sinal e em mecanismos de defesa foram mais prevalentes nas amostras urbanas. O metabolismo, tanto em praias urbanas quanto insulares, demonstrou abundância substancial de categorias metabólicas, embora as amostras das praias insulares tenham exibido maior diversidade em vias de produção de energia e biossíntese. Isso sugere que as comunidades insulares podem possuir vias metabólicas mais diversas e especializadas devido ao isolamento e ao ambiente menos perturbado.

Os principais achados da análise comparativa são: nas praias urbanas, o perfil funcional das comunidades bacterianas apresentou maior representação de categorias relacionadas à resposta ao estresse, mecanismos de defesa e degradação de xenobióticos. Esses achados sugerem que as bactérias em ambientes urbanos estão provavelmente adaptadas a poluentes e estressores antrópicos. A presença de genes relacionados à resistência a antibióticos e marcadores de poluição reforça ainda mais essa observação. Por outro lado, nas praias insulares, as comunidades bacterianas exibiram maior abundância de funções associadas ao metabolismo primário, crescimento e biossíntese de metabólitos secundários. Isso indica que ambientes insulares, com menor influência antrópica, sustentam comunidades microbianas voltadas para funções ecológicas naturais, como o ciclo de nutrientes, biossíntese e produção de energia.

Nas praias urbanas, observou-se uma maior proporção relativa de genes associados às categorias [V] Mecanismos de defesa, [Q] Biossíntese, transporte e catabolismo de metabólitos secundários, [P] Transporte e metabolismo de íons inorgânicos e [E] Transporte e metabolismo de aminoácidos. Essa predominância funcional está de acordo com os resultados de abundância diferencial, onde táxons como Burkholderiaceae, Pseudomonadaceae e *Acinetobacter* spp. apresentaram valores $\log_2\text{FoldChange}$ significativamente positivos, indicando um enriquecimento de microrganismos versáteis, oportunistas e resistentes ao estresse (Santos et al., 2021; Singh et al., 2022).

Em contraste, as amostras da Ilha foram enriquecidas em categorias como [C] Produção e conversão de energia, [O] Modificação pós-traducional, turnover de proteínas, chaperonas, e [H] Transporte e metabolismo de coenzimas, sugerindo uma comunidade microbiana mais especializada em processos metabólicos básicos e manutenção celular. Isso pode ser atribuído à menor pressão antrópica e maior estabilidade ambiental nessas áreas.

Essa interpretação é reforçada pelos dados físico-químicos. As praias urbanas apresentaram maior turbidez, temperatura, condutividade elétrica e sólidos totais dissolvidos, indicando influência de escoamento urbano, matéria orgânica e poluentes. Por outro lado, as praias insulares apresentaram maior salinidade, oxigenação e alcalinidade — fatores que promovem um ambiente mais equilibrado ecologicamente e propício à manutenção de nichos microbianos estáveis e menos perturbados.

A forte representação da categoria [V] Mecanismos de defesa nas amostras urbanas sugere uma comunidade microbiana sob intensa pressão seletiva, particularmente por antibióticos e metais pesados. Isso está alinhado com a detecção de genes de resistência como *ampC*, *bla*, *tetA*, *aac*, *vanA* e *vanB*, bem como bombas de efluxo e enzimas modificadoras, indicando um microbioma adaptado à exposição crônica a compostos antimicrobianos, com alto potencial para resistência cruzada e disseminação gênica horizontal (Hernández-Ospina et al., 2024).

Além disso, genes associados à degradação de xenobióticos e hidrocarbonetos do tipo BTEX — como *phnA/B*, *xylA/B/E*, *nahA*, *catA/B*, *tmoA* e *pmoA* — foram mais frequentemente identificados nas amostras urbanas, revelando potencial biotecnológico significativo para biorremediação (Wu et al., 2023). A exposição crônica a contaminantes em ambientes urbanos parece ter moldado uma comunidade funcionalmente adaptada à metabolização desses compostos, tornando-a um alvo valioso para exploração biotecnológica (Lopez et al., 2022; Hernández-Ospina et al., 2024).

Nas amostras da Ilha, a menor presença de vias de degradação e resistência aponta para um microbioma mais “naturalizado”, com reduzida exposição a contaminantes e antibióticos. No entanto, é importante destacar a alta proporção de genes classificados como de “função desconhecida” ou “pouco caracterizados” nas amostras insulares, indicando um reservatório genético inexplorado com potencial para descoberta de novas funções e vias metabólicas. Essa riqueza funcional não anotada sugere que os microrganismos insulares podem desempenhar papéis ecológicos ainda não compreendidos e potencialmente inovadores (Culligan et al., 2013; Meka et al., 2024; Alanzi, 2024).

A análise de abundância diferencial apoia essas tendências. Diversos táxons significativamente enriquecidos nas amostras da Ilha, como *Cyanobacteria* e *Vicinamibacteria*, estão associados a funções ecológicas-chave, incluindo fixação de nitrogênio, fotossíntese e produção de metabólitos secundários — destacando seu papel funcional no suporte trófico e no ciclo de nutrientes (Koksharova e Safronov, 2022).

No que tange ao metabolismo energético, a categoria [C] Produção e conversão de energia foi particularmente enriquecida nas amostras da Ilha, provavelmente ligada a níveis mais elevados de oxigênio dissolvido e menor turbidez — condições favoráveis para organismos fotoautotróficos e quimioautotróficos eficientes (Soaudy et al., 2023). Essa observação está em concordância com os metadados, que mostram concentrações elevadas de oxigênio e águas mais límpidas nos ambientes insulares.

A análise integrada mostra ainda que as comunidades urbanas exibem maior expressão de vias relacionadas ao transporte de íons e ao metabolismo de nutrientes essenciais, provavelmente em resposta a flutuações físico-químicas rápidas e imprevisíveis, como variações de pH, condutividade e composição iônica. Isso sugere uma microbiota resiliente, capaz de se ajustar funcionalmente em tempo real a estressores ambientais.

A predominância da categoria [Q] Biossíntese, transporte e catabolismo de metabólitos secundários nas amostras urbanas aponta para uma diversidade funcional associada à competição microbiana (Bech et al., 2024), indicando a produção de antibióticos naturais, sideróforos e outras moléculas de sinalização interespecífica. Em contraste, a mesma categoria apareceu com menor abundância nas amostras insulares, refletindo potencialmente menor estresse microbiano e competição em ambientes mais naturais.

Outra característica notável nas comunidades das praias urbanas foi o enriquecimento de funções relacionadas a [M] Biogênese da parede celular/membrana/involúcro e [U] Tráfego intracelular, secreção e transporte vesicular. Essas funções são essenciais para microrganismos expostos a condições estressantes, como a presença de detergentes, metais pesados e desinfetantes, frequentemente encontrados em ambientes costeiros impactados por ação antrópica. A biogênese de membrana e o aumento da secreção vesicular podem desempenhar papéis tanto protetores quanto comunicativos sob estresse ambiental, incluindo possivelmente a liberação de fatores de virulência ou resistência.

Nas comunidades insulares, funções associadas a [H] Transporte e metabolismo de coenzimas e [G] Transporte e metabolismo de carboidratos foram mais proeminentes. Esse perfil funcional sugere um metabolismo mais equilibrado e eficiente, compatível com um ambiente de menor perturbação e disponibilidade de nutrientes mais previsível. A maior atividade no transporte e metabolismo de carboidratos pode refletir uma microbiota cooperativa e especializada, capaz de utilizar eficientemente matéria orgânica de fontes naturais, como vegetação marinha e algas.

No que se refere às categorias [K] Transcrição e [J] Tradução, estrutura ribossomal e biogênese, ambas as comunidades apresentaram representação significativa, com

predominância nas amostras insulares. Isso pode ser interpretado como uma maior linha de base de expressão gênica e regulação metabólica nas comunidades insulares, refletindo um microbioma estruturalmente organizado, que investe mais em manutenção e atividade basal do que em respostas emergenciais ao estresse (Cecilie et al., 2024).

A categoria [L] Replicação, recombinação e reparo foi relativamente equilibrada entre os dois grupos, mas ligeiramente mais abundante nas amostras urbanas. Juntamente com o aumento nas categorias relacionadas à defesa e resistência, isso pode indicar maior pressão genotóxica em ambientes urbanos, desencadeando vias de reparo e recombinação do DNA. Isso também é consistente com a presença potencial de elementos genéticos móveis (MGEs), como plasmídeos e transposons, que frequentemente carregam genes de resistência e promovem a transferência horizontal de genes — um mecanismo comum em ambientes perturbados (Tuteja et al., 2009).

As amostras urbanas também apresentaram aumento na categoria [T] Mecanismos de transdução de sinal, uma categoria frequentemente associada à capacidade de resposta ambiental rápida, incluindo regulação por quorum sensing e formação de biofilme (Sakuragi e Kolter, 2007). Isso reforça a noção de que os microrganismos urbanos enfrentam flutuações ambientais mais intensas e imprevisíveis, exigindo estratégias regulatórias sofisticadas para sobreviver e competir.

Um aspecto especialmente promissor em ambas as amostras — Ilha e Urbana — é a presença da categoria [Q] Biossíntese de metabólitos secundários. Embora mais abundante em ambientes urbanos, a natureza dos metabólitos provavelmente difere significativamente. Em ambientes urbanos, esses compostos estão predominantemente ligados à defesa e competição — como bacteriocinas e sideróforos — enquanto as amostras insulares podem produzir metabólitos com funções ecológicas mais diversas, incluindo antioxidantes, pigmentos fotoprotetores e moléculas com relevância farmacológica (Sharrar et al., 2020; Geers et al., 2024).

Quando esse perfil funcional é correlacionado com os dados de abundância diferencial, torna-se evidente que os grupos altamente expressos na Ilha, como Cyanobacteriota e Acidobacteriota, contribuem para vias metabólicas fotossintéticas, biossíntese de compostos bioativos e fixação de nitrogênio. Já em ambientes urbanos, a dominância de táxons como Burkholderiaceae e Pseudomonadaceae se traduz em funções adaptativas robustas, alta plasticidade genética e capacidade de colonizar nichos quimicamente diversos e perturbados.

A relação com os metadados físico-químicos fortalece essa interpretação: enquanto as amostras da Ilha exibem maiores níveis de oxigênio dissolvido, salinidade e equilíbrio iônico, as amostras urbanas são caracterizadas por menor oxigenação, pH ácido, alta turbidez e maiores cargas de nutrientes dissolvidos — todos fatores que favorecem o surgimento de microbiomas especializados na sobrevivência ao estresse, resistência e biodegradação.

5.6. Potencial de Degradação de Xenobióticos e Resistência a Antibióticos

O perfil funcional das comunidades microbianas revelou um enriquecimento marcante de genes associados tanto à degradação de xenobióticos quanto a mecanismos de resistência a antibióticos, especialmente em amostras provenientes de ambientes de praias urbanas. Essas duas categorias funcionais — embora mecanicamente distintas — refletem pressões ecológicas sobrepostas impostas pela atividade antrópica, resultando em uma dupla seleção para a capacidade de degradação de poluentes e para sistemas moleculares de defesa.

Nesse contexto, o microbioma urbano apresentou um conjunto robusto de genes codificadores de enzimas de inativação de antibióticos, conforme demonstrado na **Figura 17**, incluindo ampC (β -lactamases AmpC), bla (classe ampla de β -lactamases), tetA (efluxo de tetraciclina), aac (acetiltransferases de aminoglicosídeos), vanA e vanB (operons de resistência à vancomicina). Esses genes frequentemente estavam acompanhados por bombas de efluxo multidrogas, β -lactamases metálicas e independentes de metais, além de uma ampla gama de genes relacionados à resistência a fármacos, sugerindo que essas comunidades microbianas abrigam um resistoma complexo capaz de enfrentar múltiplas classes de antimicrobianos (Gasparrini et al., 2020; Gil-Gil et al., 2020; Mosaka et al., 2023).

Interessantemente, muitos desses mecanismos de resistência não são passivos; envolvem processos dependentes de energia, como o funcionamento de bombas de efluxo e modificações enzimáticas (Zheng e Lupoli, 2023), os quais requerem respostas transcricionais finamente reguladas e alocação de recursos. A presença de citocromos P450, por exemplo, destaca não apenas seu papel na oxidação de xenobióticos, mas também sua capacidade de participar na detoxificação de uma variedade de compostos exógenos, incluindo fármacos. Essas enzimas são capazes de catalisar reações de hidroxilação em substratos estruturalmente diversos, e sua abundância é indicativa da adaptação microbiana à complexidade química (Esteves et al., 2021).

Complementando o potencial de resistência, o microbioma urbano também revelou alta frequência de genes envolvidos no catabolismo de compostos xenobióticos,

particularmente hidrocarbonetos aromáticos mono- e policíclicos (PAHs). Genes como *phnA* e *phnB* (degradação de fenóis), *xyIA*, *xyIB* e *xylE* (degradação de xileno), *nahA* (dioxigenase de naftaleno), *catA* e *catB* (dioxigenases de catecol), *ligA* e *ligB* (quebra de aromáticos derivados da lignina), *tmoA* (monooxigenase de tolueno) e *pmoA* (monooxigenase de metano particulado) ilustram um repertório metabólico especializado na degradação de compostos aromáticos persistentes e tóxicos (Tetyana Kobets et al., 2018; Yadav et al., 2020).

Esses genes representam rotas degradativas complementares, incluindo vias aeróbias e anaeróbias, indicando que os consórcios microbianos não apenas são metabolicamente versáteis, mas também capazes de se adaptar a condições redox variáveis frequentemente encontradas em sedimentos da zona entremarés e do arrebentamento. Tal versatilidade melhora a sobrevivência microbiana em ambientes quimicamente heterogêneos, como aqueles próximos a áreas costeiras urbanizadas, onde o aporte de poluentes pode ser episódico e multifatorial (por exemplo, hidrocarbonetos, detergentes, fármacos).

De uma perspectiva de biologia de sistemas, esse perfil funcional duplo (resistência + degradação) ilustra como as comunidades microbianas evoluíram arquiteturas metabólicas modulares, permitindo-lhes responder de forma flexível a uma gama de pressões ambientais. Essa configuração pode também promover a transferência horizontal de genes (HGT), particularmente em ambientes ricos em biofilmes, comuns em ecossistemas costeiros com marés flutuantes e disponibilidade variável de substrato. A co-localização de genes de resistência e degradação em elementos genéticos móveis, como plasmídeos ou elementos conjugativos integrativos, levanta a possibilidade de co-seleção, onde a presença de poluentes promove indiretamente a resistência a antibióticos, e vice-versa (Larsson e Flach, 2021).

Esse fenômeno tem implicações profundas não apenas para a saúde pública (Martak et al., 2024) — uma vez que reservatórios ambientais de genes de resistência podem servir como fontes para patógenos clínicos — mas também para a inovação biotecnológica (King et al., 2022). A presença de genes catabólicos raros ou novos, particularmente aqueles envolvidos na degradação de compostos BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno, xileno), torna esses microbiomas candidatos promissores para a descoberta de enzimas voltadas à biorremediação, aplicações em biologia sintética ou consórcios microbianos engenheirados.

Notavelmente, o microbioma da Ilha, embora apresente muito menos desses genes, não deve ser desconsiderado. Seu perfil funcional inclui alguns genes relacionados ao metabolismo de compostos naturais e à detoxificação, embora em menores abundâncias. Isso sugere que, embora as pressões seletivas sejam menores em ambientes insulares, ainda existe uma capacidade metabólica basal para resiliência, possivelmente vinculada a compostos

aromáticos naturais ou a interações ecológicas com matéria vegetal e algal. Além disso, a ausência de pressão seletiva intensa pode permitir maior estabilidade dessas vias, livres dos trade-offs evolutivos tipicamente associados à resistência e a ambientes de alto estresse.

5.7. Implicações para reservatórios de patógenos e transferência de genes associados a contaminantes

A análise metagenômica comparativa destaca a influência significativa da urbanização sobre os perfis funcionais das comunidades bacterianas em ambientes praianos. As comunidades de praias urbanas apresentaram uma abundância marcadamente maior de genes relacionados ao estresse e à resistência a antibióticos, sugerindo que esses ambientes são profundamente impactados pela atividade humana, provavelmente em função de fatores como poluição, descarte de resíduos e uso disseminado de antibióticos (Tao et al., 2022). A elevada presença desses genes evidencia a resposta adaptativa das comunidades microbianas aos estressores antrópicos predominantes nas regiões costeiras urbanas (Lin et al., 2023).

Em contraste, as comunidades bacterianas das praias insulares apresentaram um conjunto mais diversificado de categorias funcionais relacionadas à biossíntese e ao metabolismo. Esses achados enfatizam o papel dos ambientes insulares no suporte a comunidades microbianas mais alinhadas com processos ecológicos naturais. Tais ambientes parecem favorecer populações microbianas com funções especializadas que contribuem para a manutenção da estabilidade do ecossistema e para o ciclo de nutrientes.

Os resultados sugerem que a urbanização pode comprometer significativamente a diversidade e a funcionalidade microbiana, potencialmente afetando processos ecológicos essenciais, como o ciclo biogeoquímico de nutrientes e a biodegradação (Lin et al., 2023). Ademais, a presença de genes de resistência a antimicrobianos nas comunidades microbianas das praias urbanas representa um risco potencial à saúde pública (Martínez, 2018). Tais comunidades podem atuar como reservatórios de genes de resistência, os quais podem ser transferidos para bactérias patogênicas, agravando a disseminação da resistência antimicrobiana.

A distribuição diferencial das espécies microbianas entre praias urbanas e insulares levanta preocupações sobre o papel dos ambientes urbanos como hotspots para a disseminação de genes associados a contaminantes. Bactérias que prosperam em áreas costeiras urbanas têm maior probabilidade de adquirir e disseminar genes de resistência a antibióticos e outros elementos genéticos relacionados a contaminantes, em virtude da maior

exposição a poluentes e pressões antrópicas. Por outro lado, ambientes insulares podem funcionar como reservatórios de comunidades microbianas nativas com adaptações genéticas únicas. Essas comunidades podem fornecer informações valiosas sobre mecanismos naturais de resistência e estabilidade ecológica. A interação entre essas populações e seus elementos genéticos merece investigação adicional para avaliar os riscos potenciais tanto à saúde humana quanto à integridade dos ecossistemas.

5.8. Categorias cog de baixa abundância, mas ecologicamente importantes

Algumas categorias COG com abundância relativamente baixa também merecem destaque devido à sua relevância ecológica desproporcional, especialmente no contexto de ambientes costeiros. Por exemplo, a categoria [N] Motilidade celular, embora modestamente representada, engloba funções relacionadas à motilidade flagelar, quimiotaxia e colonização de superfícies. Esses processos são essenciais para a formação de biofilmes e o estabelecimento de comunidades microbianas em substratos dinâmicos, como areia e rochas. Em ambientes urbanos, onde os substratos são frequentemente alterados por atividades antrópicas e variações de maré, a presença desses genes pode estar associada à formação de biofilmes resilientes e consórcios microbianos estáveis em superfícies móveis ou contaminadas.

A categoria [Z] Citoesqueleto apareceu de forma apenas marginal, mas sua presença — embora rara em procariotos — pode indicar a atividade de grupos específicos como Planctomycetota ou Verrucomicrobia, os quais apresentam compartimentalização celular incomum. Esses microrganismos são particularmente abundantes em ambientes marinhos oligotróficos e exibem elevada plasticidade morfológica e metabólica, o que os torna candidatos promissores para a bioprospecção.

Outra categoria de baixa abundância, mas estrategicamente importante, é a [W] Estruturas extracelulares, que inclui funções relacionadas a pili, vesículas e sistemas de secreção extracelular. Essas estruturas estão envolvidas na transferência horizontal de genes, colonização de nichos e defesa contra predadores microbianos, reforçando a importância ecológica dessas funções em ambientes competitivos, como zonas costeiras urbanas.

5.9. Reservatório genético não caracterizado / conteúdo genômico não anotado ou “matéria escura microbiana”

Um dos achados mais intrigantes da análise funcional foi a alta proporção de genes classificados como “função desconhecida” ([S]) e “previsão de função geral apenas” ([R]) em ambos os tipos de amostras — com presença proporcionalmente maior nas amostras da Ilha. Esse padrão revela um reservatório genético ainda amplamente não caracterizado, consistente com o conceito de “matéria escura genômica” nos microbiomas ambientais (Vanni et al., 2022).

Nas amostras da Ilha, essa fração pode estar associada à presença de microrganismos endêmicos ou pouco estudados, adaptados a microambientes específicos como zonas de transição salina, substratos orgânicos naturais costeiros e micro-nichos formados por algas e sedimentos marinhos (Stockdale et al., 2009). A combinação de elevada salinidade, altos níveis de oxigênio e baixa interferência antrópica favorece um ambiente mais estável e cientificamente menos explorado, permitindo a proliferação de microrganismos cujas funções ainda não foram descritas — potencialmente associados à produção de novos metabólitos secundários ou mecanismos fisiológicos singulares (Liu et al., 2024).

Nas amostras Urbanas, apesar de um ambiente mais perturbado e quimicamente homogêneo, também foi observada uma fração substancial de genes desconhecidos. Neste caso, é provável que muitos desses genes estejam envolvidos em respostas complexas ao estresse, biodegradação de xenobióticos e resistência multifatorial — vias ainda pouco elucidadas nas bases de dados funcionais atualmente disponíveis. O fato de muitos dos microrganismos presentes nas amostras Urbanas serem adaptativos, oportunistas e equipados com elementos genéticos móveis sugere que essa fração desconhecida também pode incluir mecanismos inovadores de resistência e desintoxicação.

Esse achado é altamente relevante sob a perspectiva biotecnológica. Genes de função desconhecida, especialmente aqueles expressos em ambientes extremos ou altamente seletivos (como os Urbanos), podem servir como fontes de novas enzimas industriais, biocatalisadores ou moléculas bioativas com propriedades antimicrobianas ou anticancerígenas. Portanto, tanto ambientes Urbanos quanto Insulares abrigam um valioso potencial genético que merece investigação funcional e bioquímica aprofundada, incluindo abordagens como metagenômica funcional e expressão gênica heteróloga (Vanni et al., 2022).

6. CONCLUSÃO

Este estudo revelou diferenças marcantes entre as comunidades microbianas de praias urbanas e insulares, tanto do ponto de vista taxonômico quanto funcional, associadas à contaminação por antibióticos e xenobióticos. Do ponto de vista taxonômico, ambos os ambientes foram dominados por Pseudomonadota, Bacteroidota e Bacillota; no entanto, as praias urbanas apresentaram maior abundância de gêneros associados a habitats eutróficos e contaminados, como *Escherichia* e *Clostridium*, enquanto as praias insulares foram enriquecidas com táxons típicos de ecossistemas marinhos oligotróficos e estáveis. Funcionalmente, os microbiomas urbanos exibiram um perfil adaptativo e generalista, com forte enriquecimento em vias relacionadas à degradação de xenobióticos, resistência a antibióticos e catabolismo expandido (categorias COG [V], [P], [T], [Q]), refletindo a influência da poluição, turbidez e carga de nutrientes. Em contraste, os microbiomas insulares, habitando águas mais claras e oxigenadas, apresentaram especialização metabólica com vias voltadas à biossíntese de cofatores e processamento de proteínas, além de um reservatório de genes com funções ainda desconhecidas, mas com potencial ecológico e biotecnológico. Esses achados destacam a importância da preservação de ambientes insulares como reservatórios genéticos inexplorados e demonstram como ambientes urbanos funcionam como laboratórios naturais para a seleção de microrganismos resistentes e metabolicamente versáteis.

REFERÊNCIAS

- Zhi, M., Zhao, Y., Zeng, X., Maddela, N.R., Xiao, Y., Chen, Y., et al. (2023) Filamentous cyanobacteria and hydrophobic protein in extracellular polymeric substances facilitate algae—bacteria aggregation during partial nitrification. *International Journal of Biological Macromolecules* 251: 126379.
- Sharpe, G., Zhao, L., Meyer, M.G., Gong, W., Burns, S.M., Tagliabue, A., et al. (2023) *Synechococcus* nitrogen gene loss in iron-limited ocean regions. *ISME Communications* 3: 1–11.
- Zhao, C., He, X., Dan, X., He, M., Zhao, J., Meng, H., et al. (2022) Soil dissolved organic matters mediate bacterial taxa to enhance nitrification rates under wheat cultivation. *The Science of The Total Environment* 828: 154418–154418.
- Miglani, R., Parveen, N., Kumar, A., Ansari, M.A., Khanna, S., Rawat, G., et al. (2022) Degradation of Xenobiotic Pollutants: An Environmentally Sustainable Approach. *Metabolites* 12: 818.
- Finn, D.R. (2024) A metagenomic alpha-diversity index for microbial functional biodiversity. *FEMS Microbiology Ecology*.
- Liu, Y.-X., Qin, Y., Chen, T., Lu, M., Qian, X., Guo, X., and Bai, Y. (2020) A practical guide to amplicon and metagenomic analysis of microbiome data. *Protein & Cell* 12: 315–330.
- Cantalapiedra, C.P., Hernández-Plaza, A., Letunic, I., Bork, P., and Huerta-Cepas, J. (2021) eggNOG-mapper v2: Functional Annotation, Orthology Assignments, and Domain Prediction at the Metagenomic Scale. *Molecular Biology and Evolution* 38: 5825–5829.
- Alanzi, A.R. (2024) Exploring Microbial Dark Matter for the Discovery of Novel Natural Products: Characteristics, Abundance Challenges and Methods. *Journal of microbiology and biotechnology* 35: 10.4014/jmb.2407.07064.

PACE, N. R. A Molecular View of Microbial Diversity and the Biosphere. *Science*, v. 276, n. 5313, p. 734–740, 2 maio 1997.

GIBSON, G.; MUSE, S. V. *A primer of genome science*. Sunderland: Sinauer Associates, Cop, 2009.

SIMON, S. A. et al. Dancing the Nanopore limbo – Nanopore metagenomics from small DNA quantities for bacterial genome reconstruction. *BMC Genomics*, v. 24, n. 1, 1 dez. 2023.

AMANN, R. I.; LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K. H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews*, v. 59, n. 1, p. 143–169, mar. 1995.

OLIVA, BIANCA et al. Metagenomic exploration of cold-active enzymes for detergent applications: Characterization of a novel, cold-active and alkali-stable GH8 endoglucanase from ikaite columns in SW Greenland. *Applied Microbiology International*, v. 17, n. 6, 17 jun. 2024.

MARDIS, E. R. Next-generation sequencing platforms. *Annual Review of Analytical Chemistry (Palo Alto, Calif.)*, v. 6, p. 287–303, 2013.

HU, T. et al. Next-generation sequencing technologies: An overview. *Human Immunology*, v. 82, n. 11, 19 mar. 2021.

BUYTAERS, F. E. et al. Strain-level characterization of foodborne pathogens without culture enrichment for outbreak investigation using shotgun metagenomics facilitated with nanopore adaptive sampling. *Frontiers in Microbiology*, v. 15, 1 mar. 2024.

KAVIARASU MUNIAN et al. Environmental DNA metabarcoding of freshwater fish in Malaysian tropical rivers using short-read nanopore sequencing as a potential biomonitoring tool. *Molecular Ecology Resources*, 28 fev. 2024.

SPOHR, P. et al. Insights into gut microbiomes in stem cell transplantation by comprehensive shotgun long-read sequencing. *Scientific Reports*, v. 14, n. 1, 19 fev. 2024.

GIRGIS, S. T. et al. Nanopore sequencing for real-time genomic surveillance of *Plasmodium falciparum*. *bioRxiv (Cold Spring Harbor Laboratory)*, 20 dez. 2022.

ZHAO, W. et al. Oxford nanopore long-read sequencing enables the generation of complete bacterial and plasmid genomes without short-read sequencing. *Frontiers in Microbiology*, v. 14, 15 maio 2023.

BERG, G. et al. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*, v. 8, n. 1, 30 jun. 2020.

BOCTOR, J.; OWEDA, M.; EL-HADIDI, M. Comprehensive Guideline for Microbiome Analysis Using R. *Methods in Molecular Biology*, p. 393–436, 1 jan. 2023.

SEMENOV, A. V. et al. Influence of temperature fluctuations on *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in cow manure. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 60, n. 3, p. 419–428, jun. 2007.

BANERJEE, S.; SCHLAEPPI, K.; VAN DER HEIJDEN, M. G. A. Keystone taxa as drivers of microbiome structure and functioning. *Nature Reviews Microbiology*, v. 16, n. 9, p. 567–576, 22 maio 2018.

JIANG, X. et al. Dissemination of antibiotic resistance genes from antibiotic producers to pathogens. *Nature Communications*, v. 8, n. 1, 7 jun. 2017.

KERN, L. et al. Commensal inter-bacterial interactions shaping the microbiota. *Current Opinion in Microbiology*, v. 63, p. 158–171, out. 2021.

KARKMAN, A.; PÄRNÄNEN, K.; LARSSON, D. G. J. Fecal pollution can explain antibiotic resistance gene abundances in anthropogenically impacted environments. *Nature Communications*, v. 10, n. 1, 8 jan. 2019.

LEONARD, A. F. et al. Natural recreational waters and the risk that exposure to antibiotic resistant bacteria poses to human health. *Current Opinion in Microbiology*, v. 65, p. 40–46, fev. 2022.

CLOERN, J.; DUFFORD, R. Phytoplankton community ecology: principles applied in San Francisco Bay. *Marine Ecology Progress Series*, v. 285, p. 11–28, 2005.

CLOERN, J. E.; FOSTER, S. Q.; KLECKNER, A. E. Phytoplankton primary production in the world's estuarine-coastal ecosystems. *Biogeosciences*, v. 11, n. 9, p. 2477–2501, 7 maio 2014.

COSTA, L. S.; HUSZAR, V. L. M.; OVALLE, A. R. Phytoplankton Functional Groups in a Tropical Estuary: Hydrological Control and Nutrient Limitation. *Estuaries and Coasts*, v. 32, n. 3, p. 508–521, 19 fev. 2009.

ANAND ARCHANA; FRANCIS, C. A.; BOEHM, A. B. The Beach Aquifer Microbiome: Research Gaps and Data Needs. *Frontiers in Environmental Science*, v. 9, 26 abr. 2021.

DELONG, E. F. et al. Community genomics among stratified microbial assemblages in the ocean's interior. *Science*, v. 311, n. 5760, p. 496–503, 2006.

COUTINHO, F. et al. Comparative genomics of *Synechococcus* and proposal of the new genus *Parasynechococcus*. *PeerJ*, v. 4, p. e1522, 14 jan. 2016.

VENTER, J. C. Environmental Genome Shotgun Sequencing of the Sargasso Sea. *Science*, v. 304, n. 5667, p. 66–74, 2 abr. 2004.

SUNAGAWA, S. et al. Structure and function of the global ocean microbiome. *Science*, v. 348, n. 6237, 22 maio 2015.

DÍEZ, B. et al. Metagenomic Analysis of the Indian Ocean Picocyanobacterial Community: Structure, Potential Function and Evolution. *PLOS ONE*, v. 11, n. 5, p. e0155757, 19 maio 2016.

GREGORACCI, G. B. et al. Structuring of Bacterioplankton Diversity in a Large Tropical Bay. *PLOS ONE*, v. 7, n. 2, p. e31408–e31408, 21 fev. 2012.

YANG, Y. et al. QMRA of beach water by Nanopore sequencing-based viability-metagenomics absolute quantification. *Water Research*, v. 235, p. 119858–119858, 1 maio 2023.

MCLELLAN, S. L.; FISHER, J. C.; NEWTON, R. J. The microbiome of urban waters. *International Microbiology*, v. 18, n. 3, p. 141–149, 1 set. 2015.

LINDENBERG, M. et al. External quality assessment schemes in bacteriology support public health in Germany—results from 2006 to 2023. **Frontiers in molecular biosciences**, v. 11, 17 maio 2024.

SUN, C. et al. Antibiotic resistance spectrums of *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. strains against commonly used antimicrobials from commercial meat-rabbit farms in Chengdu City, Southwest China. **Frontiers in veterinary science**, v. 11, 2 maio 2024.

NIU, X. et al. Evolutionary trends in antifungal resistance: a meta-analysis. **Microbiology spectrum**, v. 12, n. 4, 2 abr. 2024.

TELLING, K. et al. Multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Estonian hospitals. **BMC Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, 11 out. 2018.

MOREAU, R. et al. Effects of Long-term Norfloxacin Therapy in Patients With Advanced Cirrhosis. **Gastroenterology**, v. 155, n. 6, p. 1816–1827.e9, dez. 2018.

REICHARD, U.; RETTKOWSKI, R.; SCHEITHAUER, S. Multiresistente Erreger – Prävention und Diagnostik. **AINS. Anästhesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie**, v. 51, n. 02, p. 112–120, 7 mar. 2016.

LARSSON, D. G. J.; FLACH, C.-F. Antibiotic resistance in the environment. **Nature Reviews Microbiology**, v. 20, n. 5, p. 1–13, 4 nov. 2021.

BAIN, R. et al. Fecal Contamination of Drinking-Water in Low- and Middle-Income Countries: A Systematic Review and Meta-Analysis. **PLoS Medicine**, v. 11, n. 5, p. e1001644, 6 maio 2014.

PAL, C. et al. The structure and diversity of human, animal and environmental resistomes. **Microbiome**, v. 4, n. 1, 7 out. 2016.

KARKMAN, A. et al. Antibiotic-Resistance Genes in Waste Water. **Trends in Microbiology**, v. 26, n. 3, p. 220–228, mar. 2018.

De Coster, W., D’Hert, S., Schultz, D.T., Cruts, M., and Van Broeckhoven, C. (2018) NanoPack: visualizing and processing long-read sequencing data. *Bioinformatics* 34: 2666–2669.

Sayers, E.W., Beck, J., Bolton, E.E., Bourexis, D., Brister, J.R., Canese, K., et al. (2020) Database resources of the National Center for Biotechnology Information. *Nucleic Acids Research* 49: D10–D17.

Katoh, K. and Standley, D.M. (2013) MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability. *Molecular Biology and Evolution* 30: 772–780.

Wood, D.E., Lu, J., and Langmead, B. (2019) Improved metagenomic analysis with Kraken 2. *Genome Biology* 20:

Lu, J., Breitwieser, F.P., Thielen, P., and Salzberg, S.L. (2017) Bracken: estimating species abundance in metagenomics data. *PeerJ Computer Science* 3: e104.

Price, M.N., Dehal, P.S., and Arkin, A.P. (2010) FastTree 2 – Approximately Maximum-Likelihood Trees for Large Alignments. *PLoS ONE* 5: e9490.

McMurdie, P.J. and Holmes, S. (2013) phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS ONE* 8: e61217.

Oksanen, J. (2024) vegan: an R package for community ecologists. GitHub.

Callahan, B.J., Sankaran, K., Fukuyama, J.A., McMurdie, P.J., and Holmes, S.P. (2016) Bioconductor Workflow for Microbiome Data Analysis: from raw reads to community analyses. *F1000Research* 5: 1492.

Kolmogorov, M., Bickhart, D.M., Behsaz, B., Gurevich, A., Rayko, M., Shin, S.B., et al. (2020) metaFlye: scalable long-read metagenome assembly using repeat graphs. *Nature Methods* 17: 1103–1110.

Li, D., Liu, C.-M., Luo, R., Sadakane, K., and Lam, T.-W. (2015) MEGAHIT: an ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph. *Bioinformatics* 31: 1674–1676.

Li, H. (2018) Minimap2: pairwise alignment for nucleotide sequences. *Bioinformatics* 34: 3094–3100.

Danecek, P., Bonfield, J.K., Liddle, J., Marshall, J., Ohan, V., Pollard, M.O., et al. (2021) Twelve years of SAMtools and BCFtools. *GigaScience* 10:

Ewels, P., Magnusson, M., Lundin, S., and Käller, M. (2016) MultiQC: summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report. *Bioinformatics* 32: 3047–3048.

Seemann, T. (2014) Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics* 30: 2068–2069.

Huerta-Cepas, J., Szklarczyk, D., Heller, D., Hernández-Plaza, A., Forslund, S.K., Cook, H., et al. (2018) eggNOG 5.0: a hierarchical, functionally and phylogenetically annotated orthology resource based on 5090 organisms and 2502 viruses. *Nucleic Acids Research* 47: D309–D314.

Buchfink, B., Reuter, K., and Drost, H.-G. (2021) Sensitive protein alignments at tree-of-life scale using DIAMOND. *Nature Methods* 18: 366–368.

Steinegger, M. and Söding, J. (2017) MMseqs2 enables sensitive protein sequence searching for the analysis of massive data sets. *Nature Biotechnology* 35: 1026–1028.

Jiang, T., Sun, S., Chen, Y., Qian, Y., Guo, J., Dai, R., and An, D. (2021) Microbial diversity characteristics and the influence of environmental factors in a large drinking-water source. *Science of The Total Environment* 769: 144698.

Garg, A.P. and Afeefa Ateeq (2025) Microbial Communities in Changing Climate: Challenges and Opportunities. *Microorganisms for sustainability* 57–78.

Plantinga, A.M. and Wu, M.C. (2021) Beta Diversity and Distance-Based Analysis of Microbiome Data. *Frontiers in probability and the statistical sciences* 101–127.

Simon, E., Guseva, K., Darcy, S., Alteio, L., Pjevac, P., Schmidt, H., et al. (2024) Distinct microbial communities are linked to organic matter properties in millimetre-sized soil aggregates. *The ISME Journal* 18:

Xie, G., Sun, C., Luo, W., Gong, Y., and Tang, X. (2024) Distinct ecological niches and community dynamics: understanding free-living and particle-attached bacterial communities in an oligotrophic deep lake. *Applied and Environmental Microbiology*.

Liang, S., Li, H., Wu, H., Yan, B., and Song, A. (2023) Microorganisms in coastal wetland sediments: a review on microbial community structure, functional gene, and environmental potential. 14:

Manal Chrairi, Said Barrijal, Castellano-Hinojosa, A., Youssra Boumait, Chahrazade El Hamouti, Afaf Lamzouri, et al. (2024) Metagenomic Analysis of Microbial Diversity in the Moroccan Coastal Water of the Gibraltar Strait. *Water* 16: 3202–3202.

Filippidou, S., Wunderlin, T., Junier, T., Jeanneret, N., Dorador, C., Molina, V., et al. (2016) A Combination of Extreme Environmental Conditions Favor the Prevalence of Endospore-Forming Firmicutes. *Frontiers in Microbiology* 7:

Sanz-Montero, M.E., Cabestrero, Ó., and Sánchez-Román, M. (2019) Microbial Mg-rich Carbonates in an Extreme Alkaline Lake (Las Eras, Central Spain). *Frontiers in Microbiology* 10:

Liang, J., Mao, G., Yin, X., Ma, L., Liu, L., Bai, Y., et al. (2020) Identification and quantification of bacterial genomes carrying antibiotic resistance genes and virulence factor genes for aquatic microbiological risk assessment. *Water Research* 168: 115160.

Ge, H., Li, C., Huang, C., Zhao, L., Cong, B., and Liu, S. (2024) Bacterial community composition and metabolic characteristics of three representative marine areas in northern China. *Marine Environmental Research* 204: 106892.

Mo, L., Zanella, A., Squartini, A., Ranzani, G., Bolzonella, C., Concheri, G., et al. (2024) Anthropogenic vs. natural habitats: Higher microbial biodiversity pays the trade-off of lower connectivity. *Microbiological Research* 282: 127651.

Ryan, M.P., Sevjahova, L., Gorman, R., and White, S. (2022) The Emergence of the Genus *Comamonas* as Important Opportunistic Pathogens. *Pathogens* 11: 1032.

Antonelli, P., Grizard, S., Tran, F.H., Lejon, D., Bellemain, A., Van, et al. (2024) Bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons and microbiota dynamics across developmental stages of the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus* exposed to urban pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 286: 117214.

Tavares, M., Kozak, M., Balola, A., and Sá-Correia, I. (2020) *Burkholderia cepacia* Complex Bacteria: a Feared Contamination Risk in Water-Based

Braz, V.S., Melchior, K., and Moreira, C.G. (2020) *Escherichia coli* as a Multifaceted Pathogenic and Versatile Bacterium. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 10: 548492.

Dang, H., Li, T., Chen, M., and Huang, G. (2008) Cross-Ocean Distribution of Rhodobacterales Bacteria as Primary Surface Colonizers in Temperate Coastal Marine Waters. *Applied and Environmental Microbiology* 74: 52–60.

Albuquerque, U.P., Gonçalves, P.H.S., Ferreira Júnior, W.S., Chaves, L.S., Oliveira, R.C. da S., Silva, T.L.L. da, et al. (2018) Humans as niche constructors: Revisiting the concept of chronic anthropogenic disturbances in ecology. *Perspectives in Ecology and Conservation* 16: 1–11.

Lin, Q., Li, L., Adams, J.M., Heděnc, P., Tu, B., Li, C., et al. (2021) Nutrient resource availability mediates niche differentiation and temporal co-occurrence of soil bacterial communities. *Applied Soil Ecology* 163: 103965.

Zhang, H., Jiang, N., Zhang, S., Zhu, X., Wang, H., Xiu, W., et al. (2024) Soil bacterial community composition is altered more by soil nutrient availability than pH following long-term nutrient addition in a temperate steppe. *Frontiers in Microbiology* 15:

Santos, A.L. dos, De-Simone, S.G., Carvalho, G.S.L., Fernandes, K.C.B., and Clementino, M.B.M. (2025) Occurrence of *Vibrio* spp. and *Pseudomonas* spp. Isolates of *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758) and Water from a Mariculture Farm in Angra dos Reis, Brazil. *Microorganisms* 13: 752.

Selim, M.S.M., Abdelhamid, S.A., and Mohamed, S.S. (2021) Secondary metabolites and biodiversity of actinomycetes. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 19:

Donald, L., Pipite, A., Subramani, R., Owen, J., Keyzers, R.A., and Taufu, T. (2022) *Streptomyces*: Still the Biggest Producer of New Natural Secondary Metabolites, a Current Perspective. *Microbiology Research* 13: 418–465.

Lenart-Boroń, A., Piotr Boroń, Kulik, K., Justyna Prajsnar, Mirosław Żelazny, and Chmiel, M.J. (2022) Anthropogenic pollution gradient along a mountain river affects bacterial community composition and genera with potential pathogenic species. *Scientific Reports* 12:

SANTOS, M.I.S., BRANDÃO, É.C.T.A., SANTOS, E., BATISTA, M.V.A., ESTEVAM, C.S., ALEXANDRE, M.R., and FERNANDES, M.F. (2021) Pendimethalin biodegradation by soil strains of *Burkholderia* sp. and *Methylobacterium radiotolerans*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 93:

Singh, A., Manish Kumar Dwivedi, Yadav, H., and Garima (2022) Potential of microbes for degradation of xenobiotics: With special focus on petroleum hydrocarbons. Elsevier eBooks 95–118.

Cheng, X., Gao, Y., Wang, Z., Cai, Y., and Wang, X. (2023) Agricultural Jiaosu Enhances the Stress Resistance of Pak Choi (*Brassica rapa* L. subsp. *chinensis*) by Recruiting Beneficial Rhizosphere Bacteria and Altering Metabolic Pathways. *Agronomy* 13: 2310–2310.

Lu, Z., Kvammen, A., Li, H., Hao, M., Inman, A.R., Bulone, V., and McKee, L.S. (2023) A polysaccharide utilization locus from *Chitinophaga pinensis* simultaneously targets chitin and β -glucans found in fungal cell walls. *mSphere* 8:

Yadav, S., Koenen, M., Bale, N.J., Reitsma, W., Engelmann, J.C., Stefanova, K., et al. (2024) Organic matter degradation in the deep, sulfidic waters of the Black Sea: insights into the ecophysiology of novel anaerobic bacteria. *Microbiome* 12:

Carini, P., Steindler, L., Beszteri, S., and Giovannoni, S.J. (2012) Nutrient requirements for growth of the extreme oligotroph “*Candidatus Pelagibacter ubique*” HTCC1062 on a defined medium. *The ISME Journal* 7: 592–602.

Galperin, M.Y. (2016) *Genome Diversity of Spore-Forming Firmicutes*. ASM Press eBooks 1–18.

Eltokhy, M.A., Saad, B.T., Eltayeb, W.N., Yahia, I.S., Aboshanab, K.M., and Ashour, E. (2021) Exploring the Nature of the Antimicrobial Metabolites Produced by *Paenibacillus ehimensis* Soil Isolate MZ921932 Using a Metagenomic Nanopore Sequencing Coupled with LC-Mass Analysis. *Antibiotics* 11: 12–12.

Behrendt, U., Schumann, P., Stieglmeier, M., Pukall, R., Augustin, J., Spröer, C., et al. (2010) Characterization of heterotrophic nitrifying bacteria with respiratory ammonification and denitrification activity – Description of *Paenibacillus uliginis* sp. nov., an inhabitant of fen peat soil and *Paenibacillus purispatii* sp. nov., isolated from a spacecraft assembly clean room. *Systematic and Applied Microbiology* 33: 328–336.

Hernández-Ospina, D.A., Osorio-González, C.S., Miri, S., and Satinder Kaur Brar (2024) New perspectives on the anaerobic degradation of BTEX: Mechanisms, pathways, and intermediates. *Chemosphere* 361: 142490–142490.

Wu, H., Du, X., Wu, W., Zheng, J., Song, J., and Xie, J. (2023) Metagenomic analysis reveals specific BTEX degrading microorganisms of a bacterial consortium. *AMB express* 13:

Lopez, E.S., Elufisan, T.O., Bustos, P., Charles, C.P.M., Mendoza-Herrera, A., and Guo, X. (2022) Complete Genome Report of a Hydrocarbon-Degrading *Sphingobium yanoikuyae* S72. *Applied Sciences* 12: 6201.

Culligan, E.P., Sleator, R.D., Marchesi, J.R., and Hill, C. (2013) Metagenomics and novel gene discovery. *Virulence* 5: 399–412.

Meka, A.F., Bekele, G.K., Abas, M.K., and Mesfin Tafesse Gemedo (2024) Exploring microbial diversity and functional gene dynamics associated with the microbiome of Sof Umer cave, Ethiopia. *Deleted Journal* 6:

Koksharova, O.A. and Safronov, N.A. (2022) The effects of secondary bacterial metabolites on photosynthesis in microalgae cells. *Biophysical Reviews* 14: 843–856.

Soaudy, M.R., Ghonimy, A., Greco, L.S.L., Chen, Z., Dyzenchauz, A., and Li, J. (2023) Total suspended solids and their impact in a biofloc system: Current and potentially new management strategies. *Aquaculture* 572: 739524.

Bech, P.K., Jarmusch, S.A., Rasmussen, J.A., Morten Tønsberg Limborg, Gram, L., and Suhr, N.N. (2024) Succession of microbial community composition and secondary metabolism during marine biofilm development. *ISME Communications* 4:

Cecilie, A., Ingun Lund Witsø, Sundaram, M., Ola Brønstad Brynildsrud, Pettersen, K., Eirik Byrkjeflot Anonsen, et al. (2024) Transcriptomic and proteomic analysis of the virulence inducing effect of ciprofloxacin on enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *PloS one* 19: e0298746–e0298746.

Tuteja, N., Ahmad, P., Panda, B.B., and Tuteja, R. (2009) Genotoxic stress in plants: Shedding light on DNA damage, repair and DNA repair helicases. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 681: 134–149.

Sakuragi, Y. and Kolter, R. (2007) Quorum-Sensing Regulation of the Biofilm Matrix Genes (*pel*) of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology* 189: 5383–5386.

Sharrar, A.M., Crits-Christoph, A., Méheust, R., Diamond, S., Starr, E.P., and Banfield, J.F. (2020) Bacterial Secondary Metabolite Biosynthetic Potential in Soil Varies with Phylum, Depth, and Vegetation Type. *mBio* 11:

Geers, A.U., Yannick Buijs, Schostag, M.D., Elberling, B., and Mikkel Bentzon-Tilia (2024) Exploring the biosynthesis potential of permafrost microbiomes. *Environmental Microbiome* 19:

Gasparrini, A.J., Markley, J.L., Kumar, H., Wang, B., Fang, L., Irum, S., et al. (2020) Tetracycline-inactivating enzymes from environmental, human commensal, and pathogenic bacteria cause broad-spectrum tetracycline resistance. *Communications Biology* 3:

Gil-Gil, T., Corona, F., Martínez, J.L., and Bernardini, A. (2020) The Inactivation of Enzymes Belonging to the Central Carbon Metabolism Is a Novel Mechanism of Developing Antibiotic Resistance. *mSystems* 5:

Mosaka, T.B.M., Unuofin, J.O., Daramola, M.O., Tizaoui, C., and Iwarere, S.A. (2023) Inactivation of antibiotic-resistant bacteria and antibiotic-resistance genes in wastewater streams: Current challenges and future perspectives. *Frontiers in Microbiology* 13:

Zheng, M. and Lupoli, T.J. (2023) Counteracting antibiotic resistance enzymes and efflux pumps. *Current Opinion in Microbiology* 75: 102334.

Esteves, F., Rueff, J., and Kranendonk, M. (2021) The Central Role of Cytochrome P450 in Xenobiotic Metabolism—A Brief Review on a Fascinating Enzyme Family. *Journal of Xenobiotics* 11: 94–114.

Tetyana Kobets, Iatropoulos, M.J., Duan, J.D., Brunnemann, K.D., Iacobas, D.A., Iacobas, S., et al. (2018) Expression of Genes Encoding for Xenobiotic Metabolism After Exposure to DialkylNitrosamines in the Chicken Egg Genotoxicity Alternative Model. *Toxicological Sciences*.

Yadav, R., Rajput, V., and Mahesh Dharne (2020) Functional metagenomic landscape of polluted river reveals potential genes involved in degradation of xenobiotic pollutants. *Environmental Research* 192: 110332–110332.

Larsson, D.G.J. and Flach, C.-F. (2021) Antibiotic resistance in the environment. *Nature Reviews Microbiology* 20: 1–13.

Martak, D., Henriot, C.P., and Didier Hocquet (2024) Environment, animals, and food as reservoirs of antibiotic-resistant bacteria for humans: One health or more? *Infectious Diseases Now* 54: 104895–104895.

King, L., Sibanda, T., Ramganesch Selvarajan, El-Liethy, M.A., and Ilunga Kamika (2022) Editorial: Environmental Reservoirs of Antibiotic Resistance Determinants: A Ticking Time Bomb for the Future Emergence of Super-Bugs of Environmental and Public Health Importance. *Frontiers in Environmental Science* 10:

Tao, S., Chen, H., Li, N., Wang, T., and Liang, W. (2022) The Spread of Antibiotic Resistance Genes in Vivo Model. *The Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology = Journal Canadien Des Maladies Infectieuses Et De La Microbiologie Médicale* 2022: 3348695.

Lin, X., Ma, J., Zhou, Z., Qiao, B., Li, Y., Zheng, W., and Tian, Y. (2023) Oil-contaminated sites act as high-risk pathogen reservoirs previously overlooked in coastal zones. *Water Research* 242: 120225–120225.

Martínez, J.L. (2018) Ecology and Evolution of Chromosomal Gene Transfer between Environmental Microorganisms and Pathogens. *Microbiology Spectrum* 6:

Vanni, C., Schechter, M.S., Acinas, S.G., Barberán, A., Buttigieg, P.L., Casamayor, E.O., et al. (2022) Unifying the known and unknown microbial coding sequence space. *eLife* 11: e67667.

Stockdale, A., Davison, W., and Zhang, H. (2009) Micro-scale biogeochemical heterogeneity in sediments: A review of available technology and observed evidence. 92: 81–97.

Liu, L., Wang, H., Luo, Z., and Chen, J. (2024) Biogeographic patterns of micro-eukaryotic generalists and specialists and their effects on regional α -diversity at inter-oceanic scale. *Marine Environmental Research* 193: 106261.