



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
MICROBIOLOGIA APLICADA

**FUNGOS DE SOLOS DE RECUO DE GELEIRAS ANTÁRTICAS:
AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE E ECOLOGIA**

JULIANA APARECIDA DOS SANTOS

Rio Claro - SP

2020



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
MICROBIOLOGIA APLICADA

**FUNGOS DE SOLOS DE RECUO DE GELEIRAS ANTÁRTICAS:
AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE E ECOLOGIA**

JULIANA APARECIDA DOS SANTOS

Orientadora: Profa. Dra. Lara Durães Sette

Co-orientador: Prof. Dr. Rubens Tadeu Delgado Duarte

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada).

Rio Claro - SP

2020

S237f

Santos, Juliana Aparecida dos

Fungos de solos de recuo de geleiras antárticas: avaliação da diversidade e ecologia / Juliana Aparecida dos Santos. -- Rio Claro, 2020

185 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro

Orientadora: Lara Durães Sette

Coorientadora: Rubens Tadeu Delgado Duarte

1. Fungos Antárticos. 2. Recuo de Geleiras. 3. Metabarcoding. 4. Diversidade Fúngica. 5. Ecologia Microbiana. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: FUNGOS DE SOLOS DE RECUO DE GELEIRAS ANTÁRTICAS:
AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE E ECOLOGIA

AUTORA: JULIANA APARECIDA DOS SANTOS

ORIENTADORA: LARA DURÃES SETTE

COORIENTADOR: RUBENS TADEU DELGADO DUARTE

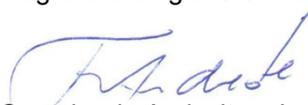
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (MICROBIOLOGIA APLICADA), área: Microbiologia Aplicada pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. LARA DURÃES SETTE 
Departamento de Biologia Geral e Aplicada / IB Rio Claro

Prof. Dr. ANDRÉ RODRIGUES 
Departamento de Biologia Geral e Aplicada / IB Rio Claro

Profa. Dra. MILENE FERRO 
Pós-Doutoranda do Centro de Estudos de Insetos Sociais / IB Rio claro

Profa. Dra. AMANDA GONÇALVES BENDIA 
Pós-Doutoranda do Departamento de Oceanografia Biológica / Universidade de São Paulo

Prof. Dr. FERNANDO DINI ANDREOTE 
Departamento de Ciência do Solo / Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ)

Rio Claro, 16 de setembro de 2020

Dedico a minha filha Clara

AGRADECIMENTOS

Sou muito grata pela oportunidade de ter ingressado na Pós Graduação. Foi uma jornada com muitas transformações ao longo da caminhada. Houve momentos de extrema paixão e desilusão pela ciência, cada um com sua importância. Explorei e mergulhei em diversos contextos, conteúdos e áreas. Aos poucos compreendi minha maneira de ver e fazer ciência.

Todo esse processo só foi possível graças a minha orientadora prof. Lara D. Sette. Agradeço imensamente pela oportunidade de fazer parte do seu grupo de pesquisa. Sou grata por cada palavra, apoio, ajuda, amizade, orientação e compreensão. Agradeço por toda confiança e liberdade, com certeza isso foi fundamental durante minha caminhada.

Ao co-orientador desse trabalho, prof. Rubens Duarte por todas as experiências proporcionadas, ensinamentos, conversas e incentivo. Agradeço imensamente por ter me recebido em seu grupo de pesquisa e ter apresentando a Bioinformática.

Ao prof. André por todos ensinamentos, ajuda e diversas conversas que foram muito produtivas durante todo esse tempo.

Ao Programa Antártico Brasileiro, por viabilizar o presente projeto, oferecendo toda a logística, através da Aeronáutica e Marinha brasileira, para o acesso à Antártica. E ao grupo Endurance, que nos auxiliaram em todos os momentos antárticos.

Aos integrantes antigos e atuais do LAMAI. Tive a oportunidade de ver esse laboratório nascer e acompanhar todo processo. São tantas pessoas especiais que somaram na minha vida nesse longo período que prefiro não citar o nome para não correr o risco de esquecer de alguém. Agradeço por tornarem a rotina laboratorial mais leve e divertida.

A todos do laboratório LESF, por todo companheirismo, conversas e ajudas.

Agradeço a todos do laboratório de Microbiologia do solo (UFSC) pela acolhida, chimarrão, cafés e amizades. Agradeço em especial ao lab. LEMEx, a esse grupo de pessoas tão motivadas a fazer e divulgar ciência.

Ao Davi, Gabizinha e Priscila aprendi muito sendo co-orientadora de seus projetos, foi uma lição valiosa.

Agradeço minha grande amiga Lia, como ouvi certa vez, amizades antárticas são para sempre. É difícil expressar toda minha gratidão, foram muitas aventuras (com emoções), cafezinhos, conversas, ajudas e momentos especiais. E ao seu noivo Marcos, que tornou um grande amigo.

Aos meus amigos Maria e Quimi, sou muito grata por ter vocês na minha vida. Agradeço em especial ao Quimi por todos os ensinamentos, ajudas e conversas que contribuíram tanto para meu trabalho quanto para minha vida. Vocês moram no meu coração.

Às minhas amigas Fabi e Thais agradeço por todos os momentos, jantarzinhos, cafés, barzinhos e tantas coisas boas vividas juntas que deixaram a vida mais leve e especial.

À minha eterna amiga Gabi, o tempo passa, a distância aumenta e a gente continua sempre com assuntos para longas e boas conversas. Agradeço muito por toda ajuda, apoio, incentivo e por fazer parte da minha vida.

À minha amiga Lisa, admiro tanto essa mulher forte e guerreira. Um exemplo de mãe e doutoranda. Gratidão por tudo, em especial por me ajudar na introdução ao mundo da "maternidade".

Às minhas maninhas Loris e Brenda, gratidão por todas as risadas, momentos lindos e por compartilharem comigo a busca do caminho do autoconhecimento.

À minha amiga Aline, por todas nossas conversas, pela amizade, abraços apertados e o yoga que deixaram os dias mais leves.

À amiga Irina, essa Cubana tão especial que alegrou minha vida e me fez ver o mundo de outra forma. Agradeço por mesmo longe fazer parte dos meus dias.

À Raiane, nossa amizade vem desde a graduação, juntas desbravamos o TCC. Obrigada por continuar na minha vida, por todo incentivo e palavras bonitas.

Às "Xeramelas", Alice, Bruna, Lila e Amanda. Gratidão pela oportunidade de ter vivido com vocês, mesmo que por um tempo curto. Aprendi a ver a vida de uma forma mais leve.

Agradeço a República Ninho pela acolhida em Florianópolis. Conheci tantas pessoas especiais, foram tantos momentos bons que ficaram guardados para sempre.

À minha amiga Mariana, agradeço pela amizade, pelo incentivo para começar a correr, por todos nossos 'rolezinhos' gastronômicos pela ilha e por todas aventuras.

À Dani por toda amizade, conversas, praias, desabafos e tantos momentos bons.

Ao Ednilson, agradeço a amizade, incansáveis trocas de informações, colaboração, ensinamentos e por toda ajuda.

Agradeço imensamente aos meus pais, Silvana e João. Gratidão por todo apoio, por serem meu porto seguro e meu exemplo de vida.

À minha irmã Dani por ser essa mulher corajosa que sempre vai à luta dos seus sonhos, agradeço por sempre poder contar com você.

Ao meu maninho Ryan, sou muito grata por ter você na minha vida, sua bondade e jeito tranquilo me traz inspiração.

Ao meu companheiro Maicos. Agradeço por todo apoio, incentivo e por caminhar ao meu lado. Gratidão por me entender tão bem e apoiar até minhas ideias malucas. Fico feliz em iniciar uma nova jornada ao seu lado, agora pais da Clara.

À minha filha Clara, muito em breve vamos conhecê-la. Mesmo ainda habitando meu útero, já transformou amorosamente tudo por aqui. Gratidão pela oportunidade de ser sua mãe, vamos viver uma bela aventura juntas.

Agradeço a todas as mulheres que ocuparam seus devidos lugares na Ciência, a todas que lutam para ter voz ativa, e em especial a todas mães cientistas. A educação é nossa maior ferramenta.

Agradeço a todos pesquisadores que fazem Ciência no Brasil, por resistirem a tempos tão sombrios.

Agradeço a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo número **2015/25170-1**, pela bolsa de Doutorado concedida e pelo auxílio financeiro para a realização desta pesquisa.

"O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001"

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para este trabalho, meus sinceros agradecimentos.

In an honest search for knowledge you quite often have to abide by ignorance for an indefinite period... The steadfastness in standing up to [this requirement], nay in appreciating it as a stimulus and a signpost to further quest, is a natural and indispensable disposition in the mind of a scientist.

Erwin Schrodinger

RESUMO

A retração frontal de geleiras é frequentemente considerada como um sinal evidente de aquecimento global. Os solos de geleiras abrigam uma comunidade microbiana ativa de decompositores e frente à retração contínua do gelo, o solo passa a representar um gradiente de fatores físicos, químicos e biológicos que refletem as mudanças regionais ao longo do tempo. A micologia antártica é uma ciência relativamente recente e pouco se conhece sobre a natureza biológica desse grupo de micro-organismos. O presente trabalho é parte dos projetos FAPESP 2016/07957-7, PROANTAR/CNPq MICROSFERA e CNPq Universal (407986/2018-9) e teve como objetivo principal conhecer a diversidade de fungos (utilizando métodos dependentes e independentes de cultivo) de amostras de solo de recuo de duas geleiras situadas na Península Fildes (Ilha Rei George), bem como avaliar a estrutura da comunidade de fungos e correlacioná-la à composição dos solos amostrados. Os resultados obtidos no método dependente de cultivo revelaram a diferença na composição das comunidades fúngicas ao longo do recuo da geleira Collins e a presença de isolados ainda não reportados no ambiente Antártico. Foi isolado um total de 309 fungos distribuídos em 19 gêneros. Os representantes dos gêneros *Pseudogymnoascus* e *Mortierella* apresentaram alta prevalência e dominância em todas as amostras. Os dados revelaram a presença de fungos filamentosos pertencentes ao Filo Basidiomycota, raramente isolados na Antártica. As variações ambientais demonstraram ter influenciado os gêneros *Pseudogymnoascus* e *Pseudeutorium*. A abordagem independente de cultivo (*metabarcoding* de DNA ITS1) das amostras do transecto das geleiras Collins e Baranowski, forneceu informações sobre a diversidade e composição das comunidades fúngicas desses ecossistemas. As geleiras Baranowski e Collins apresentaram diferenças na composição das comunidades fúngicas, com predominância de fungos pertencentes aos Filos Ascomycota e Basidiomycota. A composição da comunidade foi espacialmente auto-correlacionada e os resultados indicam uma certa relação com diferentes fatores ambientais, tais como, Argila, Ca e Mn. Os dados obtidos pelo método independente de cultivo possibilitaram acessar uma maior diversidade de fungos quando comparado com o método baseado em cultivo utilizado para avaliar as amostras de solos da geleira Collins. Contudo, os dois métodos revelaram a predominância do Filo Ascomycota no ambiente. No método dependente de cultivo o gênero *Pseudogymnoascus* foi o mais

abundante, corroborando os resultados de outros estudos onde este gênero se apresenta como predominante em amostras marinhas e terrestres da Antártica. Porém, no método independente de cultivo representantes do gênero *Pseudogymnoascus* não foram os prevalentes nas amostras de solo estudadas. Esta abordagem revelou um total de 190 gêneros nas amostras de solos do recuo da geleira Collins e Baranowski. Os gêneros *Verrucaria*, *Mortierella* e *Peniophora* apresentaram alta abundância e prevalência em todas as amostras. Os resultados gerados nesse trabalho contribuem para a elucidação de lacunas no meio científico, trazendo inovação, conhecimento e dados que podem ser futuramente explorados em âmbito ecológico biotecnológico.

Palavras-chave: Fungos Antártico; Recuo de geleira; Ecologia Microbiana; Diversidade Fúngica

ABSTRACT

Glacial retreat is often considered a clear sign of global warming. Glacier soils harbor an active microbial community of decomposers, and under the continuous retraction of glaciers, the soil starts to represent a gradient of physical, chemical, and biological factors that reflect local changes over time. Antarctic mycology is a relatively recent science and little is known about the biological nature of fungi in this environment. The present work is part of three projects (FAPESP 2016/07957-7, PROANTAR/CNPq MICROSFERA and CNPq Universal (407986/2018-9)) and it aimed at assessing the diversity of fungi (by the use of culture-dependent and -independent methods) from samples of glacier soil collected after glacial retreat of Collins and Baranowski glaciers (Fildes Peninsula, King George Island). Moreover, it also aimed at evaluating the structure of the fungal community and correlating it to the composition of the sampled soils. The results obtained using the culture-dependent approach revealed a difference in the composition of fungal communities along the retreat of Collins glacier. They also showed the presence of isolates that have not been reported in Antarctica yet. A total of 309 fungi distributed in 19 genera were obtained. Representatives of the genera *Pseudogymnoascus* and *Mortierella* were the most abundant in all samples. The data revealed the presence of filamentous fungi belonging to the phylum Basidiomycota, rarely found in Antarctica. Environmental variations proved to have influenced the genera *Pseudogymnoascus* and *Pseudeutorium*. The culture-independent approach (ITS1 DNA metabarcoding) of the samples from the transect of Collins and Baranowski glaciers provided information on the diversity and composition of fungal communities in those ecosystems. Collins and Baranowski glaciers showed differences in the composition of their fungal communities, with the predominance of fungi belonging to the phyla Ascomycota and Basidiomycota. The composition of the community was spatially auto-correlated and the results indicate a certain relation with different environmental factors, such as, clay, Ca and Mn. The data obtained by the culture-independent approach revealed a higher diversity of fungi in the samples from Collins glacier when compared to the culture-dependent one. Nevertheless, both approaches revealed a predominance of the phylum Ascomycota in the environment. The genus *Pseudogymnoascus* was the most abundant genus retrieved by the culture-dependent method, which confirms the results of other studies in which *Pseudogymnoascus* isolates were found to be predominant in terrestrial and marine Antarctic samples. Nonetheless, representatives of that genus were not found to be prevalent in the soil

samples when the culture-independent method was applied. This approach revealed a total of 190 fungi genera from all soil samples from Collins and Baranowski glaciers. The genera *Verrucaria*, *Mortierella* and *Peniophora* were highly abundant and prevalent in all samples. The results obtained in this work contribute to the elucidation of gaps in the scientific knowledge and bring innovation and data that can be explored in the future in the ecological and biotechnological areas.

Key words: Antarctic fungi; Glacier retreat; Microbial Ecology; Fungal Diversity

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	20
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	23
2.1. Antártica	23
2.2. Aquecimento global e a retração de geleiras na Península Antártica	25
2.3. Geleira Collins	26
2.4. Geleira Baranowski	29
2.5. Antártica como habitat microbiano	31
2.6. Diversidade de fungos de ambientes antárticos	34
2.7. Ecologia microbiana de recuo de geleiras.....	36
2.8. Sequenciamento de alto rendimento aplicado à identificação de fungos.....	39
2.9. Metabarcoding empregados no estudo das comunidades microbianas em ambientes frios	40
3. OBJETIVOS	42
3.1. Objetivo geral.....	42
3.2. Objetivo específico	42
CAPÍTULO 1	43
Abstract	44
1. INTRODUCTION	45
2. METHODS.....	46
2.1. Sampling Site.....	46
2.2. Physicochemical Analysis	47
2.3. Fungal Isolation	47
2.4. Fungal Identification	48
2.5. Accession Numbers	49
2.6. Structure and Composition of Fungal Communities	49
3. RESULTS	49
3.1. Fungi from Collins Glacier Soil Samples	49

3.2. Structure and Composition of the Fungal Communities	52
4. DISCUSSION	56
Author Contributions	60
Funding.....	60
Acknowledgments.....	60
References	61
Supplementary material	66
CAPÍTULO 2	86
RESUMO	87
1. INTRODUÇÃO	88
2. MATERIAL E MÉTODOS	90
2.1. Amostras	90
2.2. Análises físico-químicas do solo	91
2.3. Extração de DNA	91
2.4. Amplificação do DNA genômico extraídos das amostras de solo de recuo da geleira Collins e Baranowski	92
2.5. Análises de bioinformática	92
2.5.1. Pré-processamento.....	92
2.5.1.1. Análises das Sequências Obtidas pela Plataforma Miseq Illumina.....	92
2.5.1.2. Extração da região ITS	93
2.5.1.3. Filtragem das sequências ITS.....	93
2.6. Métodos estatísticos	94
3. RESULTADOS	97
3.1. Análise dos parâmetros físico-químicos dos solos	97
3.2. Análise de diversidade e estrutura da comunidade fúngica das geleiras Baranowski e Collins	99
3.3. Estrutura da comunidade fúngica da cronossequência das geleiras Baranowski e Collins	104
3.4. A estrutura do microbioma do recuo das geleiras Collins e Baranowski	107

3.4.1. O core do microbioma	107
3.4.2. Espécies indicadoras	114
3.5. Diferenças na estrutura da comunidade fúngica entre as amostras do recuo das geleiras Baranowski e Collins	115
3.5.1. Agrupamento Hierárquico	115
3.5.2. Modelo Dirichlet-multinomial	116
3.5.3. Abundância diferencial	116
3.6. Diversidade e riqueza fúngica dos solos de recuo de geleira	118
3.7. Variação na composição de espécies entre as amostras das geleiras Baranowski e Collins	121
3.8. Correlações da estrutura das comunidades fúngicas com fatores ambientais	123
4. Discussão	136
4.1. Análise dos parâmetros físico-químicos do solo.....	136
4.2. Diversidade e estrutura da comunidade fúngica	137
4.3. A estrutura do microbioma dos solos de recuo das geleiras Collins e Baranowski	140
4.4. Diferenças na estrutura da comunidade fúngica das amostras de solo das geleiras Collins e Baranowski	142
4.5. Diversidade e riqueza fúngica dos solos de recuo das geleiras Collins e Baranowski	143
4.6. Variação na composição de espécies entre as amostras das geleiras Baranowski e Collins	144
Conclusão	147
Referência	148
Anexo	155
DISCUSSÃO INTEGRADA	165
CONCLUSÃO E PERPECTIVAS	170
REFERÊNCIAS	172

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. (A) Continente antártico com a Península Antártica mostrada em círculo; (B) Península Antártica e Arquipélago de Shetlands do Sul, com a Ilha King George mostrada no círculo; (C) A Baía do Almirantado na Ilha King George é destacada com um asterisco (Fonte: Souza et al., 2020).....	24
Figura 2. (A) Localização da Antártica com polígono vermelho destacando a Ilha Rei George; (B) Ilha Rei George com uma linha em vermelho em destaque para a península Fildes; (C) Península Fildes e geleira Collins (Fonte: PETSCH, 2018).....	27
Figura 3. Recuo da geleira Collins representado por uma linha de neve nos anos 1989, 2000 e 2006 (com base na imagem do satélite QuickBird obtido em 2006) (Fonte: SIMÕES et al., 2015).	28
Figura 4. (A) Antártica; (B) Ilha Rei George (KGI); (C) Área ASPA 128; (D) Costa ocidental da Baía do Almirantado (Fonte: Sziło et al., 2018).	29
Figura 5. Geleira Baranowski. A comparação da imagem de satélite Planet Scope (2018) com BAS (1956), fotos aéreas Polonesa (1979) e Geo-Eye1 (2011) (Fonte: PUDEŁKO et al., 2018).	31

CAPITULO 1

Figure 1. Collins Glacier (Fildes Peninsula, South Shetlands Archipelago, King George Island, Maritime Antarctica). (A, B) Map of the sampling region; (C) sampling.	47
Figure 2. Proportions of filamentous fungal isolates (taxa) in the Collins Glacier retreated soil samples.	50
Figure 3. Dendrogram of the Bray–Curtis similarity measures for the filamentous fungi recovered from the Collins Glacier retreat-exposed soil samples.	53
Figure 4. Distance-based redundancy analysis (dbRDA) ordination based on the weighted Sorensen distance with plotting of the environmental parameters and the fungal community at each collection point.	55
Figure 5. Pearson correlation between the diversity indices and environmental data.	56

CAPÍTULO 2

Figura 1. Ilha Rei George, Península Fildes (A); Recuo da geleira Collins (B); Recuo da geleira Baranowski (C).	91
Figura 2. O diagrama de Venn demonstrando a distribuição das ASVs fúngicas nas amostras de solos da geleira Baranowski e Collins. São indicadas as porcentagens de ASVs compartilhadas e encontradas exclusivamente em cada geleira.....	101
Figura 3. Abundância relativa dos grupos taxonômicos em âmbito de Filo para as geleiras Baranowski e Collins.....	102
Figura 4. Mapa de calor demonstrando a abundância relativa de cada classe em cada amostra de solo (expressa em metros) das geleiras Collins e Baranowski.	103
Figura 5. Gráfico de prevalência (prevalência de taxa versus contagem total) representando a diversidade de filo entre as amostras. Cada ponto corresponde a um táxon diferente ou único. O eixo y representa a fração das amostras que esses táxons estão presentes.	104
Figura 6. Abundância das sequências classificadas ao nível de Filo das amostras das geleiras Collins e Baranowski.....	105

Figura 7. Abundância relativa em âmbito de Filo do Core Microbioma das geleiras Baranowski e Collins	108
Figura 8. Análise baseada na prevalência (50%) e abundância (1%) das ASVs presentes no total de amostras da geleira Baranowski e Collins. Na figura estão demonstradas as 50 ASVs com maior prevalência.....	109
Figura 9. Mapa de calor do total de ASVs com prevalência de 50% e abundância de 1% no conjunto de dados das geleiras Baranowski e Collins	110
Figura 10. Filos presentes no Core do Microbioma das amostras de solos da geleira Baranowski	111
Figura 11. Core do Microbioma presente nas amostras de solo da geleira Baranowski.	112
Figura 12. Filos presentes no Core do Microbioma das amostras de solos da geleira Collins.	113
Figura 13. Core do Microbioma associado as amostras de solo da geleira Collins	113
Figura 14. Core do microbioma as amostras das geleiras Baranowski e Collins e número de ASVs compartilhado	114
Figura 15. Agrupamento hierárquico das amostras do transecto das geleiras Baranowski (vermelho) e Collins (azul) realizado por meio da ferramenta Deseq2 e matriz de distância Euclidiana.	115
Figura 16. Abundância diferencial das amostras derivadas do transecto das geleiras Baranowski e Collins	117
Figura 17. Análise de abundância diferencial entre as amostras das duas geleiras pelo método Deseq. As principais ASVs diferentemente abundantes no recuo da geleira Collins versus geleira Baranowski. Alterações no log ₂ razão de expressão foram mostradas para ASVs com um valor p corrigido por BH-FDR <0,1 (13 táxons em âmbito de gênero). Cada ponto reflete um ASV distinto. Os ASVs são apresentados pelos gêneros fúngicos no eixo x e colorido pelo filo.	118
Figura 18. Índices de diversidade e riqueza. As amostras de cada recuo de geleira foram agrupadas para a construção dos boxplots.	120
Figura 19. Análise de componentes principais (PCA) com a transformação CLR correlacionando a comunidade fúngica com as amostras do recuo da geleira Baranowski e Collins. Os números em metros terminados em “C” correspondem às amostras da geleira Collins e “B” da Baranowski	122
Figura 20. Análise de coordenadas principais utilizando a distância Hellinger correlacionando a comunidade Fúngica com as amostras do recuo da geleira Baranowski e Collins.	122
Figura 21. Gráfico de análise de redundância (RDA) utilizando a matriz de distância Hellinger, para visualizar os resultados do microbioma no espaço bidimensional para variáveis ambientais individuais nos dois locais, Collins (triângulo) e a Baranowski(círculo). Os símbolos coloridos representam os pontos amostrados em metros.	123
Figura 22. Resultados obtidos na análise de Mantel com a matriz de distância Hellinger e correlação de Person para os parâmetros de dissimilaridade ambiental, composição fúngica e distância geográfica para amostras do solo das geleiras Baranowski e Collins.	124

Figura 23. Resultados obtidos na análise de Mantel com a matriz de distância Hellinger e correlação de Pearson para os parâmetros de dissimilaridade de composição fúngica e parâmetros ambientais para amostras do solo das geleiras Baranowski e Collins	128
Figura 24. Correlação de Pearson entre a composição da comunidade fúngica e dados ambientais das amostras do transecto da geleira Baranowski.	131
Figura 25. Correlação de Pearson entre a composição da comunidade fúngica e dados ambientais das amostras do transecto da geleira Collins	132
Figura 26. Correlação de Pearson entre a composição das espécies indicadoras e dados ambientais das amostras do transecto da geleira Collins.	133
Figura 27. Correlação de Pearson entre a composição das espécies indicadoras e dados ambientais das amostras do transecto da geleira Baranowski.	135

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

- Table 1. Indices and richness estimator (α -diversity) for the correlated sampled points in meters from the retreating Collins Glacier. 52
- Table 2. Analysis of generalized linear models (GLM) between the cultivable fungus community and the environmental variables of the Collins Glacier (Fildes Peninsula, South Shetlands Archipelago, King George Island, Maritime Antarctica). 54

CAPÍTULO 2

- Tabela 1. Pontos de coleta das amostras em metros e coordenadas geográficas dos solos associados à cronossequência do recuo das geleiras Baranowski e Collins. 90
- Tabela 2. Dados de pH e composição granulométrica das amostras de solo do recuo da geleira Baranowski e Collins. 97
- Tabela 3. Composição físico-química das amostras de solo das geleiras Baranowski e Collins. 98
- Tabela 4. Correlação de Spearman entre os parâmetros ambientais e os pontos de coletas (metros) das geleiras Baranowski e Collins. 98
- Tabela 5. Quantificação do produto de PCR das amostras do recuo da geleira Collins e Baranowski. 99
- Tabela 6. Resultados obtidos após a análise dos dados de sequenciamento quanto ao número de reads totais, número de reads após o filtro de qualidade e número de ASVs, em cada amostra analisada. 100
- Tabela 7. Core Micobioma das amostras das geleiras Baranowski e Collins em âmbito de Filo. 108
- Tabela 8. Índices de riqueza e diversidade para comunidade fúngica das amostras de solo do recuo da geleira Baranowski e Collins. 120
- Tabela 9. Proporção de variação na composição da comunidade fúngica presente nas amostras do solo da geleira Collins, no nível da comunidade total (todos os fungos), e dos quatro principais filos, explicados pelos parâmetros ambientais, com análise multivariada permutacional de variância, com base na matriz da comunidade de fungos transformada por Hellinger. Variáveis significativas (em negrito). 129
- Tabela 10. Proporção de variação na composição da comunidade fúngica presente nas amostras do solo da geleira Baranowski, no nível da comunidade total (todos os fungos), e dos quatro principais filos, explicados pelos parâmetros ambientais, com análise multivariada permutacional de variância, com base na matriz da comunidade de fungos transformada por Hellinger. Variáveis significativas (em negrito). 130

LISTA DE ABREVIATURAS

% - por cento

°C - graus Celsius

ALDEx2 - Análise da abundância diferencial, levando em consideração a variação da amostra.

ASPA - Área Especialmente Protegida na Antártica

ASV - *Amplicon Sequence Variant*

BDA - Ágar Dextrose Batata

BLAST- *Basic Local Alignment Search Tool* (Ferramenta de busca de alinhamento local básica)

Ca - Cálcio

Cu - Cobre

clr - razão de log centralizada

CoDA - *Compositional Data Analysis* (Análises de dados composicionais)

DESeq - Análise de expressão diferencial baseada na distribuição Binomial Negativa

DNA - Ácido desoxirribonucléico

EDTA - ácido etilenodiamino tetra-acético

Fe - Ferro

g.L⁻¹ - gramas por litro

GenBank - *Genetic Sequence Database*

IPCC - Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas

ITS - *Internal Transcribed Spacer* (Espaçador Transcrito Interno)

K - Potássio

KGI - Ilha Rei George

L- Litros

M - Molar

m – Metros

MA2% - Malte 2% Ágar

MCMC - Monte Carlo da cadeia de Markov

Mg - Magnésio

min - minutos

mL – mililitro

Mn – Manganês

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

ng - nanogramas

NGS - *Next Generation Sequencing* (Sequenciamento de nova geração)

OTU - *Operational Taxonomic Unit* (Unidade taxonômica operacional)

P - Fósforo

pb - Pares de bases

PCA - Análise do componente principal;

PCoA - Análise de coordenadas principais

PCR - *Polimerase Chain Reaction* (Reação da Polimerase em Cadeia)

PDA – *Potato Dextrose Agar* (Agar Batata Dextrose)

PDA10X - *Potato Dextrose Agar* (Agar Batata Dextrose) – diluído 10 vezes

PERMANOVA - Análise multivariada permutacional de variância

pH - concentração hidrogênica

sp - Espécie

QIIME - *Quantitative Insights Into Microbial Ecology*

UNITE - *User-friendly Nordic ITS Ectomycorrhiza Database* (Banco de dados de sequências da região ITS)

Zn – Zinco

1. INTRODUÇÃO

A Antártica é um dos ambientes terrestres fisicamente e quimicamente mais extremos. O continente Antártico e as ilhas subantárticas são consideradas as últimas áreas selvagens remanescentes do planeta. Essas áreas remotas permanecem, em grande parte, livres de impactos antropogênicos diretos, como superpopulação e superexploração de ecossistemas nativos (MITTERMEIER et al., 2003), embora não sejam imunes a processos antropogênicos globais mais amplos, como mudanças climáticas e poluição de longo alcance (BARGAGLI, 2006; TURNER et al., 2009).

Atualmente, a Antártica permanece coberta por mantas de gelo continentais, apresentando cerca de 0,2% de sua área total livre de gelo (BURTON-JOHNSON et al., 2016), essa proporção é um pouco maior na região da Península Antártica (~ 3%) (LEE et al., 2017). A Península Antártica representa uma massa de gelo pequena e está localizada próxima do ponto de fusão sob pressão, respondendo rapidamente às mudanças climáticas. É considerada uma das áreas de aquecimento mais rápido do planeta e sofre os maiores impactos com as mudanças climáticas globais (TURNER et al., 2009; DE MENEZES et al., 2020).

Nas últimas décadas, o recuo das geleiras nas regiões da Península Antártica e sub-Antártica tem apresentado uma crescente aceleração devido às mudanças climáticas (COOK, 2005; GORDON et al., 2008; KONRAD et al., 2018). O recuo de geleiras mesmo possuindo idade diferente, pode apresentar uma história biótica e abiótica semelhante, fornecendo um sistema experimental ideal para estudar mecanismos de processos de estabelecimento de comunidades através do tempo e do espaço (BROWN; JUMPPONEN, 2014; DINI-ANDREOTE et al., 2015; FREEDMAN; ZAK, 2015).

À medida que as geleiras recuam, o solo recém exposto pelo descongelamento é afetado por uma sequência de processos que levam à sua formação, que é influenciada principalmente por plantas pioneiras, micro-organismos e animais marinhos (JENNY, 1946; SIMAS et al., 2008; THOMAZINI et al., 2015). Os micro-organismos possuem um papel crucial no desenvolvimento do solo, na ciclagem biogeoquímica e facilitam a colonização por plantas durante a sucessão primária (FIERER et al., 2010). Apesar de sua importância, a dinâmica primária de sucessão das comunidades microbianas e seus processos de colonização permanecem pouco compreendidos (BRADLEY et al., 2014; BROWN; JUMPPONEN, 2014). Como a colonização por plantas é muito mais lenta do que a por micro-organismos ao longo

do recuo de uma geleira (SCHMIDT et al., 2014), o entendimento dos fundamentos da dinâmica sucessional microbiana está se tornando cada vez mais importante. O desenvolvimento do solo ao longo de cronosequências glaciais tem sido correlacionado com a sucessão primária de micro-organismos do solo (SIGLER et al., 2002).

Os fungos são considerados um dos primeiros colonizadores do solo e possuem papel crucial na formação de solo fértil que sustentará o crescimento e o desenvolvimento de uma comunidade vegetal (FIERER et al., 2010; BRADLEY et al., 2014). Dada a taxa sem precedentes do aumento dos recuos de geleiras induzidas por mudança climáticas (STOCKER et al., 2013) é necessário entender como a composição da comunidade fúngica responde a esses ambientes. Visto que possivelmente muitas espécies poderão ser extintas antes de serem descobertas, a coleta de espécimes e o compartilhamento aberto desses recursos são necessários (COSTELLO et al., 2013; MONASTERSKY, 2014). O estudo da biodiversidade do solo de recuo de geleira se mostra importante para que as futuras alterações decorrentes do descongelamento possam ser monitoradas (WALTER et al., 2006).

No entanto, se tratando de estudos de ecologia microbiana, um dos pontos limitantes da microbiologia clássica é o isolamento dos micro-organismos, uma vez que não se conhece um meio de cultura universal contendo todos os fatores requeridos pela maioria dos micro-organismos existentes no ambiente (HANDELSMAN, 2004). Com isso, o conhecimento sobre a diversidade de micro-organismos, principalmente de ambientes extremos, torna-se limitado.

Entretanto, com o avanço da microbiologia, genética e biologia molecular, surgiram novas técnicas capazes de acessar a diversidade e estudar a ecologia microbiana. O sequenciamento de alto rendimento (HTS), particularmente o *metabarcoding* ambiental, vem fornecendo novas oportunidades para analisar grandes números de amostras com baixo custo (CAPORASO et al. 2012), possibilitando a exploração mais precisa da biodiversidade e da composição da comunidade microbiana (BUÉE et al., 2009; JUMPPONEN; JONES, 2009; BLAALID et al., 2012). Contudo, mesmo diante dos avanços moleculares, a identificação de fungos por métodos tradicionais é de fundamental importância para alimentar os bancos de dados. Espécimes cultiváveis e bem documentados são essenciais para reconstruir filogenias robustas (PEAY, 2014).

O presente trabalho é parte dos projetos FAPESP 2016/07957-7,

PROANTAR/CNPq MICROSFERA (A Vida Microbiana na Criosfera Antártica: Mudanças Climáticas e Bioprospecção) e CNPq Universal (407986/2018-9) e teve como foco caracterizar a comunidade de fungos de solo de recuo de geleiras Antárticas utilizando abordagem dependente e independente de cultivo (*metabarcoding*). Para tanto, a diversidade taxonômica foi avaliada por meio da composição da diversidade alfa e beta das comunidades de fungos de amostras do recuo das geleiras Collins e Baranowski. Também foram avaliados os parâmetros ambientais que possivelmente influenciaram a composição e diversidade das comunidades fúngicas (e.g. como pH, micronutrientes). Os resultados obtidos nesse estudo fornecem informações inéditas sobre a diversidade e o potencial adaptativo de comunidades fúngicas em recuo de geleiras, bem como sobre os processos ambientais e ecológicos que os moldam. Além de ter colaborado para uma maior compreensão sobre o potencial de adaptação de fungos em dois recuos de geleiras com idades e condições distintas.

A presente tese está estruturada em quatro partes:

- Parte introdutória escrita em língua portuguesa composta por resumo, palavras-chave, introdução, revisão da literatura e objetivos.
- Capítulo 1. Consiste em um artigo (publicado) oriundo da tese, escrito em língua inglesa intitulado: “Fungal community in Antarctic soil along the retreating Collins Glacier (Fildes Peninsula, King George Island)”.
- Capítulo 2. Escrito em língua portuguesa, intitulado: “Diversidade e Sucessão Ecológica de Fungos Antárticos de Solo do Recuo da Geleira Collins e Baranowski”.
- Parte final escrita em língua portuguesa, síntese das discussões e conclusões.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Antártica

A Antártica é um continente remoto cujas características predominantes incluem temperaturas extremamente baixas no inverno (entre $-20,0$ e $-50,0^{\circ}\text{C}$ nos Vales Secos McMurdo) e temperaturas médias abaixo de $0,0^{\circ}\text{C}$, ciclos de congelamento e descongelamento, ventos fortes, alta sublimação e evaporação, altas taxas de incidência de radiação e longos períodos de escuridão que limitam o desenvolvimento da vida (ONOFRI et al., 2007).

O Continente Antártico é subdividido em zonas latitudinais, classificados em zona sub-antártica, zona Antártica marítima e zona continental, que correspondem a regiões com climas distintos. A Antártica continental apresenta uma camada de gelo de até 4000 m de espessura, representando 70% da água doce do planeta (TURNER; MARSHALL, 2011). Apenas 0,35% do continente, ou 45.000 km², são áreas livres de gelo (BOCKHEIM, 2015a), restringindo o desenvolvimento de espécies vegetais, pequenos invertebrados e micro-organismos às áreas costeiras, afloramentos rochosos e ao longo da costa da Antártica marítima (PUTZKE; PEREIRA, 2001; ZHU et al., 2014).

A Antártica marítima, zona que abrange a Península Antártica e ilhas vizinhas (South Orkney, South Shetlands e ilha South Sandwich), apresenta clima mais ameno, maior precipitação, e verões mais longos e mais quentes do que a Antártica continental. A Península Antártica é a única parte do continente que se estende de maneira significativa para o norte até a latitude 63°S . Compreende uma região montanhosa e estreita com uma largura média de 70 km e uma altura média de 1.500 m (TURNER et al., 2009).

Entre os arquipélagos que compõem a Antártica marítima, presente na Península Antártica, as ilhas Shetlands do Sul representam um grupo de mais de 20 ilhas, localizadas entre 60 e 150 milhas ao norte e nordeste da Península Antártica. Caracterizadas por possuir em clima oceânico frio, com amplitude térmica anual, variando entre 8°C e 10°C . A temperatura média anual é de aproximadamente -3°C . As áreas livres de gelo estão localizadas onde as temperaturas médias anuais excedem -2°C (SERRANO; ELOPEZ-MARTINEZ, 2000). Nas ilhas Shetlands do Sul encontra-se a Ilha Rei George, a maior do Arquipélago. A Ilha Rei George, possui área de 1.250 km², o maior eixo com 80 km de comprimento está orientado no sentido

sudeste-nordeste e o menor, com 15 km de largura - no sentido oposto, as áreas livres de gelo na ilha correspondem a menos de 10% (BREMER, 1998).

A Península Fildes (Figura 1C), localizada na parte sul da Ilha Rei George, é limitada a nordeste por um pequeno domo de gelo, a geleira Collins com uma área de 15 km² e elevação máxima de 270 m (SIMÕES et al. 2015). Esta região representa uma das maiores áreas sem gelo da Antártica marítima (BRAUN et al., 2012).

A Baía do Almirantado (região onde está localizada a geleira Baranowski), está localizada na parte central da Ilha Rei George, a cerca de 125 km da ponta norte da Península Antártica (Figura 1C). Esta é a região melhor documentada historicamente com relação aos dados meteorológicos coletados na Península Antártica, considerada uma das áreas mais sensíveis às mudanças climáticas do planeta (ATCM XXXVII, 2014). A Baía do Almirantado configura uma “Área Antártica Especialmente Gerenciada” (ASPA). A ASPA, define-se como qualquer área, incluindo área marítima, delimitada para proteger os aspectos ambientais, científicos, históricos, estéticos ou selvagens, ou então qualquer combinação desses valores, ou ainda área de interesse para estudos científicos e pesquisa (ATS, 2000a).

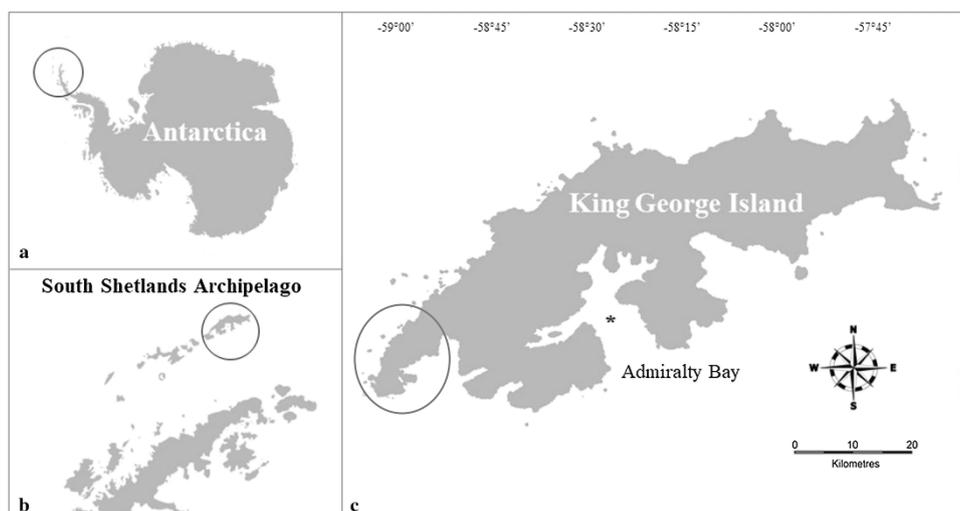


Figura 1. (A) Continente antártico com a Península Antártica mostrada em círculo; (B) Península Antártica e Arquipélago de Shetlands do Sul, com a Ilha Rei George mostrada no círculo; (C) A Baía do Almirantado na Ilha Rei George é destacada com um asterisco e Península Fildes mostrada em círculo (Fonte: Souza et al., 2020).

2.2. Aquecimento global e a retração de geleiras na Península Antártica

O aquecimento global tornou-se uma ameaça para a nossa sociedade nas últimas décadas. A Península Antártica é considerada uma das áreas com maior aquecimento da temperatura superficial do ar na Terra, com uma tendência de aquecimento ao longo do século XX (JONES 1990; JONES et al., 1993; BARRAND et al., 2013; TURNER et al., 2014; WOUTERS et al., 2015). Turner et al. (2009) e o IPCC (2013) apontaram um aquecimento regional (3 °C) na Península Antártica nas últimas décadas, sendo a Ilha Rei George umas das regiões mais sensíveis às variações climáticas. Sendo considerada uma região de mudanças drásticas nos sistemas climáticos e glaciais (BRAUN; HOCK, 2004). Projeções de modelos climáticos sugerem que as temperaturas da Península aumentarão mais do que a média global (HOEGH-GULDBERG et al., 2018).

A região da Antártica Marítima tem sofrido alterações em seu ecossistema terrestre em função das recentes mudanças climáticas (BRAUN; GOSSMANN, 2002). Vários estudos evidenciam a retração de geleiras, especificamente na Ilha Rei George, relacionada ao aumento da temperatura do ar na região da Península entre 1948 e a primeira década do século XXI (SIMÕES; BREMER, 1995; BREMER, 1998; PARK et al., 1998; SIMÕES et al., 1999; BRAUN; GOSSMANN, 2002; ROSA et al., 2009; RÜCKAMP et al., 2011). As geleiras representam um dos indicadores mais sensíveis às mudanças climáticas, respondendo às alterações de temperatura, precipitação, entre outros fatores (BURLANDO et al., 2002; BENN; EVANS, 2010). No entanto, estudos evidenciam que as geleiras respondem de maneiras diferentes às mudanças ambientais (CUFFEY; PATERSON, 2014).

As geleiras da Península Antártica mostraram rápida resposta dinâmica a mudanças ambientais (PAUL et al., 2004; BOLCH; KAMP, 2006), para o período 1970-2000. Cerca de 87% das geleiras marinhas da Península Antártica e ilhas associadas recuaram nos últimos 50 anos, e a taxa de recuo aumentou desde o início do século XXI (COOK et al., 2005).

A retração das geleiras geram impactos ambientais, dentre eles estão o aumento do nível global do mar (PACHAURI et al., 2014), o desequilíbrio causado pelo aumento de água doce nos oceanos, desenvolvimento de áreas livres de gelo, modificações nas zonas de represamento da água provinda do descongelamento, e mudanças na configuração do relevo (DYURGEROV; MEIER, 2005).

O recuo de geleiras e a perda de cobertura de neve resultam em áreas livres de gelo com rochas e permafrost recém expostos, criando novos habitats para a colonização e fornecendo condições para expansão da flora e a fauna (ROSA et al., 2016). O termo “áreas livres de gelo” refere-se aos locais disponíveis para colonização e sucessão biológica, devido ao recuo das geleiras (RÜCKAMP et al., 2011). Esses ecossistemas terrestres que estavam anteriormente cobertos pelo gelo há milhares de anos, fornecendo ambientes únicos para estudar a colonização primária pela simples vida celular (BRADLEY et al., 2014) . Estudos de colonização de plantas são bem estabelecidos em recuo de geleiras (FASTIE, 1995; FRENOT et al., 1998; HODKINSON et al., 2003; MOREAU et al., 2008; STRAUSS et al., 2009) No entanto, estudos sobre microbiota, sendo considerados os colonizadores iniciais, permanecem em estágios relativamente iniciais.

2.3. Geleira Collins

A geleira Collins ou Bellingshausen Dome é uma pequena cúpula de gelo centrado localizada na Península Fildes na Ilha Rei George (latitude 61°54' – 62°16' S e longitude 57°35' - 59°02' W) (Figura 2), com uma área de 15 km² e elevação máxima de 270 m (SIMÕES et al., 2015). O clima da Península Fildes é considerado marítimo sub-antártico, com ventos fortes, frequentes variações meteorológicas e temperaturas mais amenas, com a temperatura do ar média anual de -2 °C e temperatura do ar média durante o verão acima de 0 °C (JIAHONG et al., 1994).

A velocidade de deslocamento do gelo na geleira Collins é baixa, sendo estimada entre 0,15 e 3,72 m a⁻¹, enquanto no domo de gelo principal da Ilha Rei George o valor máximo alcança 112,1 m a⁻¹ (RÜCKAMP et al., 2011). A geleira está localizada na Área Especialmente Protegida n.º 125 da Antártica (ASPA 125). No entanto, na parte norte, em frente à geleira Collins, existem caminhos de circulação (não presentes no plano da ASPA) (PETSCH, 2018). De acordo com Simões et al. (2015) o processo de retração da geleira tem como consequência a formação de diferentes ambientes na parte norte da Península Fildes, originando lagos e zonas alagadas.

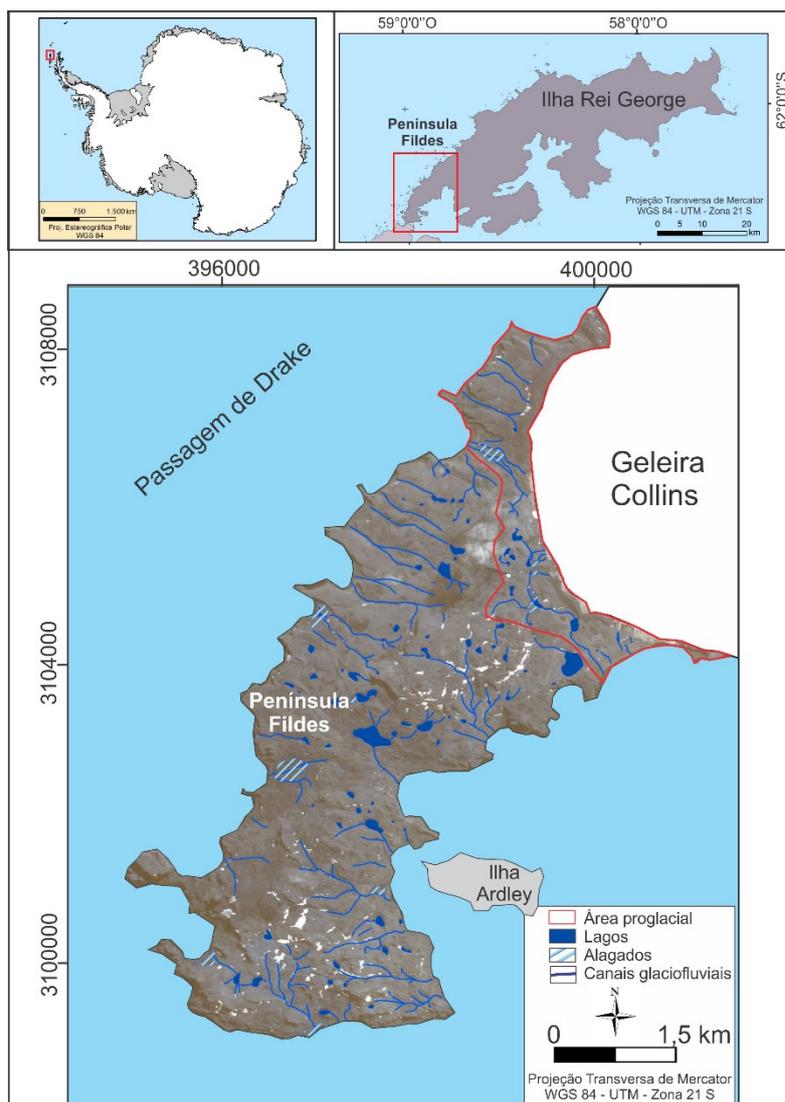


Figura 2. (A) Localização da Antártica com polígono vermelho destacando a Ilha Rei George; (B) Ilha Rei George com uma linha em vermelho em destaque para a península Fildes; (C) Península Fildes e geleira Collins (Fonte: PETSCH, 2018).

Os estudos temporais já realizados nas geleiras, incluindo a geleira Collins, evidenciam um elevado processo de retração das mesmas. De 1983 a 1989, a geleira Collins perdeu $0,078 \text{ km}^2$ de sua frente de gelo (1,01% do total de $7,66 \text{ km}^2$ de área de superfície); de 1989 a 2000, perdeu mais $0,28 \text{ km}^2$ de sua frente de gelo (3,67% do $7,58 \text{ km}^2$ de superfície total); de 2000 a 2003, a frente de gelo da geleira avançou $0,15 \text{ km}^2$ (2,01% dos $7,30 \text{ km}^2$ da superfície total); e de 2003 a 2006, perdeu mais $0,43 \text{ km}^2$ de suas frentes de gelo (5,75% dos $7,02 \text{ km}^2$ de área de superfície total) (SIMÕES et al., 2015) (Figura 3).

Segundo Simões et al. (2015), as variações de áreas da geleira Collins podem ser explicadas por uma combinação de dois fatores: baixa espessura de gelo e

exposição a uma maior radiação solar (face a oeste).

Rückamp et al. (2011), usando dados de balanço de massa, indicam o quase total desaparecimento da geleira Collins em 200 anos. Estima-se que a geleira perderá 5% de sua área total até 2030 (0,90 km²), 21% de sua área (3,60 km²) até o ano de 2050, e 35% (5,90 km²) até 2070 (PETSCH, 2018). Ainda, de acordo com Petsch (2018), a continuidade da retração da geleira, provavelmente apresentará uma paisagem recentemente livre de gelo que será submetida a rápidas mudanças geomorfológicas com atuação de processos sedimentológicos, hidrológicos e eólicos se alternando no ambiente. Considerando a retração da geleira Collins, haverá uma gradual sucessão de comunidades de plantas com interações biológicas/ecológicas (MILNER et al., 2007; MARSTON, 2010). Pertsch (2018) apontou que provavelmente dentro de 5 a 15 anos, começarão os primeiros sinais de colonização vegetal na área, principalmente fixados aos sedimentos terrestres de textura mais fina.

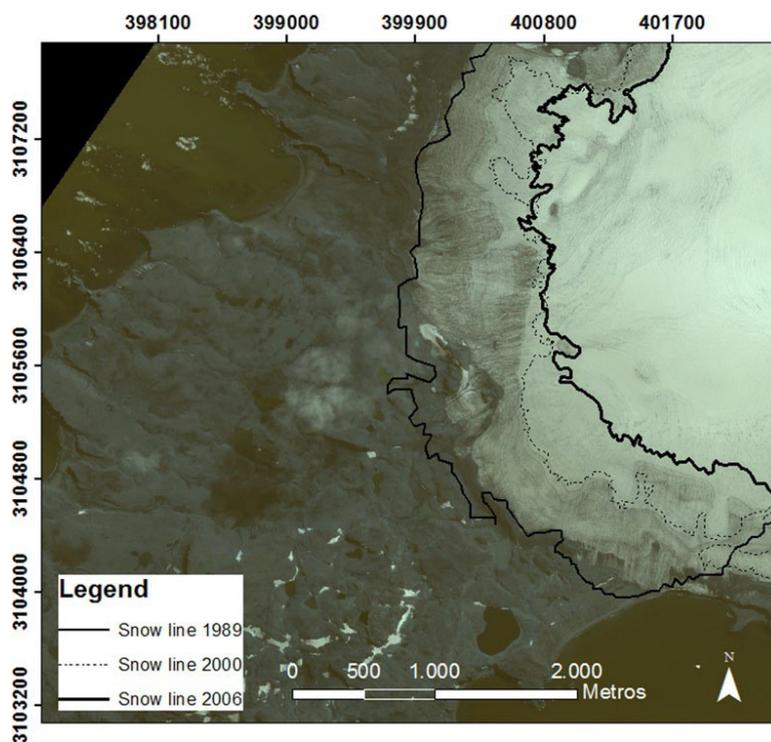


Figura 3. Recuo da geleira Collins representado por uma linha de neve nos anos 1989, 2000 e 2006 (com base na imagem do satélite QuickBird obtido em 2006) (Fonte: SIMÕES et al., 2015).

2.4. Geleira Baranowski

A geleira Baranowski está localizada na costa ocidental da Baía do Almirantado na Ilha Rei George (Figura 4), na Área Especialmente Protegida n.º 128 da Antártica (ASP 128). Possui clima marítimo polar (KNAP et al., 1996) com participação do ar continental do Sul, resultando em condições climáticas altamente dinâmicas (DĄBSKI et al., 2020). A ASP 128 está localizada nas proximidades da Estação Antártica Polonesa Henryk Arctowski (Arctowski), região recebeu extensas pesquisas geomorfológicas nos anos 1990-1992 durante as expedições polonesa à ilha Rei George (KOSTRZEWSKI et al., 1998; 2002; RACHLEWICZ et al., 1999). Desde então, as geleiras sofreram recessão significativa (PUDEŁKO et al., 2018).

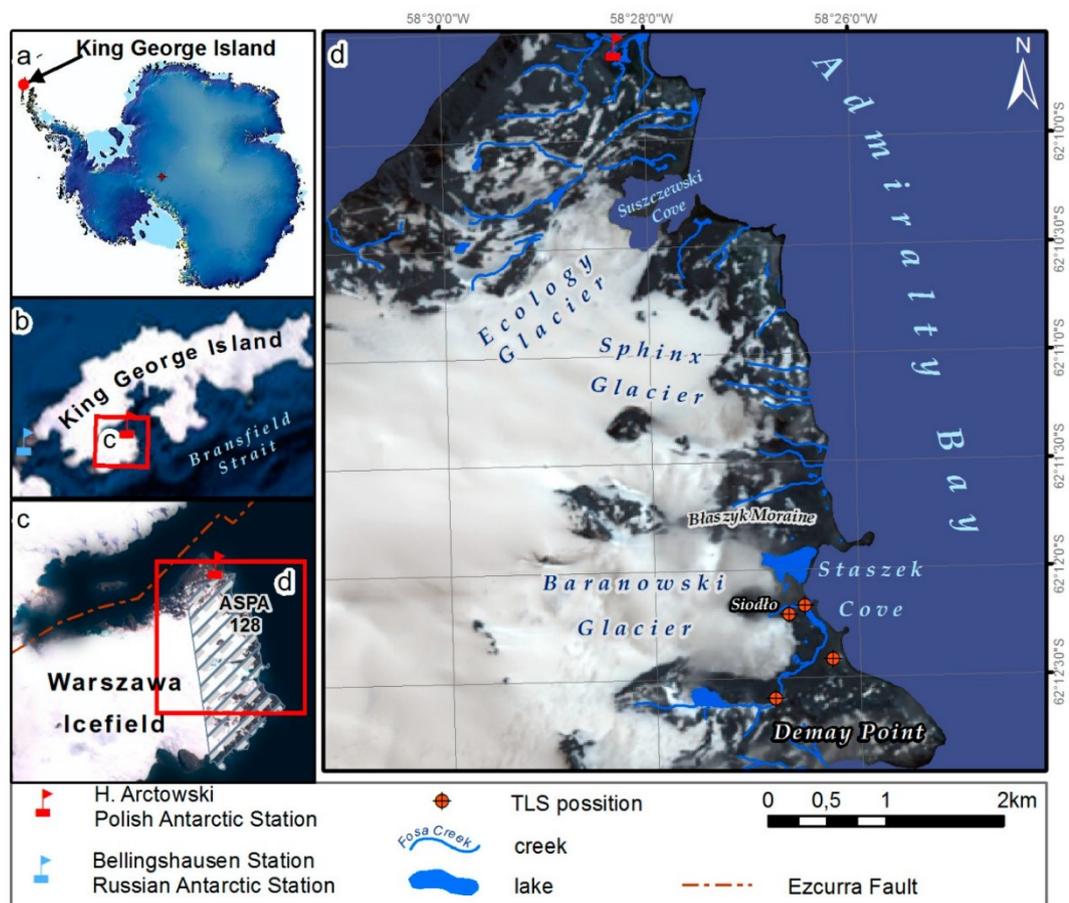


Figura 4. (A) Antártica; (B) Ilha Rei George (KGI); (C) Área ASP 128; (D) Costa ocidental da Baía do Almirantado (Fonte: SZIŁO et al., 2018)

A Baranowski apresentou acelerada retração na década de 1990, de acordo com Birkenmajer (2002) e Perondi (2018). Como resultado desta retração, evidenciava-se um amplo ambiente proglacial, com cerca de 1000 m de extensão, e com a presença de feições morânicas em sua área marginal ao gelo e água oriunda de fusão glacial (RACHLEWICZ, 1999), constituindo um local favorável para grandes colônias de reprodução de aves marinhas e pinípedes (SIERAKOWSKI, et al., 2017).

A frente da geleira mudou consideravelmente nos últimos 60 anos (Figura 5) (SZIŁO et al., 2018). A partir de 2016 algumas das seções frontais da língua sul da Baranowski recuaram 50 m adicionais, devido a um verão quase tão quente quanto o verão de 1995 a 2000 e a um inverno muito quente também (SZIŁO et al., 2018).

Os primeiros registros cartográficos disponíveis para a geleira foram fotos aéreas registradas em 1956, onde toda a área de frente da geleira estava coberta por neve (SZIŁO et al., 2018). Durante os períodos de 1956 a 1979 e 2012 a 2016, a posição frontal da geleira Baranowski permaneceu relativamente estável (PUDEŁKO et al., 2018) (Figura 5). No entanto, a geleira Baranowski é a geleira terrestre da Baía do Almirantado com recuo mais rápido. Sua área específica de deglaciação entre 1979 e 2015 é de 0,73 km², calculada com base nas imagens da foto aérea tirada em 1979 e nas imagens do satélite Landsat de 2015 (SZIŁO; BIALIK, 2017).

Comparativamente à geleira Collins a geleira Baranowski apresentou maiores taxas de retração para o período analisado (1956 até 2017), com 0,3 km²/ano, assim como maiores perdas percentuais de suas áreas desde 1956. (PERONDI, 2018)

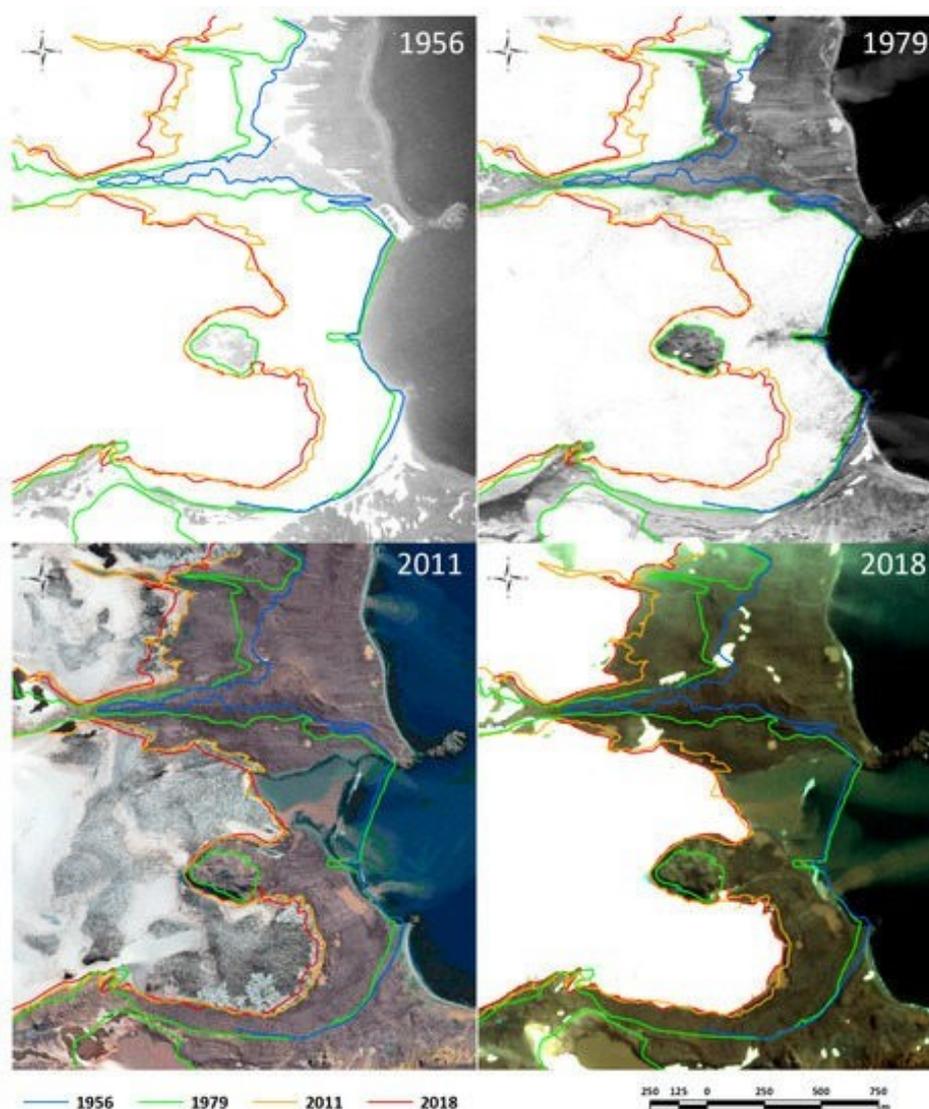


Figura 5. Geleira Baranowski. A comparação da imagem de satélite *PlanetScope* (2018) com BAS (1956), fotos aéreas Polonesa (1979) e Geo-Eye1 (2011) (Fonte:PUDEŁKO et al., 2018).

2.5. Antártica como habitat microbiano

Entre os grupos microbianos encontrados em amostras de gelo glacial estão algas verdes, cianobactérias, actinobactérias, fungos filamentosos e leveduras, com predominância de micro-organismos esporulados em testemunhos de gelo mais antigos (COWAN; TOW, 2004). A descoberta de micro-organismos tolerantes ao frio em ambientes com baixas temperaturas ampliou a faixa conhecida de condições ambientais que sustentam a vida microbiana. Estes micro-organismos possuem papel fundamental no transporte de energia e matéria orgânica, e muitas vezes constituem

a base do funcionamento dos ecossistemas terrestres e aquáticos na Antártica (CLARKE, 2003).

Diversos estudos têm demonstrado que o ambiente antártico abriga uma diversidade de micro-organismos (DUARTE et al., 2013; DUARTE et al., 2016, DUARTE et al., 2018a, GODINHO et al., 2015; GONÇALVES et al., 2012; TEIXEIRA et al., 2010, WENTZEL et al., 2019). A microbiota presente no gelo glacial é composta essencialmente por depósitos de micro-organismos precipitados pela neve ou transportados pelo vento (MARSHALL, 1996), correntes oceânicas (MURRAY et al., 1999) e animais (SCHLICHTING et al., 1978). Diferentes estudos indicam que a topografia, posição geográfica, sazonalidade, condições climáticas globais, e a proximidade com outros ecossistemas influenciam na concentração e diversidade de micro-organismos trazidos pelo ar (LIGHTHART; SHAFFER, 1995; MARSHALL; CHALMERS, 1997). Apesar dos micro-organismos serem facilmente dispersos pelo ar, a sua sobrevivência ao longo prazo na atmosfera requer adaptações distintas, incluindo a resistência à radiação UV elevada, ao frio extremo e à dessecação (PEARCE et al., 2009).

A dispersão dos micro-organismos é um fator crítico, porém pouco compreendido, subjacente aos padrões macroecológicos nas comunidades microbianas (HANSON et al., 2012). Alguns estudos propõem que a dispersão pelo ar não é responsável pelos padrões de comunidades microbianas no ambiente antártico (CHOWN et al., 2015). De acordo com os autores supracitados os ciclos glaciais têm impulsionado a biodiversidade, visto que algumas espécies podem sobreviver confinadas no ambiente antártico durante esses ciclos, por exemplo, em solos, refúgios como as áreas geotérmicas, ou no oceano em plataformas marinhas, passando por especiação geográfica. Além disso, os fungos liquenizados apresentam padrões de diversidade que sugerem que os mesmos são derivados de refúgios locais, em vez de fontes exógenas (FRASER et al., 2014).

Um modelo teórico global para aerossóis atmosféricos estimou que a taxa de trocas microbianas no ar para a Antártica pode ser extremamente baixa, com 90% dos aerossóis de origem local (BURROWS et al., 2009; FRASER et al., 2014). Em contraste, estudos empíricos descrevem que a corrente circumpolar influencia na dispersão de algumas cianobactérias do solo, algas e fungos (KLEINTEICH et al., 2017; COX et al., 2016). No entanto, outros estudos demonstraram a alta incidência de espécies cosmopolitas no ambiente antártico. Cox et al. (2016) encontraram uma

porcentagem de ~35-60% de OTUs (unidade taxonômica operacional) de fungos antárticos cosmopolitas. Os autores relataram que a Antártica compartilha significativamente mais fungos com o Ártico, em contraste com as regiões temperadas e tropicais, havendo relativamente pouco endemismo. E ainda sugeriram que micro-organismos com capacidades de dispersão bem desenvolvidas podem habitar pólos opostos da Terra e dominar ambientes extremos. Estudos anteriores também evidenciam essa similaridade entre a microbiota dos polos, os autores observaram semelhanças entre os fungos isolados dos solos da Antártica com os do Ártico (PEGLER et al., 1980; BRIDGE; NEWSHAM, 2009; TIMLING et al., 2014), sugerindo que alguns taxa de fungos podem exibir distribuições bipolares.

Os micro-organismos que habitam os ambientes antárticos sofrem fortes influências da oscilação de temperatura. Eles são classificados como psicrófilos, psicrotolerantes e mesofílicos-psicrotolerantes. Os micro-organismos psicrófilos crescem a temperaturas máximas abaixo de 20,0 °C, com temperaturas ótimas de crescimento menores ou iguais a 15,0 °C. Os psicrotolerantes têm a capacidade de crescer a baixas temperaturas, com temperaturas ótimas variando entre >15,0 e ≤25,0 °C, enquanto os micro-organismos mesofílicos e psicrotolerantes têm a capacidade de crescer a baixas temperaturas, com temperaturas ótimas de crescimento >25,0 e ≤40,0 °C (PESCIAROLI et al., 2012).

Quando comparados a outros micro-organismos conhecidos, os psicrófilos possuem diversos mecanismos moleculares únicos que permitem sua adaptação a ambientes frios (ALCAZAR et al., 2010). Para manter a atividade no inverno, os micro-organismos adotam uma ou mais de uma variedade de estratégias que lhes permitem entrar no verão com populações em crescimento ativo. A maioria dos micro-organismos recuperados de amostras da região da Península Antártica são psicrotolerantes (RUISI et al., 2007) e essa predominância pode ser explicada pelo fato de que em alguns períodos do ano a temperatura do solo pode chegar a 15°C (MÖLLER; DREYFUSS, 1996).

Os micro-organismos adaptados ao frio são capazes de desenvolver processos metabólicos para lidar com os efeitos adversos gerados pelas temperaturas baixas. Temperaturas abaixo de zero provocam a formação de gelo que pode levar a lesões criogênicas, estresse osmótico, desidratação e até ruptura e morte celular (COLLINS; MARGESIN, 2019).

Os micro-organismos adaptados às condições frias desenvolveram estratégias

em níveis bioquímicos e moleculares para resistir às temperaturas extremamente baixas (COLLINS; MARGESIN, 2019), incluindo: i) alteração na composição lipídica da membrana celular (aumento do nível de ácidos graxos insaturados) para manter a sua integridade em ambientes de baixa temperatura (DHAKAR; PANDEY, 2020); ii) alternância entre diferentes vias metabólicas em resposta à baixa temperatura para obter energia (BORE et al., 2019); iii) acúmulo de crioprotetores como trealose, glicerol, manitol, etc. são responsáveis por manter a homeostase na célula (ROBINSON et al., 2001); iv) enzimas ativas a frio, as quais possuem flexibilidade conformacional para equilibrar a baixa energia cinética com alta eficiência catalítica e aumento do número de rotatividade em ambientes de baixa temperatura (CAVICCHIOLI et al., 2002); v) presença de pigmentos que é reconhecida como uma importante adaptação contra radiação nociva nesses ambientes (MARIZCURRENA et al., 2019); vi) proteínas anticongelantes que facilitam o crescimento microbiano, inibindo a formação de cristais de gelo sob temperaturas extremamente baixas (DHAKAR; PANDEY, 2020; SINGH et al., 2011; MARCO et al., 2019). Genes que expressam proteínas anticongelantes foram encontrados no genoma do fungo psicofílico *Antarctomyces pellizariae*, isolado de neve antártica, sendo um dos únicos ascomicetos com capacidade confirmada de produzir proteína anticongelante (BATISTA et al., 2020).

Algumas espécies de fungos apresentam estratégias morfo-fisiológicas e bioquímicas para se adaptar e sobreviver em ambientes com temperaturas extremas, baixa disponibilidade de nutrientes, dessecação prolongada e irradiação solar (DUARTE et al., 2018b). A adaptação muitas vezes ocorre mediante a produção de enzimas, melanina e micosporinas (GOSTINCAR et al., 2012).

2.6 Diversidade de fungos de ambientes antárticos

A biodiversidade em habitats remotos antárticos é mais extensa, ecologicamente diversa e biogeograficamente estruturada do que se pensava anteriormente (CHOWN et al., 2015). Tornando-se uma questão fundamental para a compreensão da história do continente, os efeitos biológicos das mudanças climáticas e os esforços de conservação (KENNICUTT et al., 2015; MCGEOCH et al., 2015).

Os fungos são considerados organismos eucarióticos hiper-diversos com ocorrência em quase todas as regiões do planeta, sendo um grupo altamente diversificado em diferentes ecossistemas, representando um elemento importante

dentro da comunidade microbiana antártica. Estudos sobre fungos no ambiente antártico têm aumentado nos últimos anos, centrados na taxonomia, diversidade, ecologia e biotecnologia desses micro-organismos presentes em solos, rochas, águas, sedimentos, invertebrados marinhos, gelo, neve, animais e plantas (RUISI et al., 2007, ROSA et al. 2019) sendo reconhecidos por desempenhar diversos papéis ecológicos como simbioses, mutualistas, saprotróficos e potencialmente patógenos (DE SOUSA et al., 2017) revelando espécies de fungos cosmopolitas e endêmicas presentes nesse habitats (MENEZES et al., 2019).

A microbiota da Antártica tem sido representada por leveduras e fungos filamentosos pertencentes as espécies dos filos Chytridiomycota, Mucoromycota, Mortierellomycota, Glomeromycota, Ascomycota e Basidiomycota (RUISI et al., 2007; ROSA et al., 2019). Em estudos prévios realizados pelo nosso grupo de pesquisa, fungos filamentosos representantes dos gêneros *Geomyces*, *Passalora*, *Penicillium*, *Pseudogymnoascus*, *Pseudeutorium*, *Gibellulopsis*, *Schizophyllum*, *Pholiota*, *Xylaria*, *Acremonium*, *Cosmospora*, *Thelebolus*, *Chaetomium*, *Hypocrea*, *Antarctomyces*, *Mortierella*, *Mucor-like* e *Cadophora* (DUARTE et al., 2018a, WENTZEL et al., 2019, SANTOS et al., 2020) e leveduras dos gêneros *Bullera*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Cystofilobasidium*, *Glaciozyma*, *Guehomyces*, *Holtermanniella*, *Leucosporidium*, *Leucosporidiella*, *Pseudozyma*, *Mrakia*, *Metschnikowia*, *Meyerozyma*, *Rhodotorula*, *Tremella*, *Trichosporon* e *Wickerhamomyces* (DUARTE et al., 2013, DUATE et al., 2016, WENTZEL et al., 2019) foram isolados a partir de amostras marinhas e terrestres da Antártica.

Canini et al., (2020) ao estudar a comunidade de fungos presente em solos antárticos, empregando a metodologia de *metabarcoding* relatou uma riqueza de fungos de 59 ± 27 OTUs por amostra, incluindo espécies de fungos previamente desconhecidas representando grande parte das comunidades amostradas.

No estudo de Marshall (1996, 1997) foram isolados esporos do fungo *Cladosporium* na Península Antártica (Ilha Signy) em épocas que coincidem com a ocorrência da chegada de massas de ar da América do Sul. A maioria dos fungos antárticos conhecidos são espécies tolerantes ao frio, cosmopolitas e adaptadas às baixas temperaturas que prevalecem neste ambiente (MÖLLER; DREYFUSS, 1996). Os fungos não endêmicos da Antártica incluem uma alta proporção das Classes Leotiomycetes e Dothideomycetes (COX et al., 2016). Alguns membros dessas classes de fungos se dispersam até a Antártica por meio de aves como skuas, que

podem atuar como vetores para o transporte de fungos como os pertencentes às espécies de *Pseudogymnoascus* (MARSHALL, 1998).

A diversidade de fungos pode variar em todo o gradiente latitudinal nas ilhas sub-antárticas, Península Antártica e nos ecossistemas antárticos continentais (Figura 1). No entanto, com as mudanças climáticas, espera-se que a biodiversidade antártica seja alterada. Especialmente nas regiões polares, o aumento da temperatura e os padrões de precipitação alterados devem induzir a uma invasão de espécies exógenas (CHOWN, 2012; LEE et al., 2017). Newsham et al. (2016) demonstraram que a temperatura do ar da superfície é um fator significativo capaz de moldar a diversidade e a composição das comunidades fúngicas do solo. Com base nessas observações, os autores preveem que o aquecimento futuro na região Antártica levará a aumentos de 20 a 27% no número de espécies de fungos presentes nos solos até o final do século. Assim, destacamos a importância do estudo da biodiversidade, estabilidade e função dos diferentes grupos microbianos nos ambientes antárticos, visando compreender os efeitos das alterações climáticas sobre os micro-organismos.

2.7. Ecologia microbiana de recuo de geleiras

As geleiras e manto de gelo foram reconhecidos como um dos biomas da Terra (ANESIO; LAYBOURN-PARR, 2012) e correspondem a aproximadamente 11% da superfície do planeta (MARGESIN et al., 2011).

Embora as geleiras tenham sido consideradas como um ambiente inabitável, ficou provado que elas são quase que exclusivamente habitadas por micro-organismos, incluindo bactérias, arqueias e eucariontes, sendo está uma das características peculiares em comparação com outros biomas terrestres (ANESIO et al., 2017; HOTALING et al., 2017). Os micro-organismos que habitam as geleiras da Antártica ainda são em grande parte desconhecidos quando comparados a outros ambientes congelados (GARCIA-LOPEZ et al., 2016). Vários fatores como radiação solar, disponibilidade de nutrientes e conteúdo de água determinam a diversidade e abundância dessas populações microbianas, bem como o tipo de metabolismo e os ciclos biogeoquímicos desenvolvidos.

Alguns micro-organismos depositados na superfície glacial viajam gradualmente para camadas mais profundas de gelo (PERINI et al., 2019), podendo sobreviver no gelo como “fósseis vivos” viáveis e congelados (MA et al., 2000; VISHNIAC et al., 1996), enquanto outros permanecem metabolicamente ativos e

possivelmente se multiplicam nas veias entre os cristais de gelo (PRICE, 2009). As comunidades microbianas também são capazes de se desenvolver em gelo profundo ou gelo subglacial na base das geleiras, onde o derretimento ocorre devido à pressão gravitacional, resultando em camadas finas de água líquida, geralmente com altas concentrações de sais e enriquecidas com o material inorgânico do leito da geleira (PERINI et al., 2019).

Durante o inverno os solos de geleiras mesmo congelados abrigam uma comunidade microbiana ativa de decompositores que continuam a utilizar CO₂ (ZINGER et al., 2009; BOKHORST et al., 2013; MERBOLD et al., 2012). A atividade contínua é alimentada pela decomposição fúngica e bacteriana de polímeros orgânicos e compostos fenólicos (SCHADT et al., 2003, LIPSON 2004). A temperatura é um provável controlador dos processos microbianos e do desenvolvimento das comunidades de micro-organismos (BRADLEY et al., 2014). A reativação das comunidades microbianas do solo presas abaixo do gelo por centenas ou milhares de anos pode levar a um aumento na concentração de carbono atmosférico e assim causar um processo de “efeito estufa local”, acelerando ainda mais o processo de recuo das geleiras (BIASI et al., 2005).

As geleiras são consideradas um experimento natural para avaliar a resposta ecológica, evolutiva e avaliar o estabelecimento de comunidades microbianas frente às mudanças ambientais (EDWARDS et al., 2014). Contudo, as mudanças climáticas podem desencadear mudanças na estrutura da comunidade, representando uma ameaça severa para as comunidades microbianas do solo desses habitats (BOETIUS et al., 2015). Com a contínua retração da frente das geleiras resultante das mudanças climáticas, o solo exposto passa a representar um gradiente de fatores físicos, químicos e biológicos que refletem as mudanças regionais ao longo do tempo. Com o derretimento do gelo, rochas aprisionadas, sedimentos e detritos finos são liberados e os micro-organismos pioneiros presentes nesses detritos iniciam a formação do solo por intemperismo em minerais rochosos e incorporam matéria orgânica (FREY et al., 2010; SMITTENBERG et al., 2012). As comunidades microbianas que colonizam o solo recém-exposto estimulam o desenvolvimento físico e biológico do solo através do desgaste biológico do leito rochoso e do acúmulo de C e nutrientes, fornecendo assim uma base para uma sucessão adicional do ecossistema (KAŠTOVSKÁ et al., 2007).

O desenvolvimento do solo ao longo de cronosequências glaciais tem sido

correlacionado com a sucessão primária de micro-organismos do solo (SIGLER et al., 2002). A sucessão primária é uma importante fase ecológica que se refere a um processo de estabelecimento de atividade biológica em uma área (FIERER et al., 2010). O estudo de ecossistemas de solo em sucessão primária é crucial, pois fornece informações com relação às condições que provavelmente ocorrerão em novos habitats semelhantes ou durante a reabilitação de habitats (DEONALLI et al., 2017). O conhecimento sobre a dispersão de micro-organismos e como eles colonizam esses ambientes recém-expostos é essencial para a compreensão dos padrões biogeográficos da diversidade microbiana (MARTINY et al., 2006; TEDERSOO et al., 2012).

Estudos relacionados com a sucessão primária de micro-organismos do solo após a retirada das geleiras é o foco de atenção de muitos especialistas. Estudos realizados por Niederberger et al. (2019) demonstraram que as comunidades microbianas em solos de geleiras antárticas são altamente sensíveis à mudança na disponibilidade de água. Dresch e colaboradores (2019) descreveram uma alta diversidade de fungos em solos próximos à geleira e essas comunidades estão sujeitas à rotatividade de espécies sazonais distintas.

As mudanças ambientais ocasionadas pela retração da geleira podem exercer pressões seletivas nos micro-organismos, alterando as suas funções em processos chave, como nos ciclos biogeoquímicos. Desta forma, o estudo da diversidade dos grupos microbianos nestes ambientes, visando compreender os efeitos das alterações climáticas e adaptações sofridas por estes micro-organismos se faz necessário. Apesar da importância desses micro-organismos pioneiros no desencadeamento da formação do solo, sua origem e identidade são amplamente desconhecidas (BRADLEY et al., 2014).

Várias técnicas têm sido utilizadas com o objetivo de identificar micro-organismos que habitam as geleiras. Tradicionalmente são utilizadas técnicas de microscopia (DEMING, 2012), isolamento e cultivo (CHRISTNER et al., 2003) e, mais recentemente as técnicas de sequenciamento de rRNA 16S e 18S (GARCIA-DESCALZO et al., 2013).

2.8. Sequenciamento de alto rendimento aplicado à identificação de fungos

O reino Fungi é estimado em cerca de 3,8 milhões de espécies e apresenta formas e estratégias nutricionais diversificadas, além de associações com outros organismos (HAWKSWORTH et al., 2017). Os primeiros estudos de identificação molecular revelaram uma variedade de espécies de fungos, muitos não cultiváveis, com o corpo de frutificação e outras estruturas desconhecidas, cujos modos nutricionais e associações ecológicas desafiavam a sua caracterização (TEDERSOO et al., 2016). No entanto, a revolução genômica mudou fundamentalmente a maneira como pesquisamos a biodiversidade na Terra. As plataformas de sequenciamento de alto rendimento (“HTS”) agora permitem o sequenciamento rápido de DNA de diversos tipos de amostras ambientais (denominadas “DNA ambiental” ou “eDNA”).

À medida que as tecnologias de sequenciamento de DNA progrediram do sequenciamento de amostras únicas para o sequenciamento paralelo de Sanger no início dos anos 2000, ficou claro que a microbiota “invisível” supera a diversidade observável (O'BRIEN et al., 2005). Mais de 1.000.000 de sequências de ITS fúngicas derivadas de Sanger estão disponíveis para referência no banco de dados “*International Nucleotide Sequence Databases Collaboration*” (INSDC) (KARSCHMIZRACHI et al., 2018).

Os métodos de sequenciamento de nova geração (ou segunda geração) (NGS) foram desenvolvidos na segunda metade da década de 2000, marcando o início das análises de sequenciamento de alto rendimento (HTS) de comunidades fúngicas. A taxonomia e a ecologia dos fungos foram revolucionadas pela aplicação de métodos moleculares (HIBBETT et al., 2009; 2016). Estudos de sequenciamento de alto rendimento (HTS) de comunidades de fungos estão redesenhando o mapa do reino Fungi sugerindo sua enorme e amplamente desconhecida diversidade taxonômica e funcional (NILSSON et al., 2019).

De acordo com Lindahl et al. (2013) o delineamento experimental é uma etapa fundamental que determina o poder explicativo analítico e a representatividade dos estudos relacionados ao HTS. Os processos de extração de DNA, escolha de marcadores genéticos, e condições de amplificações devem ser adequados para fungos (NILSSON et al., 2019). O sequenciamento da região ITS (*Internal Transcribed Space*) do *operon* ribossomal (rRNA), reconhecida como o código de barras do DNA fúngico (*barcode*) (SCHOCH et al., 2012), é um dos pilares na identificação de

espécies com base em sequenciamento de Sanger e no *metabarcoding* baseado em HTS (BEGEROW et al., 2010). O termo *metabarcoding* foi introduzido por Taberlet et al. (2012) e definido como “*identificação automatizada de várias espécies a partir de uma única amostra global contendo organismos inteiros ou de uma única amostra ambiental contendo DNA degradado*”.

2.9. Metabarcoding empregados no estudo das comunidades microbianas em ambientes frios

A técnica de *metabarcoding* ou também conhecida como metataxonomia combina os princípios do código de barras do DNA (*barcoding*) com a tecnologia de sequenciamento de nova geração, gerando grandes quantidades de dados sobre a biodiversidade. Sendo considerada uma técnica extremamente útil para quantificar a abundância relativa de espécies.

Os avanços recentes na coleta e análise de DNA ambiental (eDNA), contribuíram para uma nova abordagem complementar que pode ajudar a preencher lacunas nos dados de distribuição de espécies deixados por métodos tradicionais em habitats logisticamente difíceis (DEINER et al., 2017), particularmente em locais remotos e desafiadores como os ambientes extremos. O *metabarcoding* de eDNA pode permitir a identificação de milhões de fragmentos/amostra de DNA, fornecendo uma abordagem poderosa para pesquisar a biodiversidade.

Com o progresso das tecnologias de sequenciamento de nova geração, análises de metagenoma e *metabarcoding* em estudos com amostras de sedimentos glaciais (WRIGHT et al., 2013) e solos antárticos (PEARCE et al., 2012; DRESCH et al., 2019; PESSI et al., 2019) revelaram que a diversidade taxonômica e funcional é muito maior do que se pensava anteriormente. Estudos utilizando essas abordagens representam uma oportunidade para ampliar o conhecimento da biodiversidade de ambientes remotos da Antártica (CHOWN et al., 2015b) e vêm sendo aplicados para monitorar espécies invasoras, pesquisar a biodiversidade em grandes escalas espaciais e para fornecer subsídios para futuros esforços de conservação (CHOWN et al., 2015b). Em adição, a técnica de *metabarcoding* aplicada a amostras da Antártica tem sido útil no estudo dos vírus (LÓPEZ-BUENO et al., 2009), bactérias em comunidades hipolíticas (MAKHALANYANE et al., 2013), solo (TEIXEIRA et al., 2010), ar (BOTTOS et al., 2014), bem como de fungos e outros eucariotos (POINTING et al., 2009; DREESENS et al., 2014; NIEDERBERGER et al., 2015).

No entanto, o uso da tecnologia *metagenômica* e *metabarcoding* em ambientes polares ainda é desafiador devido às concentrações relativamente baixas de biomassa microbiana, resultando em baixas recuperações do DNA genômico de qualidade, principalmente em solos jovens (BRADLEY et al., 2014). Outra limitação da técnica é a não distinção de organismos ativos de DNA inativos preservados no ambiente, o que pode representar uma proporção maior do DNA total em solos com baixa biomassa (CARINI et al., 2017). Em adição, apesar de gerar milhões de leituras de sequência de DNA em inúmeras amostras, não é possível a distinção entre fontes mortas, inativas ou ativas do modelo de DNA, que combinadas com a natureza baseada em PCR dessas técnicas, podem levar a resultados falhos e tendenciosos (LINDAHL et al., 2013; NGUYEN et al., 2015; HAWKSWORTH; LÜCKING, 2017; WUTKOWSKA et al., 2019). Considerando o fato de que o DNA extracelular pode persistir em ambientes escuros/frios por longos períodos, que vai de meses a anos, (CORINALDESI et al., 2008; DELL'ANNO et al., 2005) muitos dos organismos detectados pelo *metabarcoding* de eDNA podem não estar viáveis na amostra estudada (local de coleta). Esse efeito pode ser exacerbado pela preservação de DNA antigo em solos frios da Antártica (WILLERSLEV et al., 2004). Um estudo recente sobre solos marítimos da Antártica reportou que pesquisas baseadas em DNA podem favorecer a observação de fungos cosmopolitas devido a uma maior proporção de DNA inativos pertencentes a esses fungos, conservados no ambiente (COX et al., 2019).

Contudo, a análise de *metabarcoding* de DNA ambiental é uma opção valiosa para descrever a composição e distribuição da microbiota encontrada em ambientes extremos como a Antártica (CZECHOWSKI et al., 2017). Essa abordagem é capaz de produzir grandes quantidades de dados em detalhes, com fluxos de trabalho de laboratório relativamente simples e com eficiência de tempo.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

O presente projeto tem como objetivo estudar a biodiversidade filogenética de fungos filamentosos através do emprego de métodos moleculares dependentes e independentes de cultivo (*Metabarcoding*), bem como avaliar os efeitos dos parâmetros ambientais nas comunidades fúngicas.

3.2. Objetivos específicos:

- Isolar e identificar por métodos moleculares fungos filamentosos a partir de amostras de solo de recuo da geleira Collins e estabelecer correlações com parâmetros ambientais.

- Analisar a diversidade e composição da comunidade fúngica em amostras de solo das geleiras Collins e Baranowski por meio de abordagem Metabarcoding, correlacionar a composição taxonômica entre os ambientes e buscar compreender os fatores ambientais que moldam os taxa microbianos nas amostras de solo do recuo das geleiras.

CAPÍTULO 1

Fungal Community in Antarctic Soil Along the Retreating Collins Glacier (Fildes Peninsula, King George Island)

Status: *Published* – MDPI

Special Issue "Microbes in the Cryosphere"

Citation:

Santos, J.A.; Meyer, E.; Sette, L.D. Fungal Community in Antarctic Soil Along the Retreating Collins Glacier (Fildes Peninsula, King George Island). *Microorganisms* 2020, 8, 1145.

Fungal Community in Antarctic Soil along the Retreating Collins Glacier (Fildes Peninsula, King George Island)

Juliana Aparecida dos Santos ¹, Edenilson Meyer ² and Lara Durães Sette ^{1, *}

¹ Department of General and Applied Biology, Biosciences Institute, São Paulo State University (UNESP), 24A, 1515, Rio Claro 13506-900, SP, Brazil; julibio7@hotmail.com

² Department of Microbiology, Immunology and Parasitology, Biological Sciences Center, Federal University of Santa Catarina, Florianopolis 88040-900, SC, Brazil; meyer@ufsc.br

* Correspondence: lara.sette@unesp.br; Tel.: +55-19-3526-4171; Fax: +55-19-35340009
Received: 2 July 2020; Accepted: 28 July 2020; Published: date

Abstract: Glacial retreat is one of the most conspicuous signs of warming in Antarctic regions. Glacier soils harbor an active microbial community of decomposers, and under the continuous retraction of glaciers, the soil starts to present a gradient of physical, chemical, and biological factors reflecting regional changes over time. Little is known about the biological nature of fungi in Antarctic glacier soils. In this sense, this work aimed at studying the behavior of fungal community structure from samples of glacier soil collected after glacial retreat (Collins Glacier). A total of 309 fungi distributed in 19 genera were obtained from eleven soil samples. Representatives of the genera *Pseudogymnoascus* (Ascomycota) and *Mortierella* (Mortierellomycota) were the most abundant isolates in all samples. The data revealed the presence of filamentous fungi belonging to the phylum Basidiomycota, rarely found in Antarctica. Analysis of the generalized linear models revealed that the distance from the glacier as well as phosphorus and clay were able to modify the distribution of fungal species. Environmental variations proved to have influenced the genera *Pseudogymnoascus* and *Pseudeutorium*.

Keywords: extremophiles; fungal diversity; glacial soil; Antarctic microbiology; glacier retraction

1. Introduction

Microbial diversity of the terrestrial Antarctic environment exists mainly in ice-free areas, which have been altered by climate change, representing less than 1% of the continent. The Antarctic Peninsula is the most affected region, where the warming rate is twice the rate of other Antarctic regions [1–4]. Considering its rate of glacier retreat, Collins Glacier is predicted to disappear in 285 years [5–7].

Collins Glacier, commonly referred to as the Bellinghausen Dome, is a small ice dome centered approximately at 62°12'S latitude, 58°57'W longitude (area of 15 square km and a maximum altitude of 270 m). Additionally, studies carried out in 2007 involving the radiocarbon dating of moss adjacent to the glacier indicated that the ice cap has been located at or behind its position for much of the last 3500 years [8]. Although the recent literature provides information related to the slow response of the Collins Glacier to climate change, data collected by Simões et al. [7] indicated that the retreat is a consequence of regional warming. Increase in ice-free area drastically modifies biodiversity due to changes in the environment and the sharing of species with other areas [9–11].

Microorganisms are transported by terrestrial dust and in precipitation become embedded in the ice formed from falling snow, which can be considered as an excellent matrix for the long-term preservation of these groups of organisms, allowing for the study of both present and ancient microbial diversity [12]. The ice matrix may contain spores and mycelial fragments of fungi, present in the air from thousands of years ago [12,13]. Terrestrial ecosystems covered with ice are being exposed with the retreating of glaciers, which allows a new environment for microorganisms to establish, and provides a great habitat to study the succession of microbial community and its associations with soil nutrients exposed over the years [14–16].

Time since deglaciation affects the fungal community composition. Considering the disturbance caused by climate change, species interactions are impaired and force species adaptations, migration, and extinction [14,17–20], indicating that air temperature in Antarctica is a significant factor for microbial community composition. According to Newsham et al. [20], global warming can lead to about a 20–27% increase in fungal species richness in the southernmost soils by 2100. This change in the composition of fungus community can trigger substantial changes in nutrient cycling and productivity of Antarctic soils. Considering the premise that global warming is

directly related to glacial retreat, studies of microbial succession have become relevant.

Rapid environmental warming is a threat to the integrity of ice-influenced ecosystems, where microorganisms are the dominant form of life [21]. Despite the importance of microorganisms in Antarctic soils and the fast warming of the Antarctic Peninsula, little is known about how these microbial communities respond to environmental changes generated by the global warming process [22]. In this context, this study is based on the following objectives: (i) to isolate and identify filamentous fungi from soil samples of glacier retreat (Collins Glacier, Fildes Peninsula, King George Island); (ii) determine whether fungal succession occurs in soils and describe diversity distribution, and (iii) determine whether the composition of the fungal community is associated with the composition of the soil.

2. Methods

2.1. Sampling Site

Soil samples were collected during the XXXIII Brazilian Antarctic Expedition (February 2015) at different points in the foreland of the retreating Collins Glacier (62°10'S, 58°55'W), located in the Fildes Peninsula, King George Island, Maritime Antarctica (Figure 1). A total of eleven samples were collected in the transects at points 0, 3, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, and 800 m from the glacier front (Table S1). The samples were stored in sterile plastic bags and maintained under refrigeration. For each sampling site, three subsamples were collected and pooled together to produce composite samples, yielding the final samples listed in Table S1.

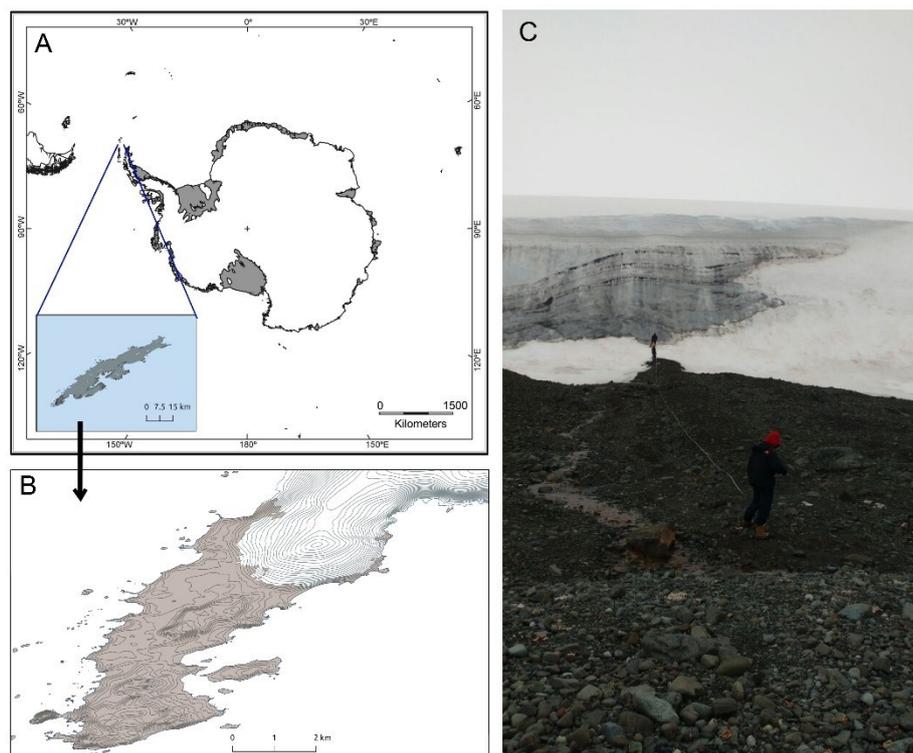


Figure 1. Collins Glacier (Fildes Peninsula, South Shetlands Archipelago, King George Island, Maritime Antarctica). **(A,B)** Map of the sampling region; **(C)** sampling.

2.2. Physicochemical Analysis

The following physicochemical parameters of the soils were assessed: micronutrient (Cu, Fe, Mn, and Zn), organic matter, P, K, Ca, and Mg concentrations, and pH. The evaluation of clay and silt was carried out by granulometric analysis using the densimeter method (or Buyoucos) based on the sedimentation of the particles that make up the soil [23].

These analyses were carried out at the “Luiz de Queiroz” College of Agriculture (Department of Soil Sciences, University of São Paulo, Brazil), according to the methodology described in Van Raij et al. [24]. Physicochemical parameters of the eleven soil samples are shown in Table S2.

2.3. Fungal Isolation

Soil samples (12.5 g) were added to Erlenmeyer flasks containing 112.5 mL of NaCl solution (0.9%), and 200 μL of each sample was serially diluted in a 0.085% NaCl solution. For each sample, 10^{-1} and 10^{-3} dilutions were plated in Petri dishes. The following culture media were used for fungal isolation using the spread-plate method (in $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): MA2%: 20 malt extract, 15 agar; PDA: 42 potato dextrose agar; PDA10X: 10X-diluted PDA; and BSA: 15 malt extract, 2 yeast extract, 15 agar, 2

lactic acid (added after autoclaving). Streptomycin ($0.01 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) and chloramphenicol ($0.1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) (diluted in alcohol) were added to the culture media in order to avoid bacterial growth. The plates were incubated for two months at $5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ and $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$, and colonies of fungi were purified in the same media used for isolation. Two different methods were applied for fungal preservation: cryopreservation at $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (10% glycerol) and the Castellani method at $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (sterile water). The isolates are currently stored in the research collection of the Laboratory of Environmental and Industrial Mycology (LAMAI) associated with Microbial Resource Center (CRM-UNESP) of the São Paulo State University (Rio Claro, SP, Brazil).

2.4. Fungal Identification

Extraction of DNAs from filamentous fungi followed the method described by Lacerda et al. [25]. The internal transcribed spacer (ITS) considered the “barcoding region” for fungi was amplified using the universal primers ITS4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC3') and ITS5 (5'GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG3') [26]. The amplicons were purified using the Exonuclease I and alkaline phosphatase enzymes (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) according to the manufacturer's protocol. The samples were quantified in a NanoDrop[®] (Thermo Scientific, MA, USA) and sequenced using the BigDye Terminator[®] v.3.1 kit (Applied Biosystems, California, USA) in an ABI 3500 sequencer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). The following sequencing conditions were applied: $95 \text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ followed by 28 cycles at $95 \text{ }^{\circ}\text{C}/15 \text{ s}$, $50 \text{ }^{\circ}\text{C}/45 \text{ s}$, and $60 \text{ }^{\circ}\text{C}/4 \text{ min}$. The generated sequences were assembled into contigs in BioEdit v.7.2.5 [27] and compared to homologous sequences deposited in the NCBI-GenBank database using BLAST. Alignments were obtained independently for each file using MAFFT v.7 [28] and refined with Gblocks v.091b [29] (or manually if necessary). Nucleotide substitution models were selected under separated runs for each dataset using the Akaike Information Criterion (AIC) with a confidence interval of 95% in jModelTest 2 v.2.1.10 [30]. The phylogeny was reconstructed through methods of Bayesian Inference (BI) using MrBayes v.3.2.2 [31]. For each dataset, three heated chains and one cold chain were performed; each run consisted of Markov Chain Monte Carlo (MCMC) sampling for two million generations [32]. Convergence occurred when the standard deviation (SD) of the split frequencies fell below 0.01; the first 25% of MCMC generations were discarded as “burn-in”. The final tree was edited on FigTree v.1.4.0 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

2.5. Accession Numbers

The sequences generated were deposited in GenBank under accession numbers MN265889-MN266197.

2.6. Structure and Composition of Fungal Communities

Fungal diversity (abundance and species richness) was assessed by using the inverse Simpson ($1/D$), Shannon, and Chao1 indices. Pearson's correlation between diversity indices and environmental data was performed and the results were classified according to Schober et al. [33] as negligible (0 to 0.09), weak (0.10 to 0.39), moderate (0.40 to 0.69), strong (0.7 to 0.89), and very strong (>0.9). A dbRDA analysis was carried out to visualize the relationship between environmental data (standardized) and species distribution (Sorensen's dissimilarity matrix). Variables with VIF (Variance Inflation Factor) higher than 10 were excluded from the dbRDA. Generalized linear models using negative binomial distribution were performed to test the effect of environmental variables on species distribution. Statistical analyses were performed using software R (version 3.6.3) and *vegan* v.2.5.6, *mvabund* v.4.1.3, and *BiodiversityR* v.2.11.3 packages. The SIMPER (similarity percentage) [34] was applied to explore the differences in the composition of the fungal communities and to assess which taxa were primarily responsible for the differences found between groups of samples using *Past* v. 2.17c.

3. Results

3.1. Fungi from Collins Glacier Soil Samples

A total of 309 filamentous fungal isolates were recovered from eleven soil samples collected at the Collins Glacier. The isolates were recovered in PDA (30%), MA2% (27%), BSA (23%), and diluted PDA (19%), indicating the applicability of these media for the recovery of cultured Antarctic fungi. The greatest number of fungi was isolated at 15 °C (63%). Some isolates were recovered only at 15 °C (six taxa), and one from the genus *Pholiota* (Basidiomycota) only at 5 °C (Table S4).

Individuals belonging to the genera *Pseudogymnoascus*, *Pseudeurotium*, *Mortierella*, and the order Helotiales were able to grow in all culture media and at both incubation temperatures. A greater number of representatives of the genus *Pseudogymnoascus* was isolated in PDA10X medium (22%) and at 5 °C (38%), of the genus *Pseudeurotium* in MA (50%) at both temperatures (50% in each), of the genus

Mortierella in PDA (45%) and 15 °C (81%), and Helotiales in PDA and BSA (29% in each) with 57% of the isolated at 5 °C (Table S4).

The following taxa were recovered only in BSA medium: *Passalora* (5 °C), *Pholiota* (5 °C), and Russulales (15 °C). *Acremonium* (5 °C and 15 °C), *Gibellulopsis* (15 °C), and *Schizophyllum* (15 °C), isolated only in PDA medium and *Thelebolus* and *Xylaria* only in MA medium and at 15 °C (Table S4).

Data from sequencing and phylogenetic analyses revealed the predominance of Ascomycota (93.3%), comprising 15 genera, followed by Mortierellomycota (7.3%) with one genus, and Basidiomycota (1.4%) with three genera (Figure 2 and Table S4).

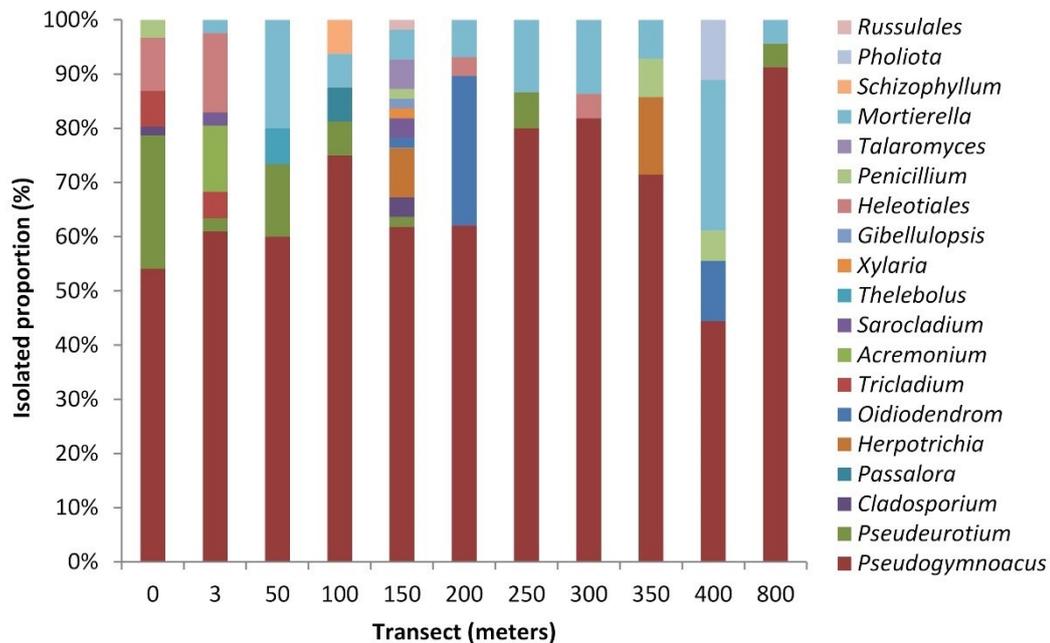


Figure 2. Proportions of filamentous fungal isolates (taxa) in the Collins Glacier retreated soil samples.

Representatives of Ascomycota were affiliated with the genera *Pseudogymnoascus* (65.0%), *Pseudeutorium* (7.0%), *Oidiodendron* (3.6%), *Herpotrichia* (2.3%), *Tricladium* (1.9%), *Acremonium* (1.6%), *Penicillium* (1.6%), *Cladosporium* (1.0%), *Sarocladium* (1.0%), *Passalora* (0.3%), *Thelebolus* (0.3%), *Xylaria* (0.3%), *Gibellulopsis* (0.3%), and order Helotiales (4.5%).

The Basidiomycota phylum was represented by one isolate identified as belonging to the order Russulales (0.3%) and three other isolates from the genera *Schizophyllum* (0.3%) and *Pholiota* (0.6%).

Representatives of the genus *Mortierella* (phylum of Mortierellomycota) showed identity similarity with the species *M. hyalina* (100%), *M. antarctica* (99%), *M. gamsii* (99%), and *M. elongatula* (95%) (Figure 2 and Table S5).

Pseudogymnoascus was the dominant genus (65%) with five different species. Some isolates showed similarity with *P. pannorum* (99% identity) and *P. verrucosus* (99% identity). Representatives of *Pseudogymnoascus* were recovered from all samples and greater abundance was observed at the 150 m (17%) and 0 m (16%) points. The genus *Pseudeurotium* was the most abundant at 0 m (68%) represented by two different species, which showed sequence similarity with *P. ovale* (98%) and *P. hygrophilum* (99%). *Oidiodendron* sp. was the most abundant at 200 m (73%) and representatives of the *Tricladium* sp. were found only at 0 and 3 m (Figure 2 and Table S5).

The Dothideomycetes class was represented by *Cladosporium* (100% identity with the species *C. xantochromaticum* and *C. halotolerans*, recovered at 150 and 0 m, respectively), *Passalora* sp. (recovered at 100 m), and *Herpotrichia* sp. (recovered at 150 and 350 m). The Sordariomycetes class was represented by *Xylaria* sp., *Sarocladium* sp., *Acremonium* sp., and *Gibellulopsis* sp., which were recovered from newly exposed soil samples (0 m) up to 150 m from the glacier retreat, and *Thelebolus* sp., found only at 3 m from the glacier. The Eurotiomycetes class was represented by *Penicillium* and *Talaromyces*. *Penicillium* sp., distributed between 0 and 400 m and *Talaromyces* sp. only at 150 m (Figure 2 and Table S4). Most isolates to Helotiales (86%) were recovered at 0 and 3 m and found up to 300 m from the retreating glacier (Figure 2 and Table S5).

Concerning Basidiomycota, the results revealed the presence of two genera of the order Agaricales (*Schizophyllum* and *Pholiota*) and one representative of the order Russulales (recovered from soil collected at 150 m). *Schizophyllum* sp. showed 99% identity with the specie *S. commune*, obtained at 100 m. The two representatives of *Pholiota* showed 99% identity with *P. baeosperma*, obtained at 400 m.

Considering the number of taxa (Figure 2), the points nearest the glacier (0 and 3 m) showed six and seven genera, respectively. A higher number of isolates (n = 61) was found at 0 m and a higher number of taxa (n = 12) was recovered at 150 m. At 800 m, only the most abundant genera (*Pseudogymnoascus*, *Mortierella*, and *Pseudeurotium*) were found.

Data related to the fungal molecular characterization (sequence similarity and phylogenetic trees) are available in the Supplementary Materials (Table S3 and Figures S1–S15).

3.2. Structure and Composition of the Fungal Communities

In general, the 50, 200, 250, 300, 350, and 800 m sites showed less richness expressed in species numbers (S), ranging from 3 to 4. A similar trend was observed for the N (individual numbers) values of the samples at 50, 100, 250, 350, and 400 m (ranging from 14 to 18). In contrast, the samples collected at 200, 300, and 800 m showed N ranging from 22 to 29, while the remaining samples (0, 3, and 150 m) showed N above 40. The highest N and S were found at 0 m and 150 m from the glacier, respectively.

Shannon index (H'), representing richness and dominance, ranged from 0.36 to 1.51. At 150 m, the highest species richness (1.51) and the greatest Chao1 diversity (16.91) were observed (Table 1). This site also presented the largest number of species (S = 12) and the second highest abundance (N = 55). Regarding the major dominance expressed for the Simpson (D) index, represented by $1/\lambda$, the sample collected at 400 m showed the highest value (D = 3.31).

Table 1. Indices and richness estimator (α -diversity) for the correlated sampled points in meters from the retreating Collins Glacier.

Sample (Meters)	S (N) *	Shannon	Inv-Simpson	Chao1
0	6 (61)	1.26	2.71	6
3	7 (41)	1.26	2.43	8.46
50	4 (15)	1.08	2.37	4
100	5 (16)	0.91	1.73	10.63
150	12 (55)	1.51	2.49	16.91
200	4 (29)	0.95	2.14	4
250	3 (15)	0.63	1.51	3
300	3 (22)	0.58	1.45	3
350	4 (14)	0.90	1.85	4.46
400	5 (18)	1.37	3.31	5
800	3 (23)	0.36	1.19	3.96

*Note: S is the total number of fungal species; N is the total number of fungal isolates

The similarity between the sampled points was demonstrated in a dendrogram (Figure 3) based on Bray–Curtis distances. It was observed that the sampling sites closest to the glacier (0 and 3 m) formed a cluster and presented greater similarity than the remaining points. The grouping of 250 and 800 m sites showed the same number of taxa ($n = 3$). The sampling point at 150 m showed a close relationship with the others and is characterized by the greatest richness, the second highest abundance, and highest number of newly emergent taxa. The samples collected at the 200, 300, 400, and 350 m points showed high similarity, with only one taxon differing at 400 m (*Pholiota* sp.).

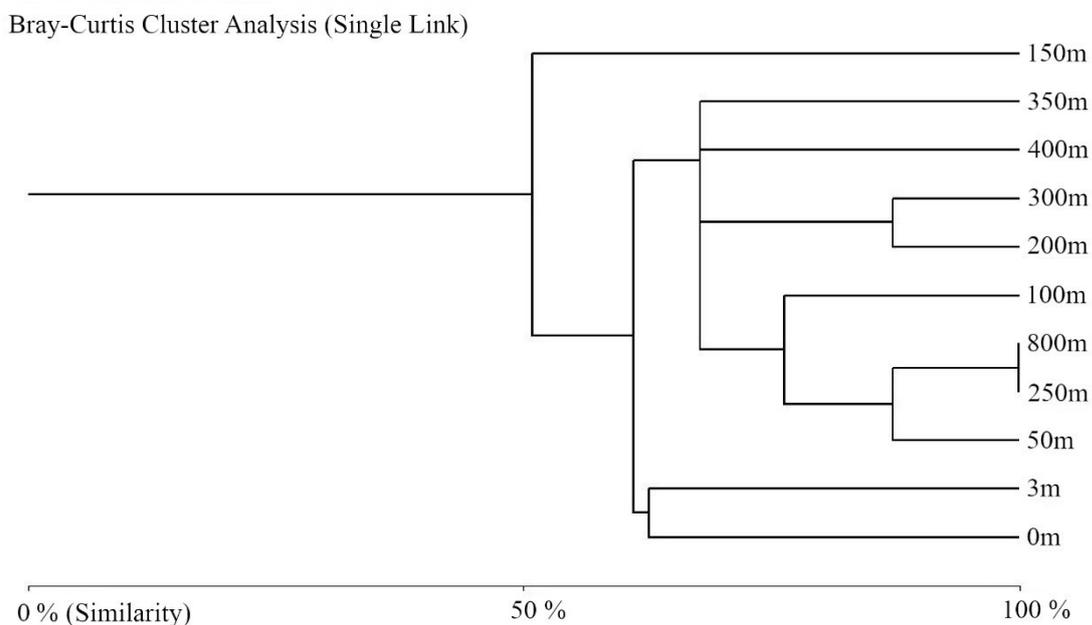


Figure 3. Dendrogram of the Bray–Curtis similarity measures for the filamentous fungi recovered from the Collins Glacier retreat-exposed soil samples.

The results from the SIMPER analysis indicated *Pseudogymnoascus* (18.4% avg. dissimilarity) and *Pseudeutorium* (4.5% avg. dissimilarity) as the taxa that most contributed to generate the differences. These taxa combined accounted for 42% and 10% of the differences, respectively, while the remaining 17 genera were responsible for 8 to 0.5% of the differences.

The results from the generalized linear models (GLM) revealed that the distance from the glacier as well as P and clay were able to modify the structure of the fungal community ($p < 0.05$) (Table 2).

Table 2. Analysis of generalized linear models (GLM) between the cultivable fungus community and the environmental variables of the Collins Glacier (Fildes Peninsula, South Shetlands Archipelago, King George Island, Maritime Antarctica).

Variable	p-Value
Sample (meters)	0.020
T	0.089
Silt	0.416
Clay	0.049
O.M.	0.277
pH	0.129
P	0.030
K	0.604
Ca	0.188
Mg	0.455
Fe	0.218
Cu	0.257
Mn	0.059

The dbRDA analysis showed that the distribution of *Pseudeurotium* spp. was more associated with the highest levels of phosphorus (P) and manganese (Mn) and lower levels of clay, while the distribution of the *Pseudogymnoascus* spp., was more correlated to iron (Fe). The remaining isolates did not correlate to any environmental conditions (Figure 4).

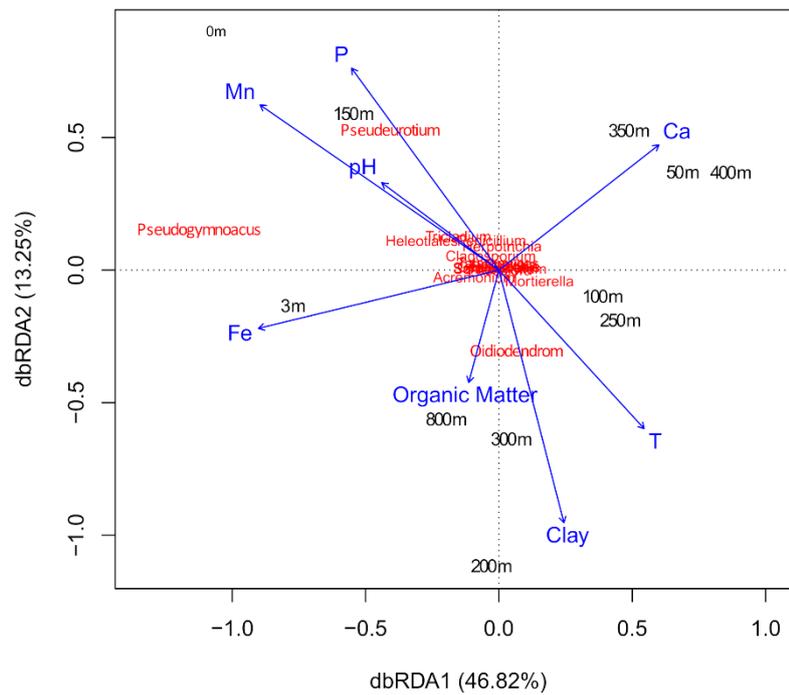


Figure 4. Distance-based redundancy analysis (dbRDA) ordination based on the weighted Sorensen distance with plotting of the environmental parameters and the fungal community at each collection point.

The correlation analysis showed that the S correlated negatively (moderate) to the distance from the glacier, while N correlated negatively to the distance from the glacier and temperature, and positively to P, Fe, and Mn. The Shannon index showed a moderate negative correlation with the distance from the glacier and the content of organic matter. The Simpson (D) index correlated negatively to the distance from the glacier, organic matter, and silt, and positively to calcium (Ca) (Figure 5).

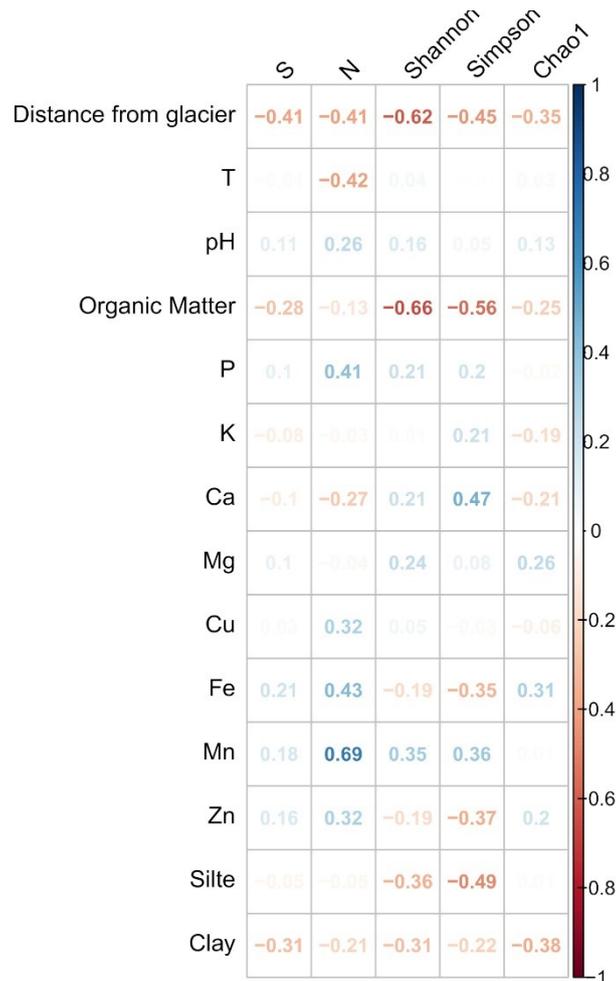


Figure 5. Pearson's correlation between the diversity indices and environmental data.

4. Discussion

Considering that information on microbial structure over time associated with environmental changes is essential to understand soil formation and the evolution of microbial communities, we applied a chronosequence approach in melting the glacier retreats [35,36].

In this study, we recovered a total of 309 filamentous fungi from the 11 Collins Glacier retreated soil samples (collected at 0 to 800 m from the glacier). Filamentous fungi were able to develop at both temperatures applied (5 and 15 °C). The higher number of isolates retrieved from the soil samples at 15 °C possibly resulted from temperature fluctuations in ice-free microhabitats and the higher temperatures observed in maritime Antarctica in relation to the continent [37]. Even though most fungi were retrieved in PDA, MA2%, and BSA media, 19% of the fungi were isolated

in PDA10X diluted medium. Interestingly, the representative of the genus *Thelebolus* was recovered only in the diluted medium.

Most of the filamentous fungi identified in this study belong to the phylum Ascomycota. Studies based on culture-dependent and independent approaches have reported the prevalence of Ascomycota in marine and terrestrial Antarctic environments [38-42]. The exclusive use of culture-based fungal detection methods can limit knowledge about fungal diversity. These techniques influence fungal abundance measurements since some species readily grow on culture media to present high rates of sporulation. In this sense, some very slow growing psychrophilic fungi could be missed [38]. Additionally, many species of “unculturable” fungi are only detected using molecular techniques [42]. However, previous research on soils from Antarctica using culture-based methods and molecular techniques revealed that approximately 2/3 of total taxa could be detected using culturing-based investigations [38].

Our results highlight the dominance of the genera *Pseudogymnoascus* (Ascomycota), *Mortierella* (Mortierellomycota), and *Pseudeutorium* (Ascomycota). Since having been found in almost the entire chronosequence of glacier retreat from soil freshly exposed to the oldest site, *Pseudogymnoascus* and *Mortierella* probably present high adaptation to the Antarctic environment, which explains their predominance. The genus *Pseudogymnoascus* includes species distributed worldwide [43,44]. Representatives of this taxon are psychrophilic and able to grow at very low temperatures (down to $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) with occurrence reported for the soils of Arctic, alpine, and Antarctic regions [41,45,46]. Moreover, Arenz et al. [38] suggest that this genus is a prevalent taxon in Antarctica and generally has the ability to colonize and utilize different carbon sources, playing a role in decomposition and nutrient cycling in this environment. According to Lorch et al. [43], the diversity of *Pseudogymnoascus* must be higher than previously inferred based on traditional taxonomic methods. Some of the 200 isolates of *Pseudogymnoascus* obtained in this study could represent new species, therefore, further studies should be conducted to elucidate their taxonomic positions. Representatives of the cold-tolerant genus *Mortierella* were isolated at all sites from 3 to 800 m. These results corroborate the previous reports related to the prevalence of *Mortierella* in Antarctica [47–50]. Fungi belonging to this genus have been isolated from different substrates of Antarctica such as permafrost [51], macroalgal thalli [48], floating wood in seawater [52], mosses [53], rhizosphere of

Deschampsia antarctica, and *Colobanthus quitensis* [46,54], soil [55], and marine invertebrates [56]. Species representing the genus *Pseudeurotium* are endophytic and have a cosmopolitan distribution [57], in addition to having been reported to be associated with bat hibernacula [43,44,58,59]. Previous studies on fungi diversity in the Antarctic Peninsula reported the presence of representatives of *Pseudeurotium* in soil, wood, and sponges, in addition to marine and lake sediments [41,60,61]. The following less abundant Ascomycota fungi (<5.0%) found in this study have already been reported in Antarctic environments: *Tricladium*, *Oidiodendron*, *Herpotrichia*, *Acremonium*, *Penicillium*, *Talaromyces*, *Cladosporium*, *Sarcocladium*, and *Thelebolus* [41,46,62–68]. However, it is worth highlighting that according to the literature, representatives of *Passalora*, *Gibellulopsis*, and *Xylaria* had never been reported in this environment previously.

Filamentous fungi from the phylum Basidiomycota are decomposers and rarely found in Antarctica. Most of the fungi from this group reported in maritime and continental Antarctica are yeasts [41,46,60]. Fruiting of Basidiomycota (genera *Pholiota* and *Omphalina*) has been reported on Deception Island [69], probably introduced due to human activity. In this study, four isolates belonging to this phylum were found, representing two genera of the orders Agaricales (*Pholiota* and *Schizophyllum*) and Russulales. The literature presents only one report of *Schizophyllum commune* occurrence in the Antarctic environment [70]. The fungal isolates identified in this study belonging to the orders Helotiales and Russulales presented low identity with fungal sequences deposited in the GenBank database, suggesting that these isolates may represent new species or even genera. However, to confirm this possibility, further molecular and conventional taxonomic experiments should be carried out.

Even though anthropogenic influence on the abundance and diversity of fungal species at low temperatures is still scarce [65], some studies have indicated that anthropogenic action in the polar region can change the fungal species composition and lead to the propagation of eurytopic species at low temperature [71] including opportunistic pathogens and degraders [72]. In addition, many fungi associated with points near the glacier were mostly saprophytic, and the most distant points showed dominance of cosmopolitan fungi. These data corroborate with Dresch et al. [73], who found that many fungal taxa might present an alternative saprobial lifestyle in snow-covered areas.

The fungi found throughout the Collins Glacier retreated soils are cosmopolitan. According to Cox et al. [74], endemic and cosmopolitan fungi may have different dispersal strategies and degrees of adaptations to the extreme environment of these soils. Distribution patterns of microbes can influence their abundance in communities. In this study, *Xylaria*, *Sarocladium*, *Acremonium*, and *Gibellulopsis* (representing the Sordiomycetes class) were recovered from newly exposed soil samples (up to 150 m from the retreating glacier). This result indicates the impermanence of these genera during the primary succession over the years. Species belonging to these genera are known as saprotrophs and pathogens of a number of plants [75].

Data from sequence and phylogenetic analyses revealed fungal communities in different developing soils formed after the retreat of the Collins Glacier. At the points where the soil was freshly exposed and moist due to water flowing from the glacier (near the glacier), the number of taxa varied from four to seven. Snow cover is an excellent thermal insulator and could enable and promote the growth of active soil microbiota. Disregarding the 150 m point, with 12 taxa, the successive sampling points showed a decrease in the number of taxa ($n = 3$ to 5). At 800 m, where the sample was centuries old, only three taxa were recovered.

Our results indicate that the distance from the glacier is associated with a change in fungal communities (Table 2) with a lower number of species (S) and isolates (N) as well as lower diversity (based on Shannon and Simpson). Such reduced diversity probably results from the dominance of stronger organisms and the selection pressure exerted by higher temperature, altered soil composition, and extreme conditions of the Antarctic environment. According to Trowbridge and Jumpponen [76], successional age is one of the main factors that defines fungal communities and selects the members to establish and survive successfully.

Several atmospheric variables and soil characteristics modified by the weathering process over the years are capable of modifying the community of microorganisms present in these environments. The GLM analysis performed in this study found P and clay to be decisive for the differences in fungal communities. Pearson's correlation showed a moderate correlation between the indices of wealth and diversity and some environmental variables such as T (°C), organic matter, P, Ca, Fe, Mn, and silt. By applying a structural equation model (SEM), Siciliano et al. [77] verified the effect of the soil nutrients set, in addition to pH, on fungi structure in glacial soil. Canini et al. [42] reported the effects of Ca, Mg, K, pH, silt and clay on the

abundance of certain fungi groups in Antarctica soil. Our results did not indicate any influence of pH on fungal community, possibly because this variable does not vary very much between samples (5.6 to 6.1).

Our results revealed important characteristics of the distribution of the cultured fungal community in soils of the retreated Collins Glacier. This habitat shelters a cultivable fungal community with low diversity and richness, mainly represented by Ascomycota and cosmopolitan fungi. Such a low abundance of species may explain the absence of patterns related to environmental characteristics. The genera *Pseudogymnoascus* and *Pseudeutorium* responded to environmental variations corresponding to distance from the glacier, phosphorus, and clay.

The low diversity of the Antarctic ecosystem is a consequence of its extreme conditions, especially low temperatures and water availability [78], which complies with data globally reported for fungi indicating lower richness from the mid-latitudes to the poles [79,80]. In addition to these adversities, other variables including competition between species can shape the microbial community. Our findings highlight the importance of studies on fungal communities in extreme environments, especially in areas that are more susceptible to impacts of global warming.

Author Contributions: J.A.d.S: All the experimental and Writing (original draft preparation); E.M: Statistical analysis and Reviewing; L.D.S: Conceptualization, Supervision, Reviewing, Editing, and Funding acquisition. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo* (FAPESP) (grants #2013/19486-0 and #2016/07957-7) and *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq) (grant #407986/2018-6). The APC was funded by FAPESP (grant #2015/25170-1).

Acknowledgments: J.A.d.S. would like to thank *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES) and FAPESP (#2015/25170-1) for granting her with PhD scholarships. L.D.S. would like to thank CNPq for the Productivity Fellowships (#303218/2019-3). The authors would like to thank the MICROSFERA project (PROANTAR/CNPq) for their support with sample collection.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. McClintock, J.; Ducklow, H.; Fraser, W. Ecological responses to climate change on the Antarctic Peninsula. *Am. Sci.* 2008, 4, 302–310.
2. Turner, J.; Barrand, N.E.; Bracegirdle, T.J.; Convey, P.; Hodgson, D.; Jarvis, M.; Jenkins, A.; Marshall, G.; Meredith, M.P.; Roscoe, H.; et al. Antarctic climate change and the environment: An update. *Polar Rec.* 2014, 50, 237–259.
3. Bromwich, D.H.; Nicolas, J.P.; Monaghan, A.J.; Lazzara, M.A.; Keller, L.M.; Weidner, G.A.; Wilson, A.B. Central West Antarctica among the most rapidly warming regions on Earth. *Nat. Geosci.* 2013, 6, 139–145.
4. Nicolas, J.P.; Bromwich, D.H. New reconstruction of Antarctic near-surface temperatures: Multidecadal trends and reliability of global reanalyses. *J. Clim.* 2014, 21, 8070–8093.
5. Rückamp, M.; Braun, M.; Suckro, S.; Blindow, N. Observed glacial changes on the King George Island ice cap, Antarctica, in the last decade. *Glob. Planet. Chang.* 2011, 79, 99–109.
6. Meredith, M.P.; King, J.C. Rapid climate change in the ocean west of the Antarctic Peninsula during the second half of the 20th century. *Geophys. Res. Lett.* 2005, 32, 1–5.
7. Simões, C.L.; Rosa, K.K.D.; Czapela, F.F.; Vieira, R.; Simões, J.C. Collins Glacier retreat process and regional climatic variations, King George Island, Antarctica. *Geogr. Rev.* 2015, 105, 462–471.
8. Hall, B.L. Late-Holocene advance of the Collins Ice Cap, King George Island, South Shetland Islands. *Holocene* 2007, 17, 1253–1258.
9. Lee, J.R.; Raymond, B.; Bracegirdle, T.J.; Chades, I.; Fuller, R.A.; Shaw, J.D.; Terauds, A. Climate change drives expansion of Antarctic ice-free habitat. *Nature* 2017, 547, 49–54.
10. Duffy, G.A.; Coetsee, B.W.; Latombe, G.; Akerman, A.H.; McGeoch, M.A.; Chown, S.L. Barriers to globally invasive species are weakening across the Antarctic. *Divers. Distrib.* 2017, 23, 982–996.
11. Pertierra, L.R.; Aragón, P.; Shaw, J.D.; Bergstrom, D.M.; Terauds, A.; Olalla-Tárraga, M.Á. Global thermal niche models of two European grasses show high invasion risks in Antarctica. *Glob. Chang. Biol.* 2017, 23, 2863–2873.
12. Gunde-Cimerman, N.; Sonjak, S.; Zalar, P.; Frisvad, J.C.; Diderichsen, B.; Plemenitaš, A. Extremophilic fungi in arctic ice: A relationship between adaptation to low temperature and water activity. *Phys. Chem. Earth Parts A/B/C* 2003, 28, 1273–1278.
13. Abyzov, S.S. Microorganisms in the Antarctic ice. *Antarct. Microbiol.* 1993, 1, 265–296.
14. Brown, S.P.; Jumpponen, A. Contrasting primary successional trajectories of fungi and bacteria in retreating glacier soils. *Mol. Ecol.* 2014, 23, 481–497.
15. Dini-Andreote, F.; Stegen, J.C.; van Elsas, J.D.; Salles, J.F. Disentangling mechanisms that mediate the balance between stochastic and deterministic processes in microbial succession. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2015, 112, 1326–1332.
16. Freedman, Z.; Zak, D.R. Soil bacterial communities are shaped by temporal and environmental filtering: Evidence from a long-term chronosequence. *Env. Microbiol.* 2015, 17, 3208–3218.
17. Davey, M.; Blaailid, R.; Vik, U.; Carlsen, T.; Kauserud, H.; Eidesen, P.B. Primary succession of *Bistorta vivipara* (L.) Delabre (Polygonaceae) root-associated fungi mirrors plant succession in two glacial chronosequences. *Env. Microb.* 2015, 17, 2777–2790.

18. Blaaliid, R.; Carlsen, T.; Kumar, S.; Halvorsen, R.; Ugland, K.I.; Fontana, G.; Kauserud, H. Changes in the root-associated fungal communities along a primary successional gradient analysed by 454 pyrosequencing. *Mol. Ecol.* 2012, 21, 1897–1908.
19. Mühlmann, O.; Peintner, U. Ectomycorrhiza of *Kobresia myosuroides* at a primary successional glacier forefront. *Mycorrhiza* 2008, 18, 355–362.
20. Newsham, K.K.; Hopkins, D.W.; Carvalhais, L.C.; Fretwell, P.T.; Rushton, S.P.; O'Donnel, A. G.; Dennis, P.G. Relationship between soil fungal diversity and temperature in the maritime Antarctic. *Nat. Clim. Chang.* 2016, 6, 182–186.
21. Cavicchioli, R. Microbial ecology of Antarctic aquatic systems. *Nat. Rev. Microbiol.* 2015, 13, 691–706.
22. Yergeau, E.; Bokhorst, S.; Kang, S.; Zhou, J.; Greer, C.W.; Aerts, R.; Kowalchuk, G.A. Shifts in soil microorganisms in response to warming are consistent across a range of Antarctic environments. *The ISME J.* 2012, 6, 692–702.
23. Dane, J.H.; Hopmans, J.W. Pressure plate extractor. In *Methods of Soil Analysis. Physical Methods*. Madison, Soil Science Society of America Part 4, SSSA Book Series. 5 SSSA, Madison, WI (2002), pp. 643-670.
24. Van Raij, B.; Andrade, J.C.; Cantarella, H., Quaggio, J.A. *Análise Química para Avaliação da Fertilidade de Solos Tropicais*. Fundação Cargill 2001, 285.
25. Lacerda, L.T.; Gusmão, L.F.P.; Rodrigues, A. Diversity of endophytic fungi in *Eucalyptus microcorys* assessed by complementary isolation methods. *Mycol. Prog.* 2018, 17, 1–9.
26. White, T.J.; Burns, T.; Lee, S.; Taylor, J. PCR Protocols: A guide to method and applications. In *Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal rRNA Genes for Phylogenetics*; Innis M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J., Eds.; Academic Press: San Diego, CA, USA, 1990; Volume 18, pp. 315–352.
27. Hall, T.A. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nuclei. Acids Symp. Ser.* 1999, 41, 95–98.
28. Katoh, K.; Standley, D.M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. *Mol. Biol. Evol.* 2013, 30, 772–780.
29. Castresana, J. Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Mol. Biol. Evol.* 2000, 17, 540–552.
30. Darriba, D.; Taboada, G.L.; Doallo, R.; Posada, D. ModelTest 2: More models, new heuristics and parallel computing. *Nat. Methods* 2012, 9, 772–772.
31. Ronquist, F.; Huelsenbeck, J.P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 2003, 19, 1572–1574.
32. Huelsenbeck, J.P.; Ronquist, F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 2001, 17, 754–755.
33. Schober, P.; Boer, C.; Schwarte, L.A. Correlation coefficients: Appropriate use and interpretation. *Anesth. Analg.* 2018, 126, 1763–1768.
34. Clarke, K.R. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Aust. J. Ecol.* 1993, 18, 117–143.
35. Edwards, A.; Irvine-Fynn, T.; Mitchell, A.C.; Rassner, S.M.E. A germ theory for glacial systems? *Wiley Interdiscip. Rev. Water* 2014, 1, 331–340.

36. Bradley, J.A.; Singarayer, J.S.; Anesio, A.M. Microbial Community dynamics in the forefield of glaciers. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 2014, 281, 20140882.
37. Ruisi, S.; Barreca, D.; Selbmann, L.; Zucconi, L.; Onofri, S. Fungi in Antarctica. *Rev. Env. Sci. Biotechnol.* 2007, 6, 127–141.
38. Arenz, B.E.; Held, B.W.; Jurgens, J.A.; Farrell, R.L.; Blanchette, R.A. Fungal diversity in soils and historic wood from the Ross Sea Region of Antarctica. *Soil Biol. Biochem.* 2006, 38, 3057–3064.
39. Dreesens, L.; Lee, C.; CARY, S. The distribution and identity of edaphic fungi in the McMurdo Dry Valleys. *Biology* 2014, 3, 466–483.
40. Pudasaini, S.; Wilson, J.; Ji, M.; van Dorst, J.; Snape, I.; Palmer, A.S.; Burns, B.P.; Ferrari, B.C. Microbial diversity of brownning peninsula, Eastern Antarctica revealed using molecular and cultivation methods. *Front. Microbiol.* 2017, 8, 591.
41. Duarte, A.W.F.; Barato, M.B.; Nobre, F.S.; Polezel, D.A.; de Oliveira, T.B.; dos Santos, J.A.; Rodrigues, A.; Sette, L.D. Production of cold-adapted enzymes by filamentous fungi from King George Island, Antarctica. *Polar Biol.* 2018, 41, 2511–2521.
42. Canini, F.; Geml, J.; D'Acqui, L.P.; Selbmann, L.; Onofri, S.; Ventura, S.; Zucconi, L. Exchangeable cations and pH drive diversity and functionality of fungal communities in biological soil crusts from coastal sites of Victoria Land, Antarctica. *Fungal Ecol.* 2020, 45, 1–11.
43. Lorch, J.M.; Lindner, D.L.; Gargas, A.; Muller, L.K.; Minnis, A.M.; Blehert, D.S. A culture based survey of fungi in soil from bat hibernacula in the eastern United States and its implications for detection of *Geomyces destructans*, the causal agent of bat white-nose syndrome. *Mycologia* 2013, 105, 237–252.
44. Minnis, A.M.; Lindner, D.L. Phylogenetic evaluation of *Geomyces* and allies reveals no close relatives of *Pseudogymnoascus destructans*, comb. nov., in bat hibernacula of eastern North America. *Fungal Biol.* 2013, 117, 638–649.
45. Kochkina, G.A.; Ivanushkina, N.E.; Akimov, V.N.; Gilichinskii, D.A.; Ozerskaya, S.M. Halo- and psychrotolerant *Geomyces* fungi from Arctic cryopegs and marine deposits. *Microbiology* 2007, 76, 31–38.
46. Wentzel, L.C.P.; Inforsato, F.J.; Montoya, Q.V.; Rossin, B.G.; Nascimento, N.R.; Rodrigues, A.; Sette, L.D. Fungi from admiralty bay (King George Island, Antarctica) soils and marine sediments. *Microb. Ecol.* 2019, 77, 12–24.
47. Tosi, S.; Casado, B.; Gerdol, R.; Caretta, G. Fungi isolated from antarctic mosses. *Polar Biol.* 2002, 25, 262–268.
48. Godinho, V.M.; Furbino, L.E.; Santiago, I.F.; Pellizzari, F.M.; Yokoya, N.S.; Pupo, D.; Alves, T.M.A.; Junior, P.A.S.; Romanha, A.J.; Zani, C.L.; et al. Diversity and bioprospecting of fungal communities associated with endemic and cold-adapted macroalgae in Antarctica. *ISME J.* 2013, 7, 1434–1451.
49. Zhang, X.; Zhang, Y.; Xu, X.; Qi, S. Diverse deep-sea fungi from the South China Sea and their antimicrobial activity. *Curr. Microbiol.* 2013, 67, 525–530.
50. Furbino, L.E.; Godinho, V.M.; Santiago, I.F.; Pellizzari, F.M.; Alves, T.M.A.; Zani, C.L.; Junior, P.A.S.; Romanha, A.J.; Carvalho, A.G.O.; Gil, L.H.V.G.; et al. Diversity patterns, ecology and biological activities of fungal communities associated with the endemic macroalgae across the Antarctic Peninsula. *Microb. Ecol.* 2014, 67, 775–787.

51. Gilichinsky, D.A.; Wilson, G.S.; Friedmann, E.I.; McKay, C.P.; Sletten, R.S.; Rivkina, E.M.; Vishnivetskaya, T.A.; Erokhina, L.G.; Ivanushkina, N.E.; Kochkina, G.A.; et al. Microbial populations in Antarctic permafrost: Biodiversity, state, age, and implication for astrobiology. *Astrobiology* 2007, 7, 275–311.
52. Edgington, S.; Thompson, E.; Moore, D.; Hughes, K.A.; Bridge, P. Investigating the insecticidal potential of *Geomyces* (Myxotrichaceae: Helotiales) and *Mortierella* (Mortierellaceae: Mortierellales) isolated from Antarctica. *SpringerPlus* 2014, 3, 289.
53. Melo, I.S.; Santos, S.N.; Rosa, L.H.; Parma, M.M.; Silva, L.J.; Queiroz, S.C.; Pellizari, V.H. Isolation and biological activities of an endophytic *Mortierella alpina* strain from the Antarctic moss *Schistidium antarctici*. *Extremophiles* 2014, 18, 15–23.
54. Gonçalves, V.N.; Carvalho, C.R.; Johann, S.; Mendes, G.; Alves, T.M.A.; Zani, C.L.; Junior, P.A.S.; Murta, S.M.F.; Romanha, A.J.; Cantrell, C.L.; et al. Antibacterial, antifungal and antiprotozoal activities of fungal communities present in different substrates from Antarctica. *Polar Biol.* 2015, 38, 1143–1152.
55. Newsham, K.K.; Garnett, M.H.; Robinson, C.H.; Cox, F. Discrete taxa of saprotrophic fungi respire different ages of carbon from Antarctic soils. *Sci. Rep.* 2018, 8, 1–10.
56. Godinho, V.M.; de Paula, M.T.R.; Silva, D.A.S.; Paresque, K.; Martins, A.P.; Colepicolo, P.; Rosa, C.A.; Rosa, L.H. Diversity and distribution of hidden cultivable fungi associated with marine animals of Antarctica. *Fungal Biol.* 2019, 123, 507–516.
57. Adhikari, M.; Kim, S.; Yadav, D.R.; Um, Y.H.; Kim, H.S.; Lee, H.B.; Lee, Y.S. A New Record of *Pseudeurotium bakeri* from Crop Field Soil in Korea. *Korean J. Mycol.* 2016, 44, 145–149.
58. Muller, L.K.; Lorch, J.M.; Lindner, D.L.; O'Connor, M.; Gargas, A.; Blehert, D.S. Bat white-nose syndrome: A real-time TaqMan polymerase chain reaction test targeting the intergenic spacer region of *Geomyces destructans*. *Mycologia* 2013, 105, 253–259.
59. Malloch, D.; Sigler, L.; Hambleton, S.; Vanderwolf, K.J.; Gibas, C.F.C.; McAlpine, D.F. Fungi associated with hibernating bats in New Brunswick caves: The genus *Leuconeurospora*. *Botany* 2016, 94, 1171–1181.
60. Arenz, B.E.; Blanchette, R.A. Investigations of fungal diversity in wooden structures and soils at historic sites on the Antarctic Peninsula. *Can. J. Microbiol.* 2009, 55, 46–56.
61. Ogaki, M.B.; Teixeira, D.R.; Vieira, R.; Lírio, J.M.; Felizardo, J.P.; Abuchacra, R.C.; Cardoso, R.P.; Zanif, C.L.; Alves, T.M.A.; Junior, P.A.S.; et al. Diversity and bioprospecting of cultivable fungal assemblages in sediments of lakes in the Antarctic Peninsula. *Fungal Biol.* 2020, 124, 601–611.
62. de Hoog, G.S.; Gottlich, E.; Platas, G.; Genilloud, O.; Leotta, G.; van Brummelen, J. Evolution, taxonomy and ecology of the genus *Thelebolus* in Antarctica. In *Fungi of the Antarctic, Studies in Mycology*, 2005. 51, 33- 76.
63. Marfenina, O.E.; Nikitin, D.A.; Ivanova, A.E. The structure of fungal biomass and diversity of cultivated micromycetes in Antarctic soils (progress and Russkaya Stations). *Eurasian Soil Sci.* 2016, 49, 934–941.
64. Santiago, I.F.; Alves, T.M.A.; Rabello, A.; Sales Junior, P.A.; Romanha, A.J.; Zani, C.L.; Rosa, C.A.; Rosa, L.H. Leishmanicidal and antitumoral activities of endophytic fungi associated with the Antarctic angiosperms *Deschampsia antarctica* Desv. and *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. *Extremophiles* 2012, 16, 95–103.
65. Kochkina, G.A.; Ivanushkina, N.E.; Lupachev, A.V.; Starodumova, I.P.; Vasilenko, O.V.; Ozerskaya, S.M. Diversity of mycelial fungi in natural and human-affected Antarctic soils. *Polar Biol.* 2019, 42, 47–64.

66. Ding, Z.; Li, L.; Che, Q.; Li, D.; Gu, Q.; Zhu, T. Richness and bioactivity of culturable soil fungi from the Fildes Peninsula, Antarctica. *Extremophiles* 2016, 20, 425–435.
67. Gonçalves, V.N.; Vaz, A.B.M.; Rosa, C.A.; Rosa, L.H. Diversity and distribution of fungal communities in lakes of Antarctica. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2012, 82, 459–471.
68. Alborés, S.; Sanguiniedo, P.; Held, B.H.; Cerdeiras, M.P.; Blanchette, R.A. Biodiversity and antimicrobial activity of Antarctic fungi from the Fildes Peninsula, King George Island. *Sydowia* 2018, 70, 185.
69. Singer, R. Fungi distribution. In *Terrestrial Life of Antarctica*; Bushnell, V.C. Ed.; American Geographical Society: New York, NY, USA, 1967; Volume 5.
70. Krishnan, A.; Convey, P.; Gonzalez-Rocha, G.; Alias, S.A. Production of extracellular hydrolase enzymes by fungi from King George Island. *Polar Biol.* 2016, 39, 65–76.
71. Kirtsideli, I.Y.; Abakumov, E.V.; Teshebaev, S.B.; Zelenskaya, M.S.; Vlasov, D.Y.; Krylenkov, V.A.; Ryabusheva, Y.V.; Sokolov, V.T.; Barantsevich, E.P. Microbial communities in regions of Arctic settlements. *Gig. I Sanit.* 2016, 95, 923–929.
72. Panin, A.L.; Sboychakov, V.B.; Belov, A.B.; Kraeva, L.A.; Vlasov, D.Y.; Goncharov, A.E. Natural and technogenic focality of infectious diseases in the territory of Antarctic settlements. *Biol. Bull. Rev.* 2016, 6, 320–332.
73. Dresch, P.; Falbesoner, J.; Ennemoser, C.; Hittorf, M.; Kuhnert, R.; Peintner, U. Emerging from the ice-fungal communities are diverse and dynamic in earliest soil developmental stages of a receding glacier. *Env. Microbiol.* 2019, 21, 1864–1880.
74. Cox, F.; Newsham, K.K.; Robinson, C.H. Endemic and cosmopolitan fungal taxa exhibit differential abundances in total and active communities of Antarctic soils. *Env. Microbiol.* 2019, 21, 1586–1596.
75. Giraldo, A.; Gené, J.; Sutton, D.A.; Madrid, H.; De Hoog, G.S.; Cano, J.; Guarro, J. Phylogeny of *Sarocladium* (Hypocreales). *Pers. Mol. Phylogeny Evol. Fungi* 2015, 34, 10.
76. Trowbridge, J.; Jumpponen, A. Fungal colonization of shrub willow roots at the forefront of a receding glacier. *Mycorrhiza* 2004, 14, 283–293.
77. Siciliano, S.D.; Palmer, A.S.; Winsley, T.; Lamb, E.; Bissett, A.; Brown, M.V.; van Dorst, J.; Ji, M.; Ferrari, B.C.; Grogan, P.; et al. Soil fertility is associated with fungal and bacterial richness, whereas pH is associated with community composition in polar soil microbial communities. *Soil Biol. Biochem.* 2014, 78, 10–20.
78. Green, T.G.A.; Broady, P.A. Biological soil crusts of Antarctica. In *Biological Soil Crusts: Structure, Function, and Management*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2001; pp. 133–139.
79. Tedersoo, L.; Bahram, M.; Põlme, S.; Kõljalg, U.; Yorou, N.S.; Wijesundera, R.; Ruiz, L.V.; Vasco-Palacios, A.M.; Thu, P.Q.; Suija, A.; et al. Global diversity and geography of soil fungi. *Science* 2014, 346, 1256688.
80. Bahram, M.; Hildebrand, F.; Forslund, S.K.; Anderson, J.L.; Soudzilovskaia, N.A.; Bodegom, P.M.; Bengtsson-Palme, J.; Anslan, S.; Coelho, L.P.; Harend, H.; et al. Structure and function of the global topsoil microbiome. *Nature* 2018, 560, 233–237.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table S1. Data for the soil samples collected at Collins Glacier (Fildes Peninsula, South Shetlands Archipelago, King George Island, Maritime Antarctica).

Site (meters)	Geographic coordinate	Average T (°C)
0	62° 09.821'S 58° 55.373'W	0.9
3	62° 09.821'S 58° 55.377'W	5.1
50	62° 09.821'S 58° 55.373'W	2.7
100	62° 09.804'S 58° 55.506'W	3.9
150	62° 09.794'S 58° 55.560'W	3.6
200	62° 09.790'S 58° 55.599'W	4.9
250	62° 09.782'S 58° 55.658'W	4.5
300	62° 09.776'S 58° 55.712'W	3.5
350	62° 09.766'S 58° 55.771'W	4.5
400	62° 09.753'S 58° 55.825'W	4.5
800	62° 09.674'S 58° 56.249'W	2.5

Table S2. Physicochemical parameters of the eleven soil samples collected at Collins Glacier (Fildes Peninsula, King George Island, Antarctica).

Sample (meters)	T°C	pH	Organic Matter (g.dm ⁻³)	P (mg.dm ⁻³)	K (mmolc.dm ⁻³)	Ca (mmolc.dm ⁻³)	Mg (mmolc.d m ⁻³)	Cu (mg.dm ⁻³)	Fe (mg.dm ⁻³)	Mn (mg.dm ⁻³)	Zn (mg.dm ⁻³)	Silt (g kg ⁻¹)	Clay (g kg ⁻¹)
0 m	0.9	6.1	5	369	11,9	197	101	4.1	67	38.7	0.4	162	52
3 m	5.1	6.1	5	320	9.9	236	110	4.2	64	12.8	0.3	129	52
50 m	2.7	6.1	6	340	7.9	210	125	4.6	45	10.3	0.2	102	82
100 m	3.9	6	4	269	6.7	153	136	2.8	67	4.4	0.4	236	52
150 m	3.6	5.8	7	277	9	170	92	3	66	5.3	0.5	307	78
200 m	4.9	5.7	5	230	7.2	139	103	3.3	54	6.6	0.5	338	156
250 m	4.5	6.1	8	313	8.4	245	98	3.1	35	6.8	0.4	415	78
300 m	3.5	5.7	9	270	6.6	119	81	4.5	77	4	0.6	345	131
350 m	4.5	5.6	5	262	14.8	277	87	2	53	2.3	0.3	181	78
400 m	4.5	5.6	6	257	16.2	470	78	1.6	39	1.7	0.2	125	77
800 m	2.5	5.7	17	274	16.2	266	72	2.2	73	1.5	0.3	174	77

Table S3. Taxonomic affiliation of the Antarctic fungi isolated from samples collected at Collins Glacier (Fildes Peninsula, King George Island, Antarctica).

Fungal identification	BLAST	Accession Number	ID (%)	N° of isolates
<i>Oidiodendron</i> sp.	<i>Oidiodendron truncatum</i> UAMH 1399	NR111036	99	11
<i>Herpotrichia</i> sp.	<i>Herpotrichia juniperi</i> TR_CI_4 18S	HM853976	98	7
<i>Passalora</i> sp.	<i>Passalora loranthi</i> C8a8	JX436780	100	1
<i>Pseudeurotium</i> sp1	<i>Pseudeurotium ovale</i> CBS 389.54	NR145346	98	7
<i>Pseudeurotium</i> sp2	<i>Pseudeurotium hygrophilum</i>	NR111128	99	15
<i>Acremonium</i> sp.	<i>Acremonium cereale</i> IHBF 2215	MF326602	99	5
<i>Sarocladium</i> sp.	<i>Sarocladium implicatum</i> CBS 397.70A	MH859761	98	3
<i>Thelebolus</i> sp.	<i>Thelebolus microsporus</i> Ant170	MG586989	100	1
<i>Xylaria</i> sp.	<i>Xylaria multiplex</i> 1005	KP133436	99	1
<i>Pholiota</i> sp.	<i>Pholiota baeosperma</i> TFB8315	KY559332	99	2
<i>Helotiales</i> sp.	<i>Helotiales</i> sp. UFMGCB 12371	MK889360	99	14
<i>Schizophyllum</i> sp.	<i>Schizophyllum commune</i> CBS 579.83	MH861655	99	1
<i>Gibellulopsis</i> sp.	<i>Gibellulo psispiscis</i> CBS 892.70	NR_145354	99	1
<i>Mortierella</i> sp1	<i>Mortierella gamsii</i> CBS 749.68	NR_152954	99	3
<i>Mortierella</i> sp2	<i>Mortierella hyalina</i> CBS 223.35	NR16354	100	2
<i>Mortierella</i> sp3	<i>Mortierella antarctica</i> CBS 609.70	NR111580	99	8
<i>Mortierella</i> sp4	<i>Mortierella elongatula</i> CBS 488.70	NR111582	95	9
<i>Tricladium</i> sp.	<i>Tricladium minutum</i>	JQ412863	95	6
<i>Cladosporium</i> sp1	<i>Cladosporium xantochromaticum</i> CPC11609	EF679356	100	2
<i>Cladosporium</i> sp2	<i>Cladosporium halotolerans</i> CBS 130257	MH865505	100	1
<i>Talaromyces</i> sp.	<i>Talaromyces funiculosus</i> CBS 126817	MH864243	100	3
<i>Penicillium</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp. MCCC001	MN481191	100	5
<i>Pseudogymnoascus</i> sp1	<i>Pseudogymnoascus verrucosus</i> UAMH 10580	DQ117441	99	2
<i>Pseudogymnoascus</i> sp2	<i>Pseudogymnoascus pannorum</i> CBS 127774	MH864770	99	4
<i>Pseudogymnoascus</i> sp3	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. LW65	MH128228	99	84
<i>Pseudogymnoascus</i> sp4	<i>Pseudogymnoascus pannorum</i> UAMH 1030	DQ117436	99	1
<i>Pseudogymnoascus</i> sp5	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. CCMGE55	MH790447	99	109
Total				309

Table S4. Number of filamentous fungi isolated per taxa from the Collins Glacier retreated soil samples, using different culture media and two temperature of the incubation.

	5°C				15°C			
	PDA	PDA10X	MA	BSA	PDA	PDA10X	MA	BSA
<i>Ascomycota</i>								
<i>Pseudogymnoascus</i>	24	14	21	15	30	34	33	29
<i>Pseudeutorium</i>	3	1	3	4	1	1	8	1
<i>Tricladium</i>	2	-	1	-	-	-	3	-
<i>Oidiodendron</i>	1	1	-	1	2	3	-	3
<i>Herpotrichia</i>	2	-	2	-	2	-	1	-
<i>Acremonium</i>	3	-	-	-	1	-	-	-
<i>Penicillium</i>	-	1	1	1	2	-	-	-
<i>Talaromyces</i>	-	-	-	-	1	-	-	2
<i>Cladosporium</i>	-	-	-	1	1	-	-	1
<i>Sarcocladium</i>	1	-	-	-	1	-	-	1
<i>Passalora</i>	-	-	-	1	-	-	-	-
<i>Thelebolus</i>	-	-	-	-	-	-	1	-
<i>Xylaria</i>	-	-	-	-	-	-	1	-
<i>Gibellulopsis</i>	-	-	-	-	1	-	-	-
<i>Helotiales</i>	4	1	1	2	1	2	-	3
<i>Basidiomycota</i>								
<i>Schizophyllum</i>	-	-	-	-	1	-	-	-
<i>Pholiota</i>	-	-	-	2	-	-	-	-
<i>Russulales</i>	-	-	-	-	1	-	-	-
<i>Mortierellomycota</i>								
<i>Mortierella</i>	1	-	3	-	10	3	4	1
Total	41	18	32	28	55	44	50	41
	119				190			

Table S5. Taxonomic affiliations of the filamentous fungi isolated from the Collins Glacier retreated soil samples

TAXON	Distance from glacier (m)											Total	FR (%) ¹
	0	3	50	100	150	200	250	300	350	400	800		
Ascomycota													
<i>Pseudogymnoascus</i> sp1	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	2	0.65
<i>Pseudogymnoascus</i> sp2	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	1.29
<i>Pseudogymnoascus</i> sp3	24	23	9	9	6	6	2	-	-	-	5	84	27.18
<i>Pseudogymnoascus</i> sp4	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0.32
<i>Pseudogymnoascus</i> sp5	5	1	-	2	24	12	10	18	10	8	19	109	35.28
<i>Pseudeutorium</i> sp1	5	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	7	2.27
<i>Pseudeutorium</i> sp2	10	2	-	1	-	-	1	-	-	-	1	15	4.85
<i>Tricladium</i>	4	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	1.94
<i>Oidiodendron</i>	-	-	-	-	1	8	-	-	-	2	-	11	3.56
<i>Herpotrichia</i>	-	-	-	-	5	-	-	-	2	-	-	7	2.27
<i>Acremonium</i>	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	1.62
<i>Penicillium</i>	2	-	-	-	1	-	-	-	1	1	-	5	1.62
<i>Talaromyces</i>	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	3	0.97
<i>Cladosporium</i> sp1	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	2	0.65
<i>Cladosporium</i> sp2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0.32
<i>Sarocladium</i>	-	1	-	-	2	-	-	-	-	-	-	3	0.97
<i>Passalora</i>	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	0.32
<i>Thelebolus</i>	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0.32
<i>Xylaria</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	0.32
<i>Gibellulopsis</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	0.32
Helotiales	6	6	-	-	-	1	-	1	-	-	-	14	4.53
Basidiomycota													
<i>Schizophyllum</i>	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	0.32
<i>Pholiota</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	2	0.65
Russulales	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	0.32
Mortierellomycota													
<i>Mortierella</i> sp1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	2	-	3	0.97
<i>Mortierella</i> sp2	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	2	0.65
<i>Mortierella</i> sp3	-	-	2	-	-	-	2	3	-	-	1	8	2.59
<i>Mortierella</i> sp4	-	-	-	1	-	2	2	-	2	2	-	9	2.91
Total	61	41	15	16	55	29	15	22	14	18	23	309	100

¹ FR (%) = Relative frequency of isolate.

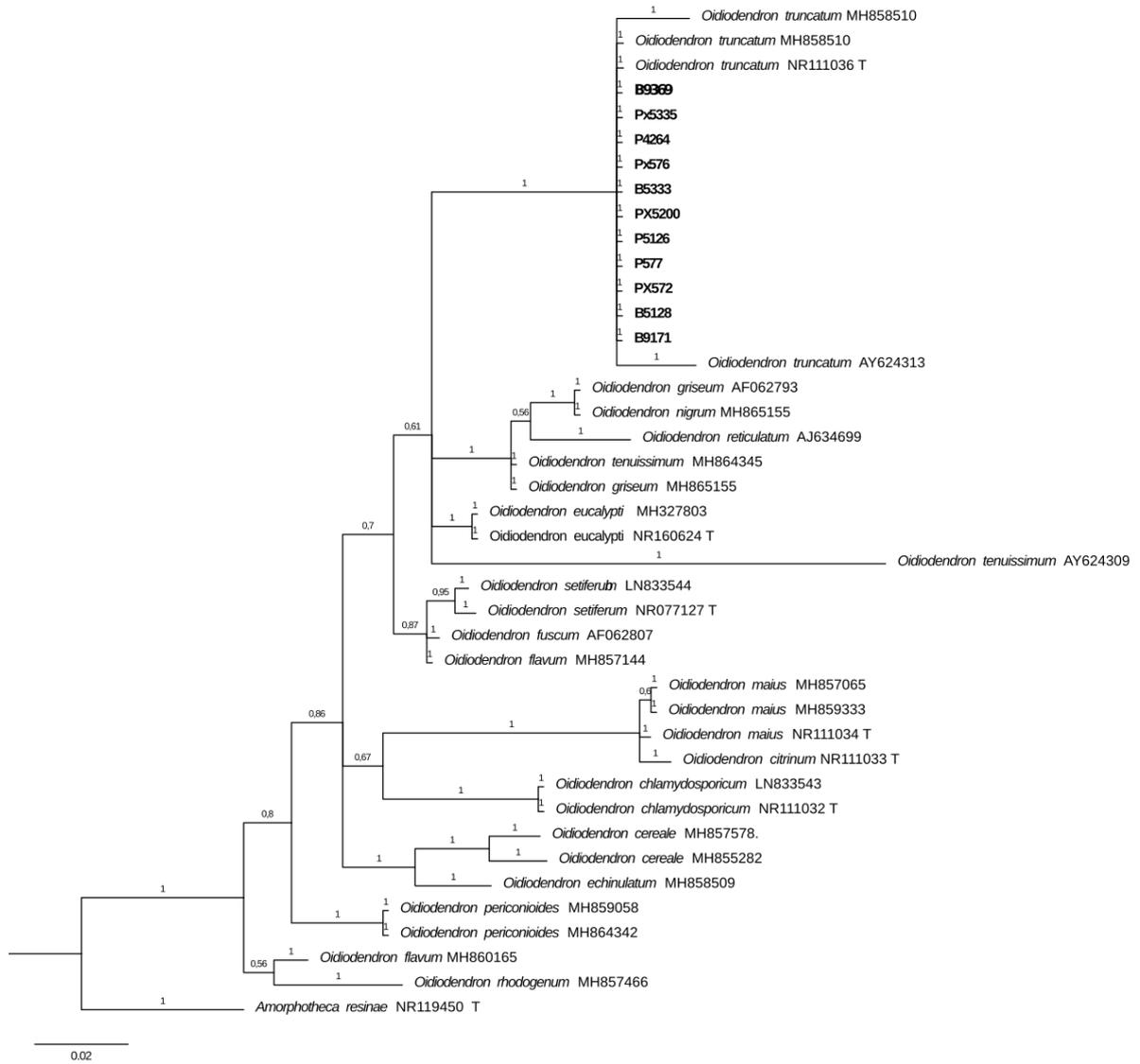


Figure S1. Phylogenetic analysis of *Oidiiodendron* species isolated in this study, with sequences of the closest species deposited in GenBank. The tree was built based on the ITS region sequences using Bayesian Inference.

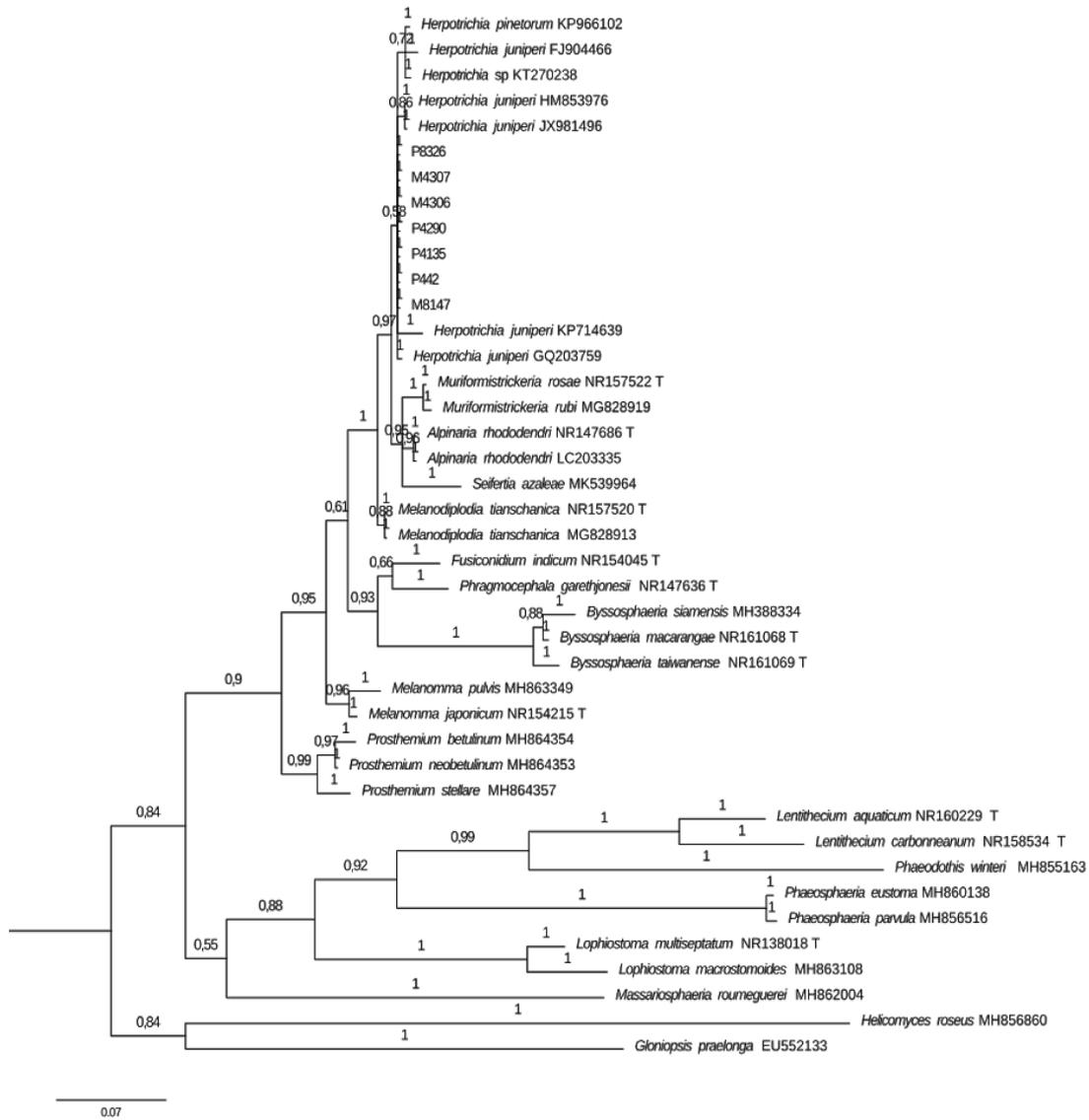


Figure S2. Phylogenetic analysis of *Herpotrichia* species isolated in this study, with sequences of the closest species deposited in GenBank. The tree was built based on the ITS region sequences using Bayesian Inference.

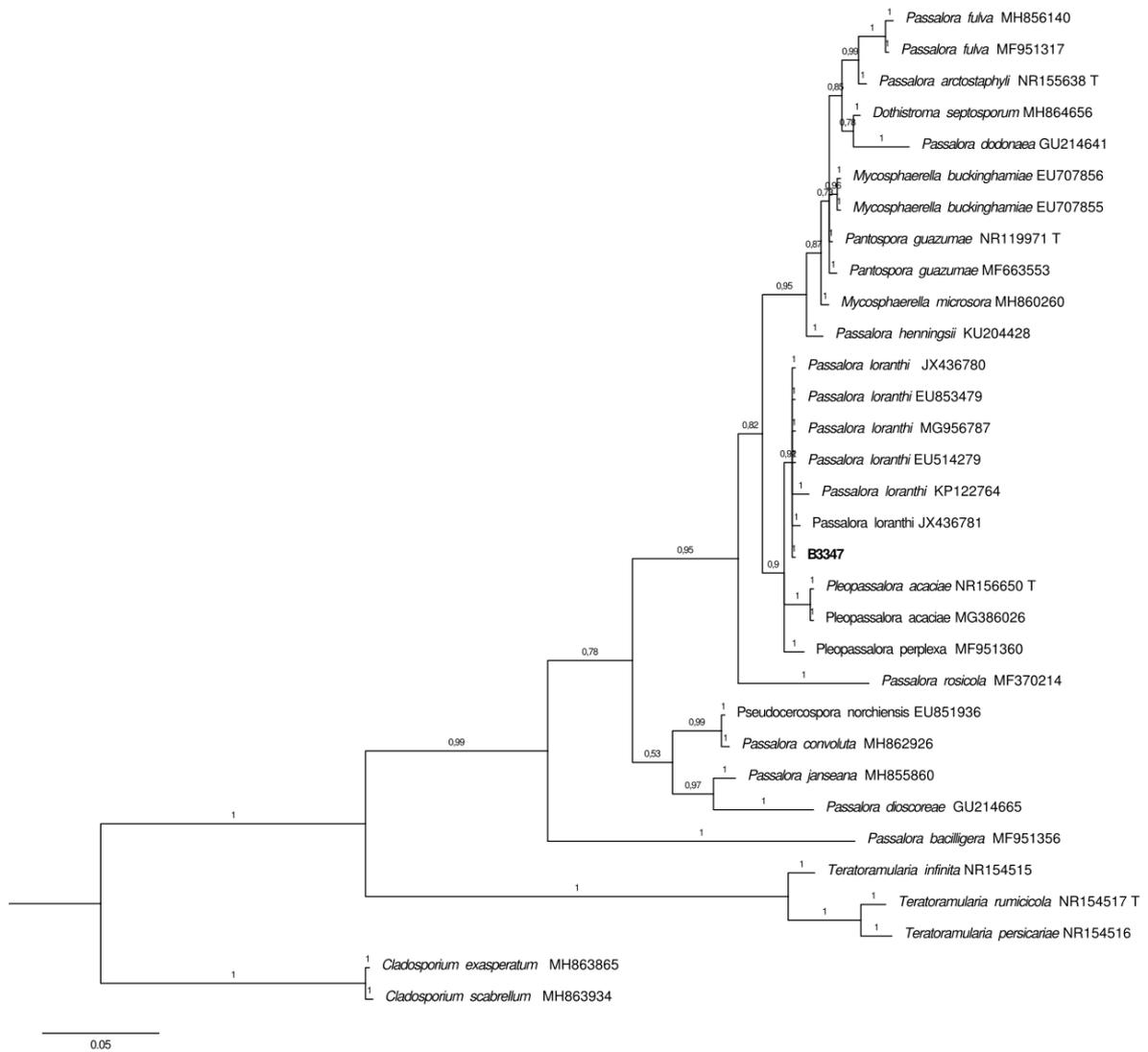


Figure S3. Phylogenetic analysis of *Passalora* species isolated in this study, with sequences of the closest species deposited in GenBank. The tree was built based on the ITS region sequences using Bayesian Inference.

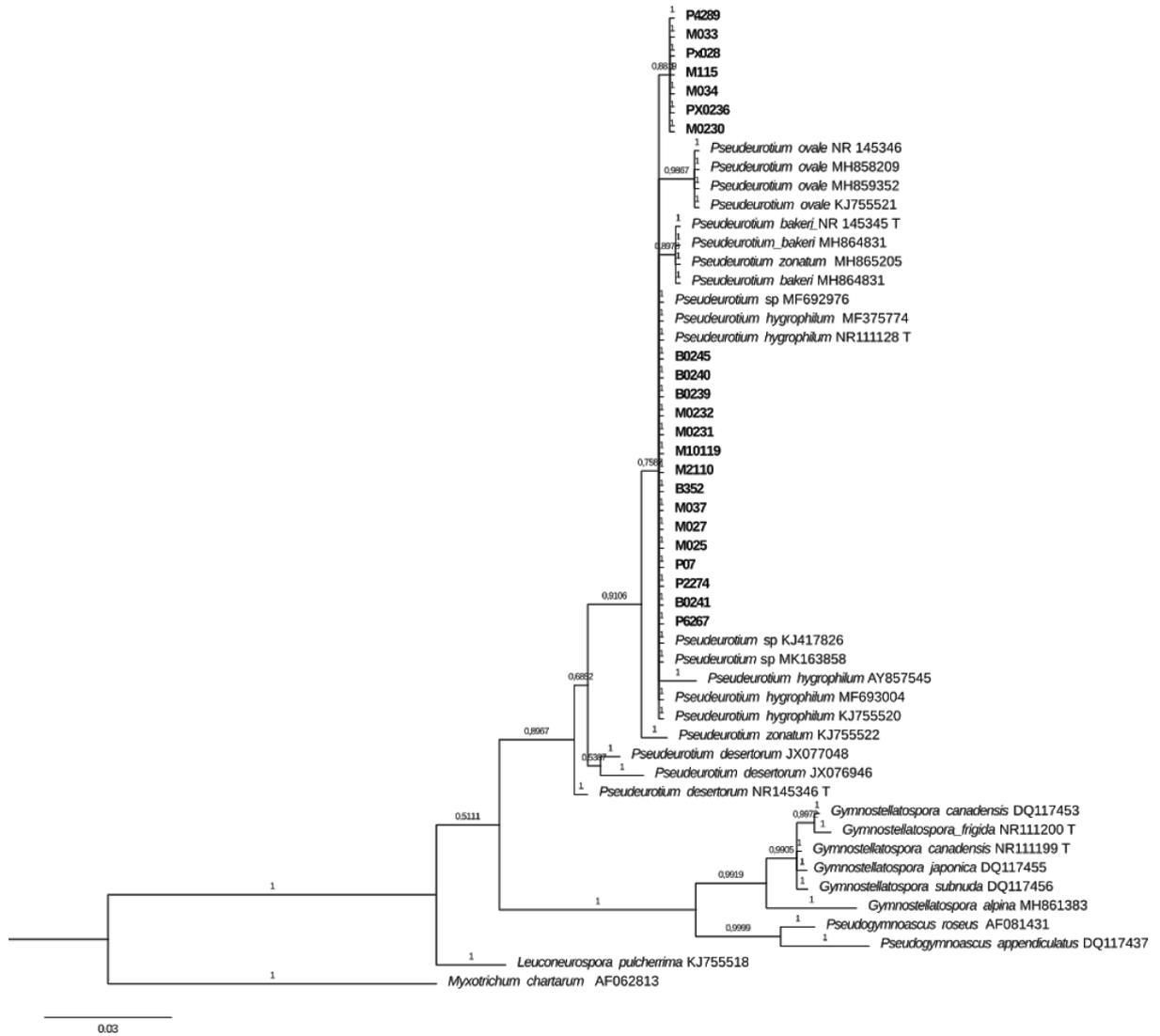


Figure S4. Phylogenetic analysis of *Pseudeurotium* species isolated in this study, with sequences of the closest species deposited in GenBank. The tree was built based on the ITS region sequences using Bayesian Inference.



Figure S5. Phylogenetic analysis of *Sarocladium* and *Acremonium* species isolated in this study, with sequences of the closest species deposited in GenBank. The tree was built based on the ITS region sequences using Bayesian Inference.

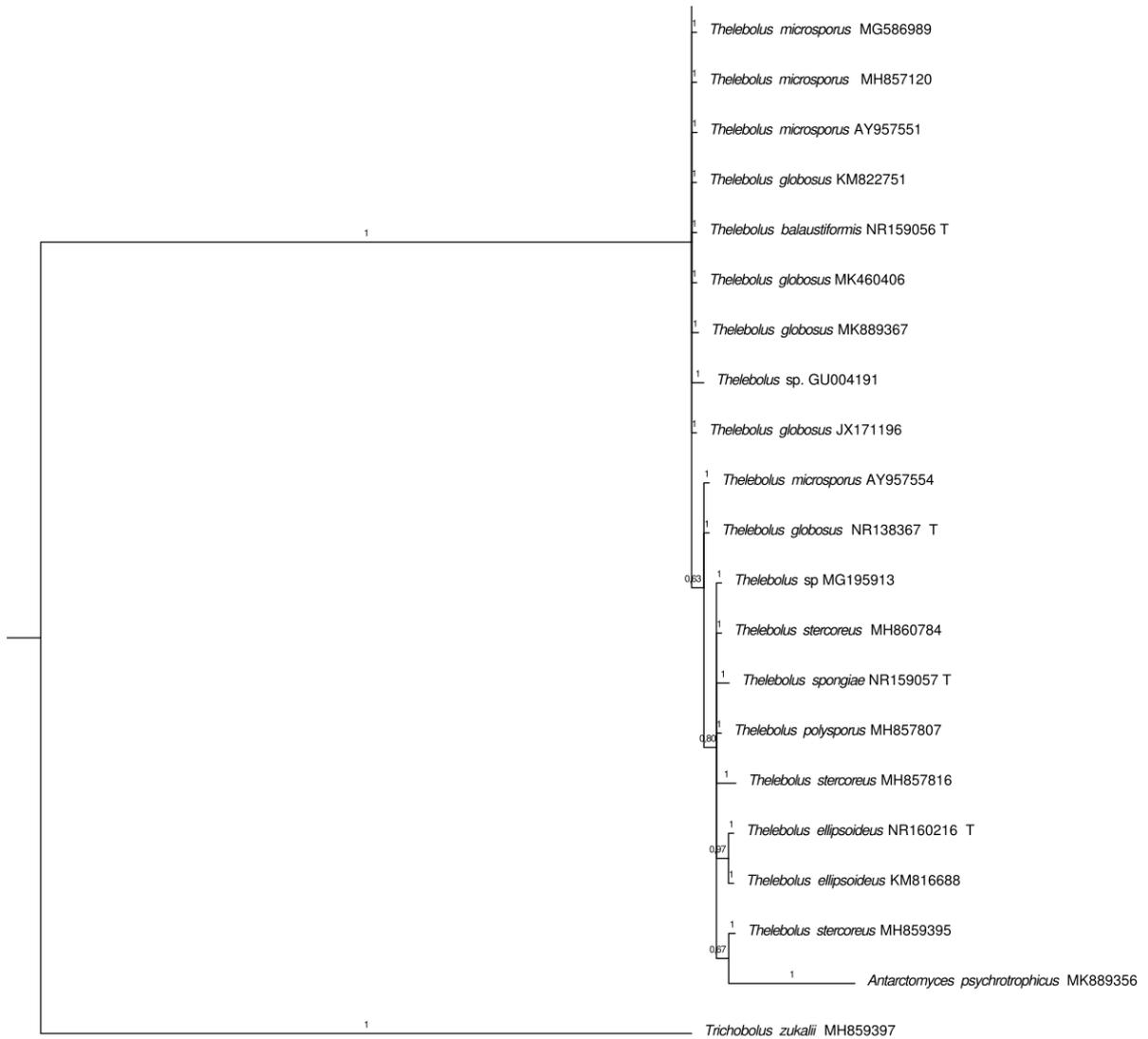


Figure S6. Phylogenetic analysis of *Thelebolus* specie isolated in this study, with sequences of the closest species deposited in GenBank. The tree was built based on the ITS region sequences using Bayesian Inference.

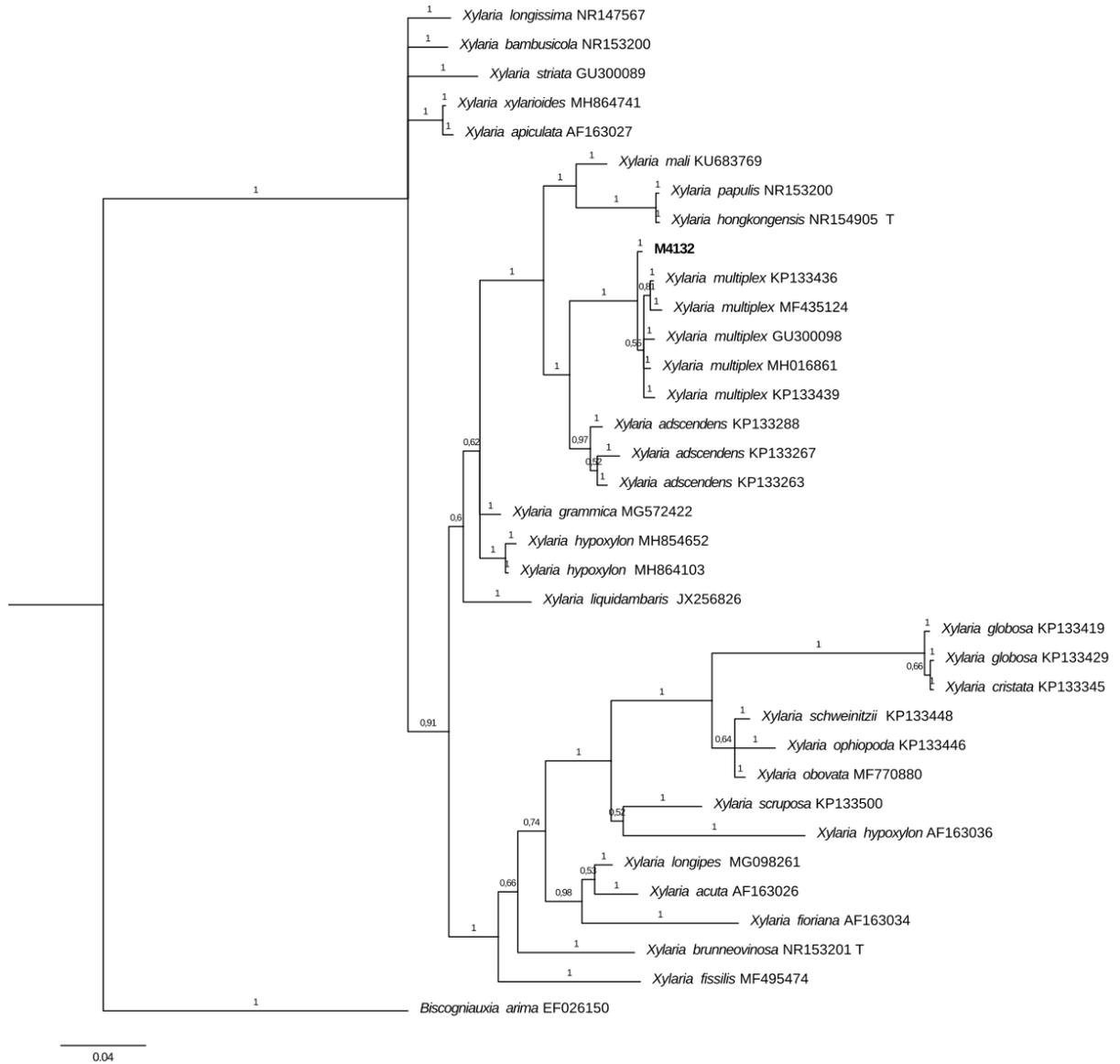


Figure S7. Phylogenetic analysis of *Xylaria* specie isolated in this study, with sequences of the closest species deposited in GenBank. The tree was built based on the ITS region sequences using Bayesian Inference.

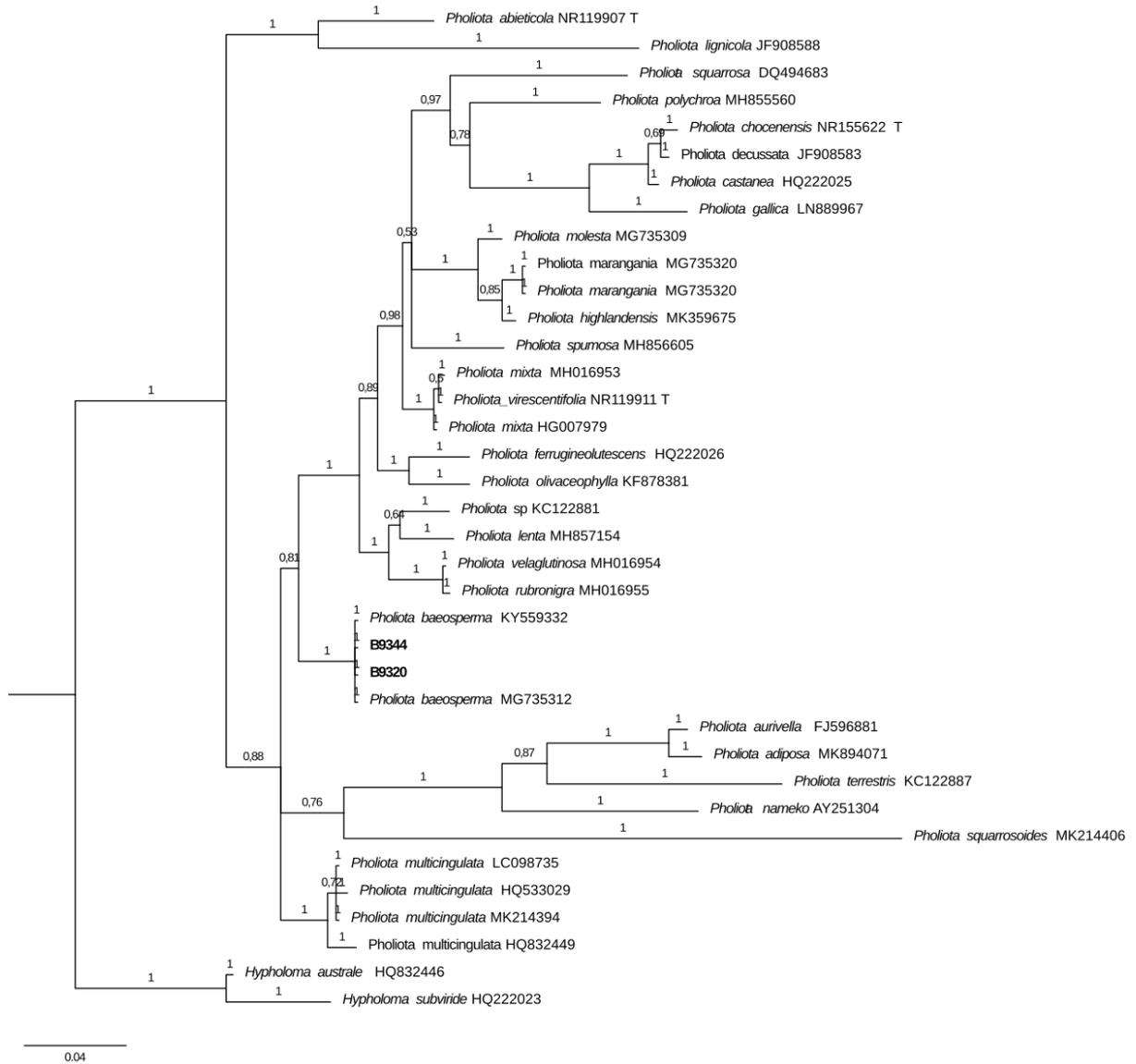


Figure S8. Phylogenetic analysis of *Pholiota* species isolated in this study, with sequences of the closest species deposited in GenBank. The tree was built based on the ITS region sequences using Bayesian Inference.

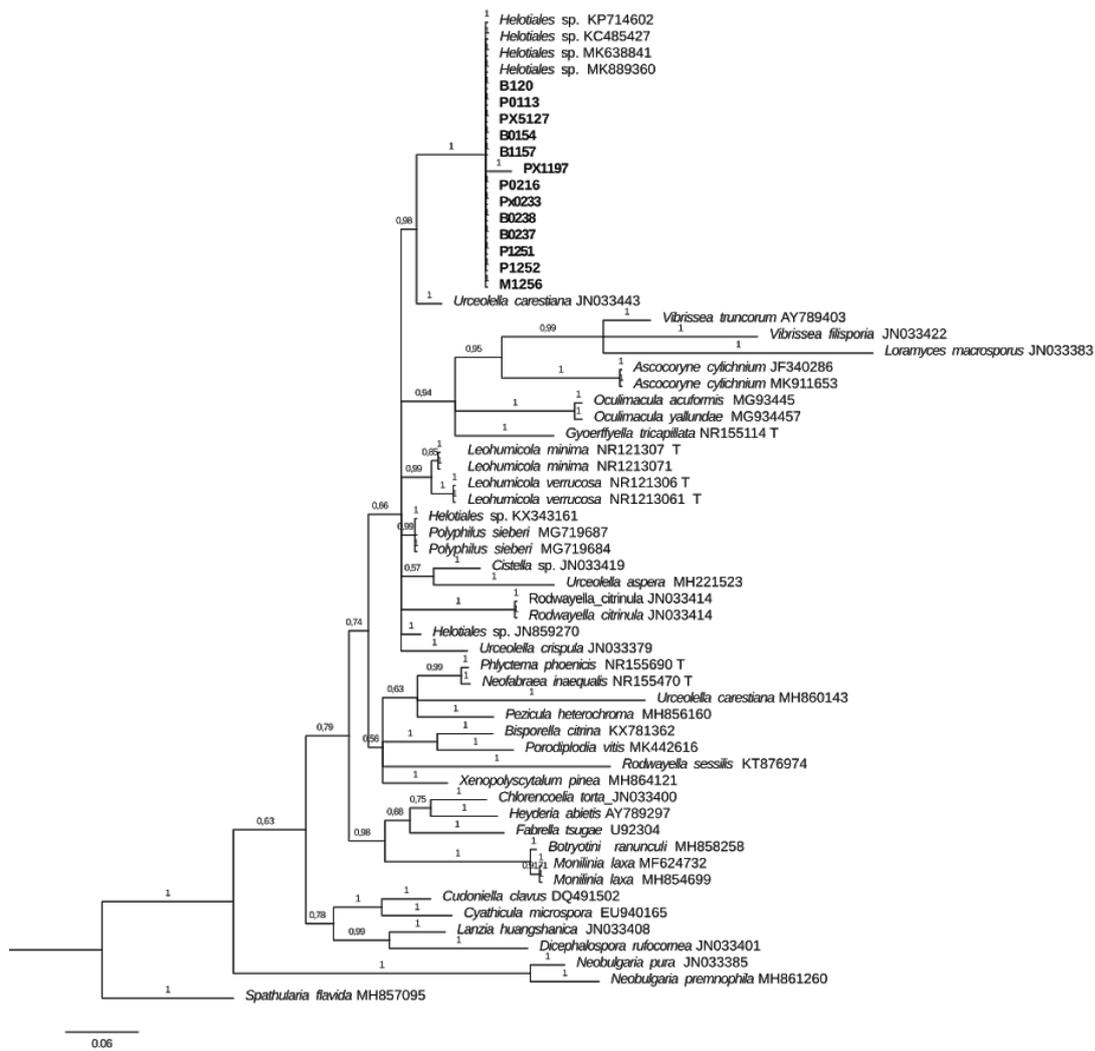


Figure S9. Phylogenetic analysis of *Helotiales* order isolated in this study, with sequences of the closest species deposited in GenBank. The tree was built based on the ITS region sequences using Bayesian Inference.

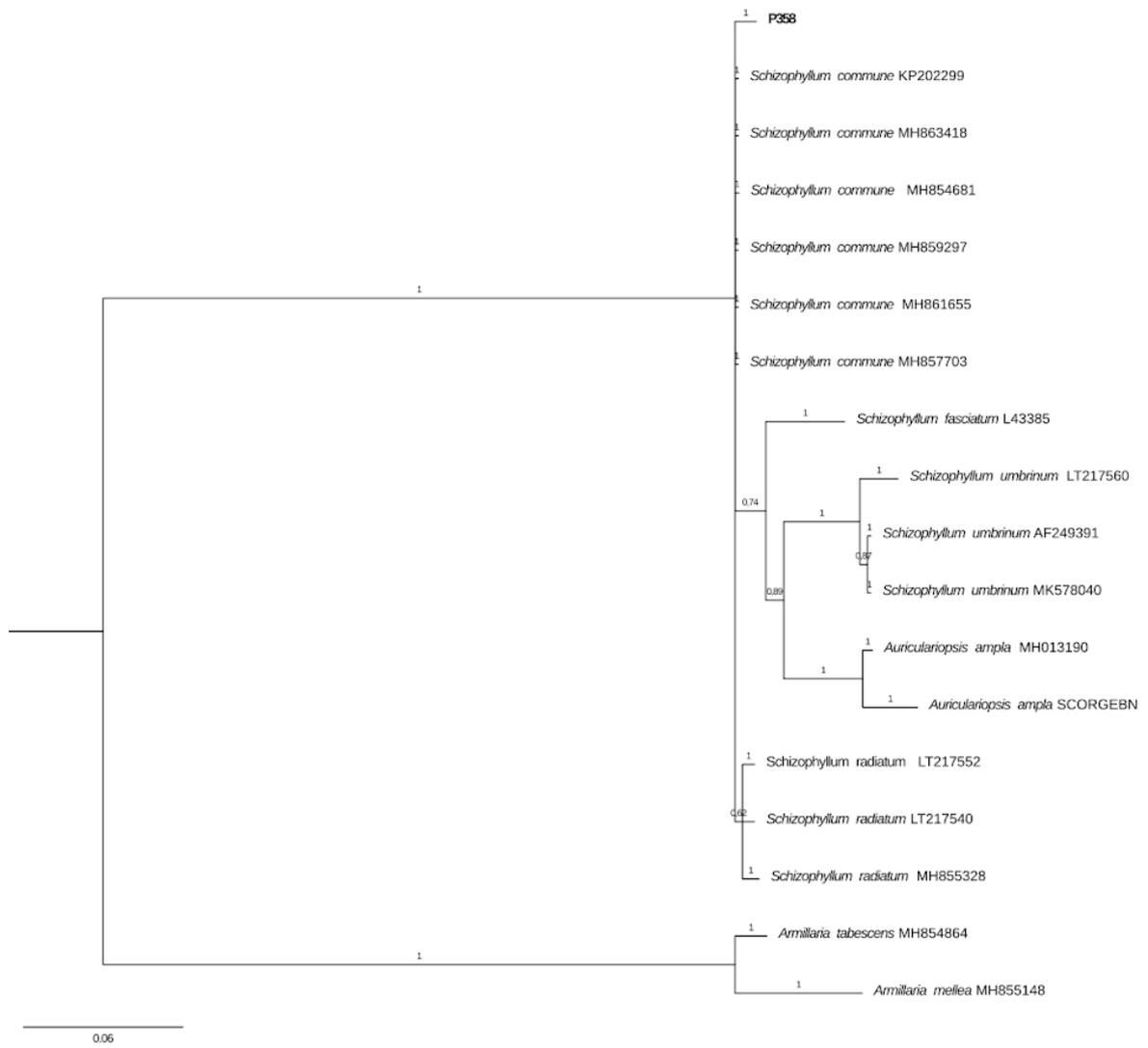


Figure S10. Phylogenetic analysis of *Schizophyllum* specie isolated in this study, with sequences of the closest species deposited in GenBank. The tree was built based on the ITS region sequences using Bayesian Inference.

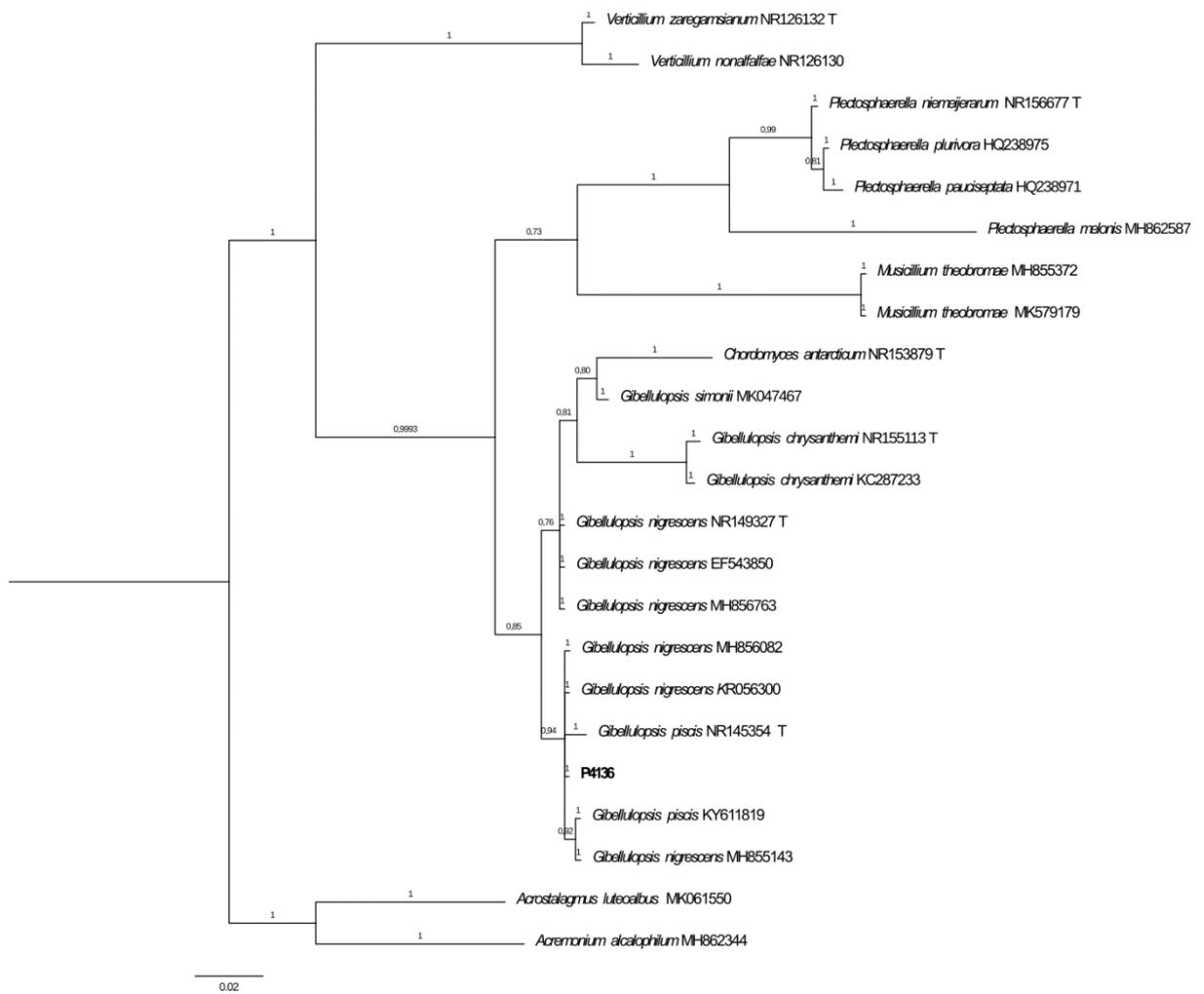


Figure S11. Phylogenetic analysis of *Gibellulopsis* specie isolated in this study, with sequences of the closest species deposited in GenBank. The tree was built based on the ITS region sequences using Bayesian Inference.

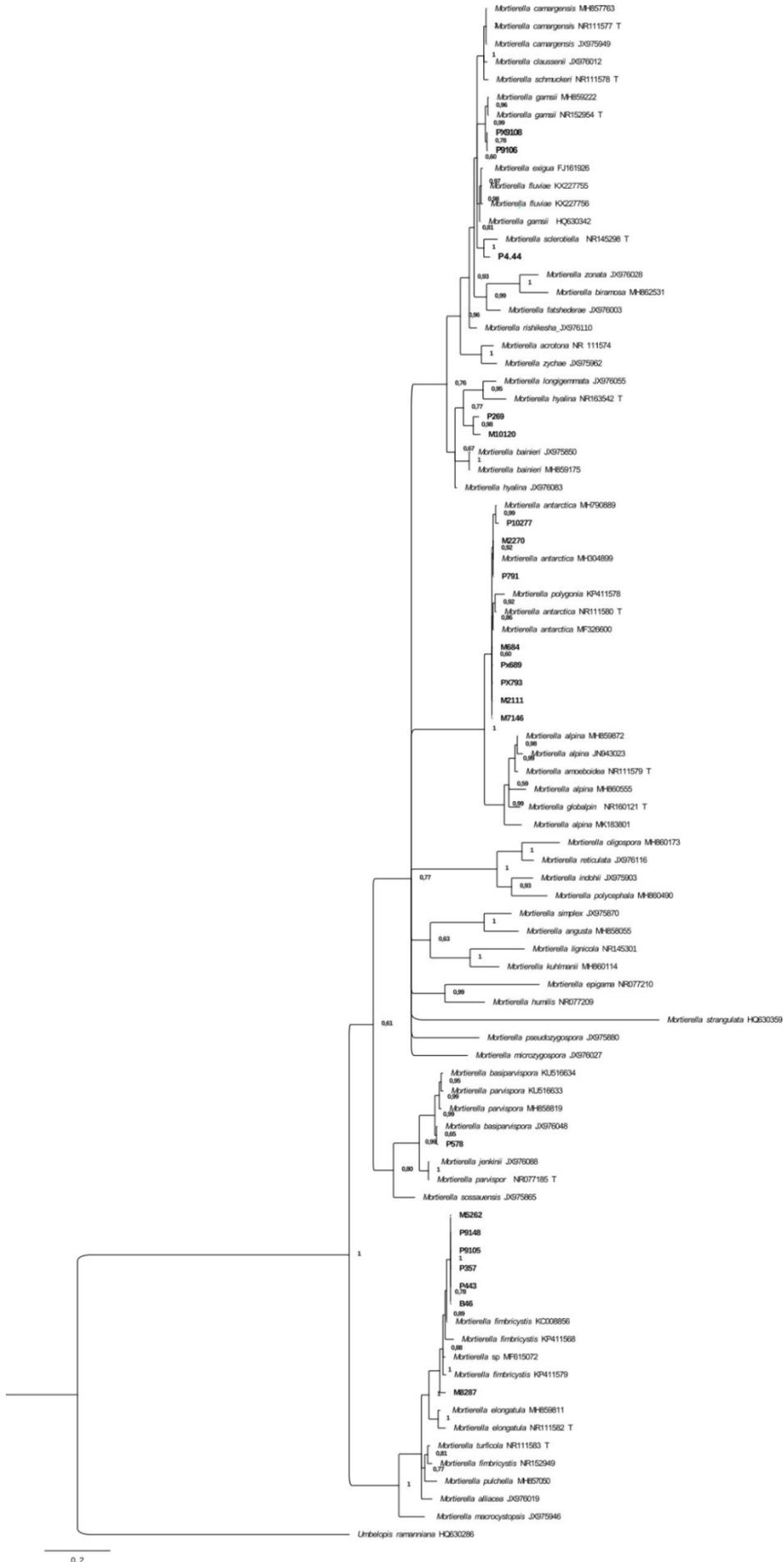


Figure S12. Phylogenetic analysis of *Mortierella* specie isolated in this study, with sequences of the closest species deposited in GenBank. The tree was built based on the ITS region sequences using Bayesian Inference.

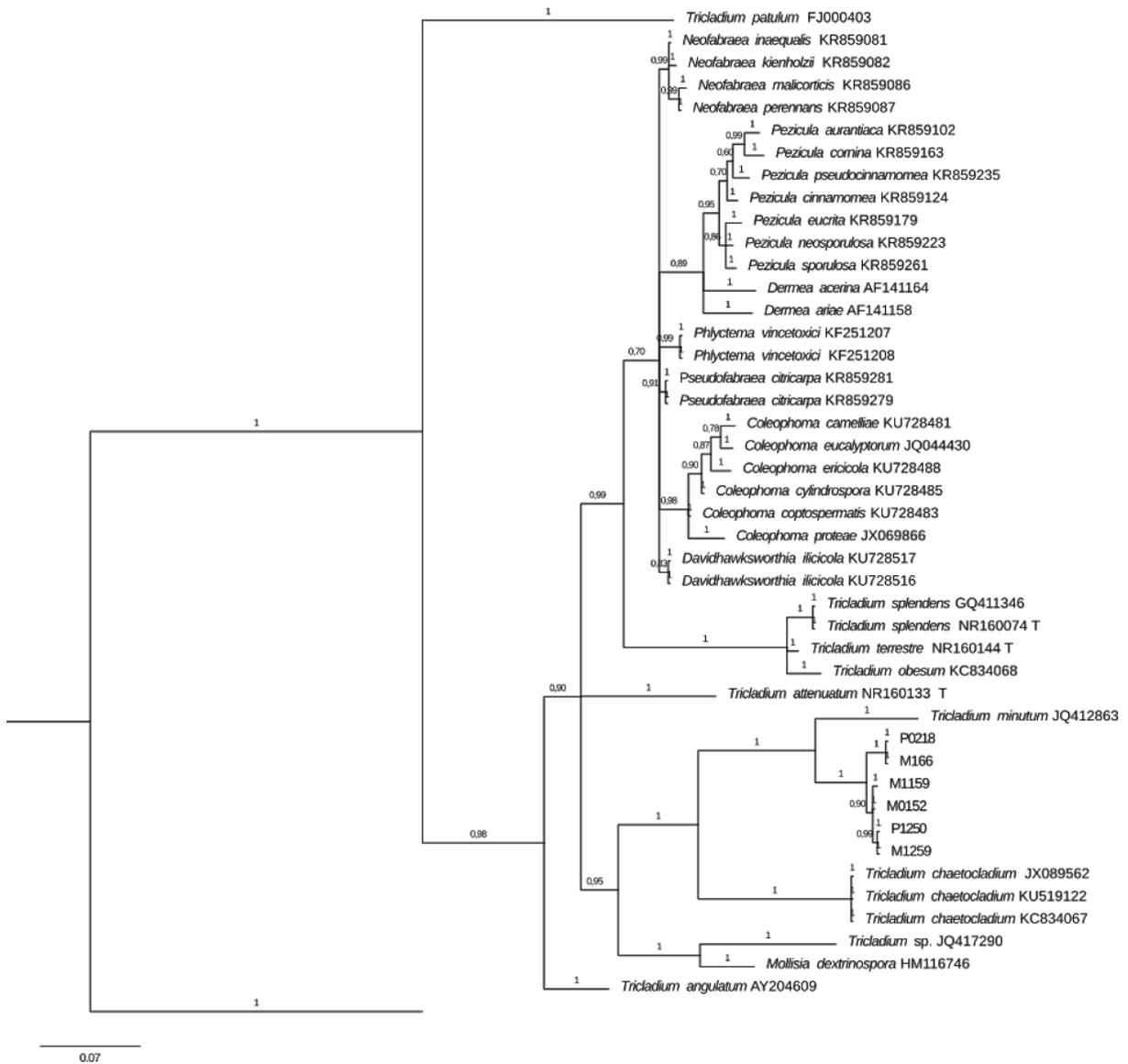


Figure S13. Phylogenetic analysis of *Tricladium* specie isolated in this study, with sequences of the closest species deposited in GenBank. The tree was built based on the ITS region sequences using Bayesian Inference.

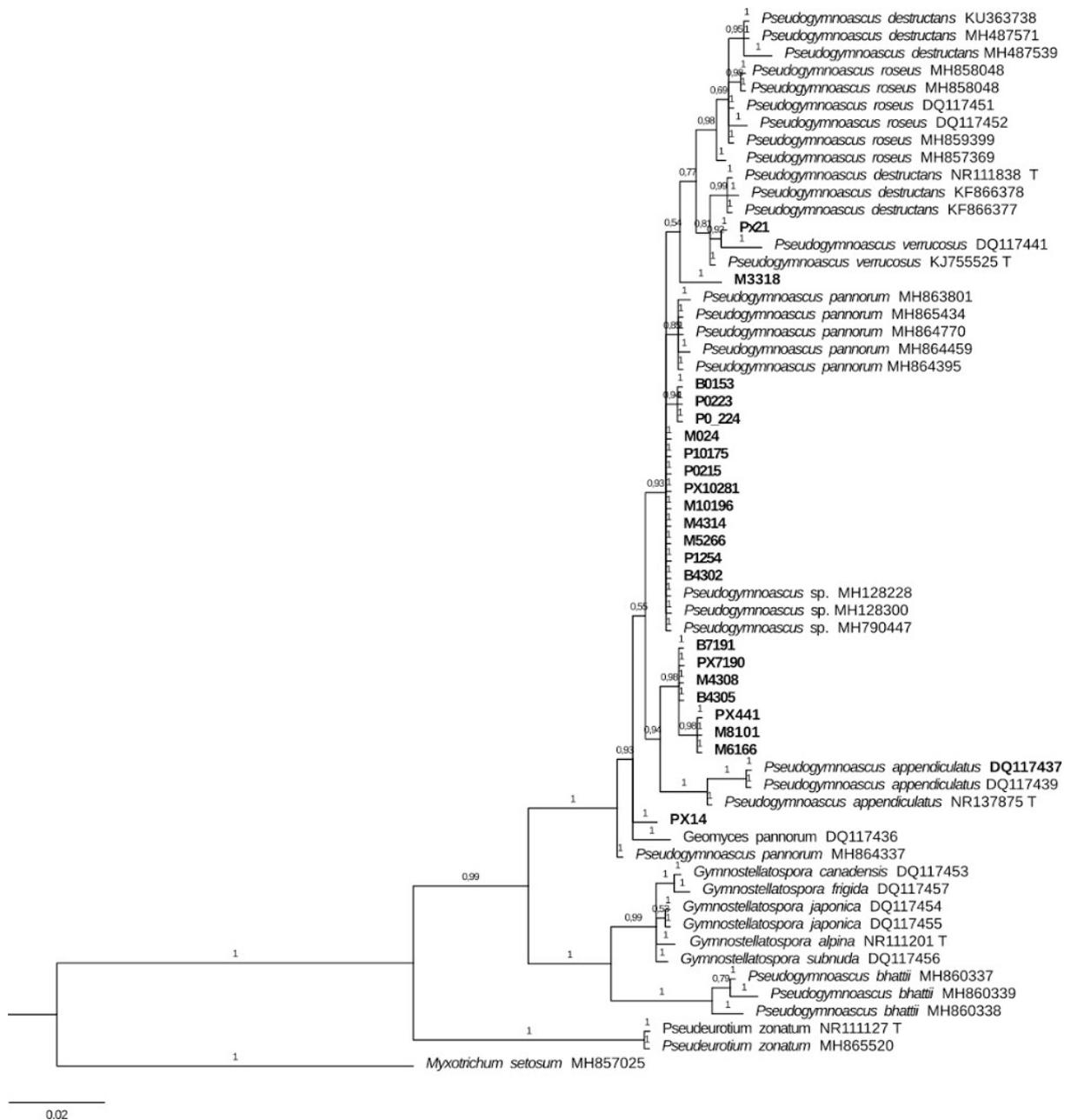


Figure S14. Phylogenetic analysis of *Pseudogymnoascus* specie isolated in this study, with sequences of the closest species deposited in GenBank. The tree was built based on the ITS region sequences using Bayesian Inference.

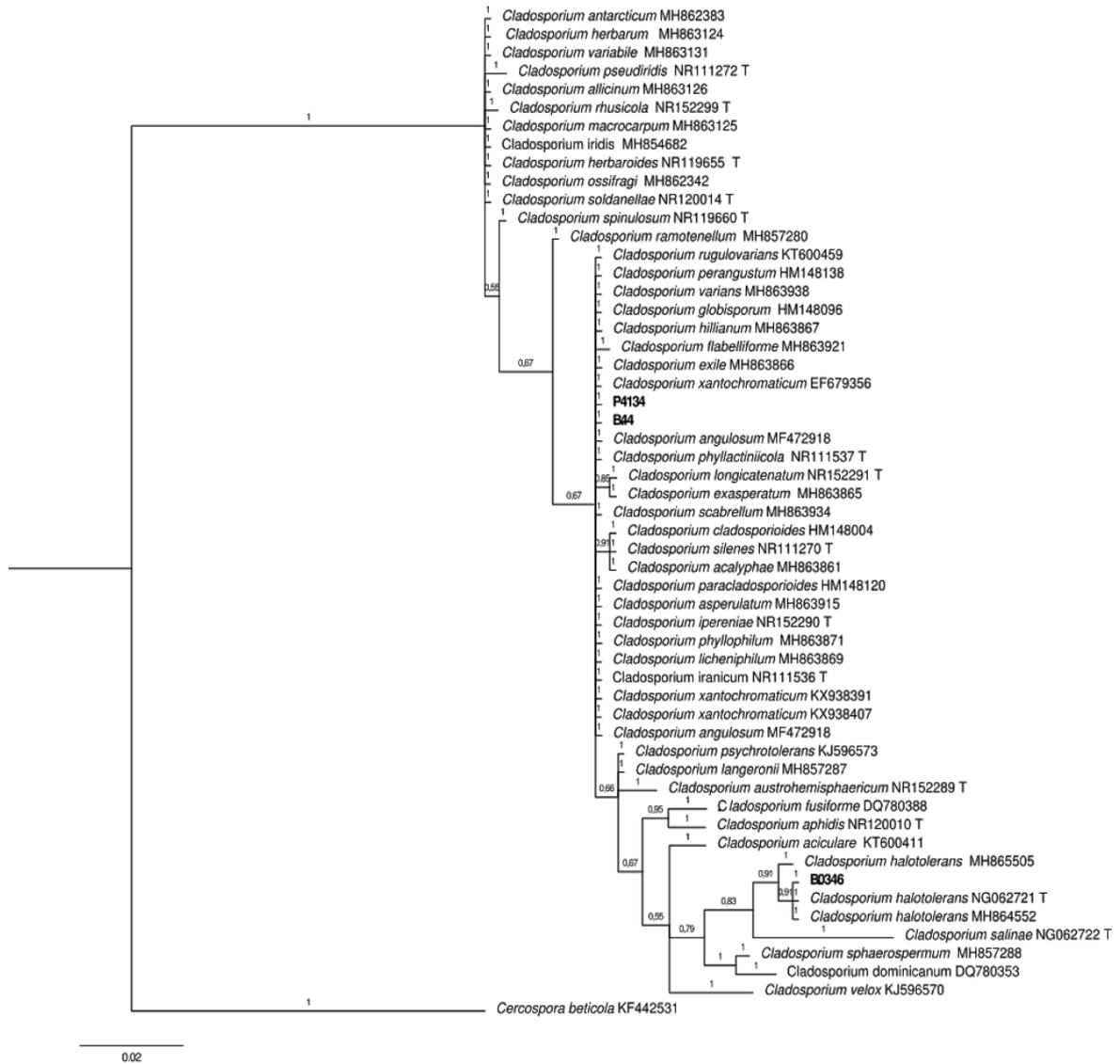


Figure S15. Phylogenetic analysis of *Cladosporium* specie isolated in this study, with sequences of the closest species deposited in GenBank. The tree was built based on the ITS region sequences using Bayesian Inference.

CAPÍTULO 2

Diversidade e Sucessão Ecológica de Fungos Antárticos de Solo do Recuo da Geleira Collins e Baranowski

Resumo

As geleiras cobrem cerca de 10% da área terrestre do planeta Terra, porém estão recuando rapidamente e muitas poderão desaparecer em algumas décadas. O rápido descongelamento das geleiras leva à formação de novos terrenos, consistindo em detritos minerais colonizados por micro-organismos. Apesar da importância da microbiota pioneira em desencadear a formação de ecossistemas terrestres, suas fontes (endógenas versus exógenas) e identidades permanecem desconhecidas. Nosso entendimento das consequências ecológicas do recuo das geleiras melhorou significativamente na última década, mas ainda não temos uma estrutura abrangente para prever as respostas da biodiversidade ao recuo das geleiras globalmente, em diversos habitats e para os diferentes táxons. No presente trabalho, o *metabarcoding* de DNA de amostras do transecto de duas geleiras Antárticas com datação de recuo distintas forneceu informações sobre a diversidade, composição das comunidades fúngicas, aprofundando nosso conhecimento sobre como elas estão relacionadas a diferentes variáveis ambientais. As geleiras Baranowski e Collins apresentaram diferenças na composição das comunidades fúngicas, com predominância de fungos pertencentes aos Filos Ascomycota e Basidiomycota. A composição da comunidade foi espacialmente auto-correlacionada e parece ser motivada por diferentes fatores ambientais, tais como argila, Ca e Mn. Esses resultados são de particular interesse, pois fornecem uma ampla caracterização dos parâmetros que determinam a colonização do solo em um ambiente tão limitador.

Palavras chave: Antártica; Diversidade microbiana; Recuo de geleiras; Metabarcoding DNA.

INTRODUÇÃO

A Antártica está passando por rápidas mudanças climáticas. A temperatura do ar na superfície da região, que abrange amplamente a Península Antártica aumentou até 2,8 °C nos últimos 50 anos, a taxas muitas vezes superiores à média global (ADAMS et al., 2009; TURNER et al., 2014). Com o aumento da temperatura do ar, as geleiras da ilha Rei George, a maior das ilhas Shetland do Sul, localizada na Península Antártica, tem sofrido recuo e perda de espessura do gelo (RÜCKAMP et al., 2011).

A maior parte das geleiras antárticas estão recuando, levando à formação de novos ecossistemas terrestres (COOK et al., 2005). Os ecossistemas de geleiras têm sido amplamente utilizados para investigar o estabelecimento natural de comunidades microbianas em ambientes terrestres e a dinâmica da formação do solo (ZUMSTEG et al., 2012; BAJERSKI; WAGNER, 2013; RIME et al., 2015; EDWARDS et al., 2014). Quando o gelo da geleira derrete, rochas aprisionadas, sedimentos e detritos finos são liberados e os micro-organismos pioneiros presentes nesses detritos iniciam a formação do solo por intemperismo em minerais rochosos e incorporam matéria orgânica (FREY et al., 2010; SMITTENBERG et al., 2012). O conhecimento sobre a dispersão de micro-organismos e como eles colonizam habitats recém expostos é essencial para a compreensão dos padrões biogeográficos da diversidade microbiana (MARTINY et al., 2006; TEDERSOO et al., 2012).

As comunidades de micro-organismos eucariotos encontrados nesses solos refletem as duras condições ambientais, com variações em todo o gradiente latitudinal nas ilhas subantárticas, Península Antártica e nos ecossistemas antárticos continentais (VAN HORN et al., 2013). Vários estudos examinaram comunidades fúngicas em solos de recuo de geleiras e seus resultados revelaram que o tempo decorrido desde a deglaciação tem grandes efeitos na composição da comunidade fúngica (DAVEY et al., 2015; BLAALID et al., 2012; BROWN; JUMPPONEN, 2015). No entanto, as mudanças climáticas vem perturbando as interações entre espécies forçando as mesmas a se adaptarem, migrarem e serem substituídas por outras, ou serem extintas. Newsham et al. (2016) propõe que o atual aquecimento rápido na Antártica marítima (0,34° C por década (TURNER et al., 2014)) facilitará a colonização do solo por uma diversidade mais ampla de fungos do que atualmente, com dados de modelos de regressão sugerindo aumentos de 20 a 27% na riqueza de espécies de fungos nos solos até 2100.

Os fungos do solo têm papéis ecológicos fundamentais como decompositores, patógenos e simbiontes (TEDERSOO et al., 2014). Alterações em sua diversidade decorrentes das mudanças climáticas podem ter efeitos substanciais nos ecossistemas, particularmente naqueles em rápido aquecimento que contêm poucas espécies (SETÄLÄ; MCLEAN, 2004; TIUNOV; SCHEU, 2005).

Embora os efeitos das mudanças climáticas na Antártica marítima tenham se tornado evidente, os conhecimentos sobre as respostas microbianas do solo ao aquecimento na região ainda são muito limitados. Neste contexto, o presente trabalho teve como foco o estudo de diversidade de fungos em solos de recuo das geleiras Baranowski e Collins localizadas na Ilha Rei George e com retrações datadas em tempos distintos. A geleira Baranowski está localizada na costa oeste da Baía do Almirantado, sendo considerada a geleira com recuo mais rápido em comparação com as outras geleiras localizadas na Baía. A área de recuo entre 1979 e 2015 é igual a 0,73 km² (SZIŁO et al., 2017). A geleira Collins está localizada na região noroeste da Península Antártica e vem respondendo lentamente às mudanças climáticas regionais, ao ritmo de décadas ou mesmo séculos e a atual fase de recuo contínuo e rápido pode ser atribuível ao recente aquecimento regional (SIMÕES et al., 2015). Comparativamente à geleira Collins a geleira Baranowski apresentou para o período analisado (1956 até 2017), maiores taxas de retração, apresentando 0,3 km²/ano, assim como maiores perdas percentuais de suas áreas desde 1956 (PERONDI, 2018).

Para investigar as comunidades de fungos associadas aos estágios de desenvolvimento do solo na cronosequência da geleira Baranowski e Collins foi utilizado o sequenciamento de nova geração da região *metabarcoding* ITS.

O presente trabalho buscou responder: (1) Qual a diversidade e composição da comunidade de fungos em solos de recuo de geleiras Antárticas? (2) A diversidade e a composição das comunidades de fungos variam entre o recuo das duas geleiras estudadas? (3) Quais fatores ambientais moldam os grupos fúngicos característicos desses habitats?

Os resultados obtidos no presente estudo foram de extrema importância para uma melhor compreensão sobre a micobiota nos solos do recuo da geleira Collins e Baranowski.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostras

As amostras de solo de recuo da geleira Collins utilizadas no presente trabalho foram coletadas em fevereiro de 2015, durante a fase IV da OPERANTAR XXXIII. As amostras referentes ao solo de recuo da geleira Baranowski foram coletadas em dezembro de 2015, durante a fase IV da OPERANTAR XXXIV (Tabela 1; Figura 1). Todas as amostras foram armazenadas em sacos plásticos estéreis e mantidas sob refrigeração. Para o presente estudo, foram selecionadas 6 amostras de diferentes pontos do recuo da geleira Collins e Baranowski (0, 50, 100, 200, 300 e 400 m) e as respectivas réplicas de cada ponto.

Tabela 1. Pontos de coleta das amostras em metros e coordenadas geográficas dos solos associados à cronossequência do recuo das geleiras Baranowski e Collins.

Geleira	Distância da geleira (Metros)	Coordenadas geográficas
Baranowski	0	62°11.556'S 58°26.562'W
	50	62°11.548'S 58°26.508'W
	100	62°11.549'S 58°26.474'W
	200	62°11.538'S 58°26.407'W
	300	62°11.878'S 58°26.569'W
	400	62°11.866'S 58°26.456'W
Collins	0	62° 09.821'S 58° 55.373'W
	50	62° 09.821'S 58° 55.390'W
	100	62° 09.804'S 58° 55.506'W
	200	62° 09.790'S 58° 55.599'W
	300	62° 09.776'S 58° 55.712'W
	400	62° 09.753'S 58° 55.825'W

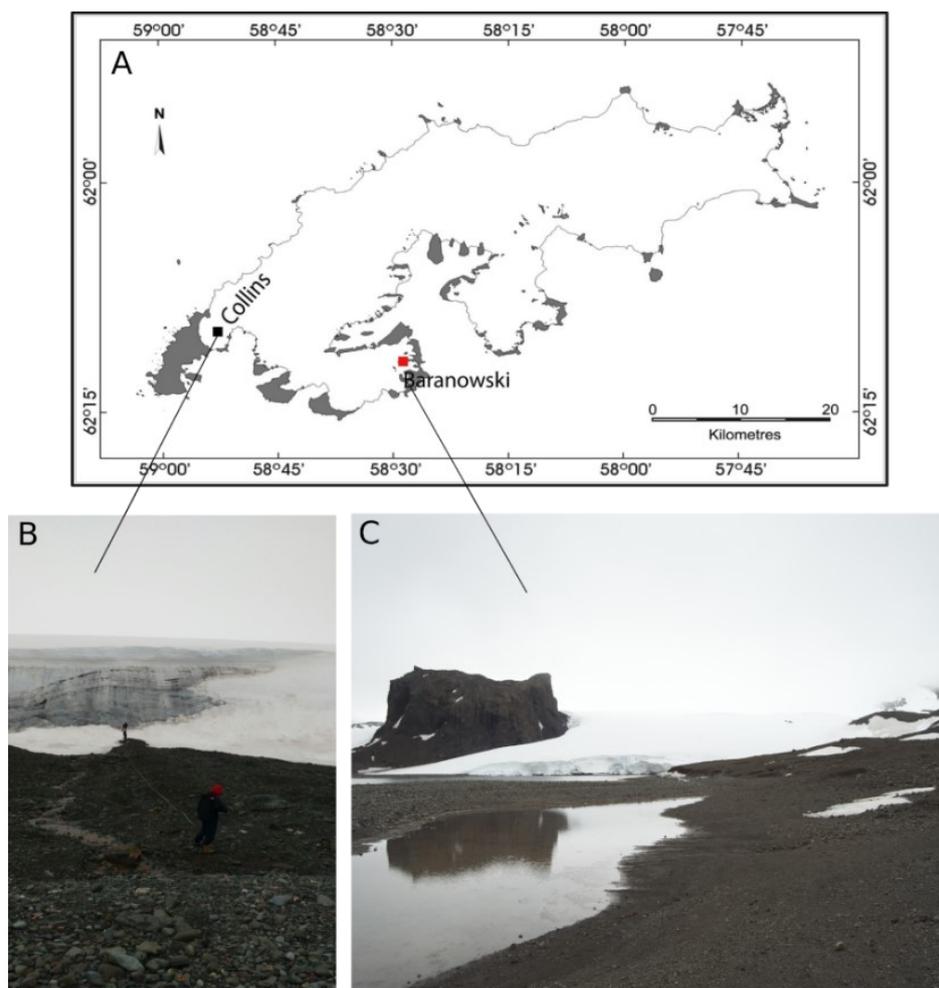


Figura 1. Ilha Rei George, Península Fildes (A); Recuo da geleira Collins (B); Recuo da geleira Baranowski (C)

2.2. Análises físico-químicas do solo

Todas as amostras de solo analisadas neste trabalho foram avaliadas em laboratório quanto aos seguintes parâmetros físico-químicos: micronutrientes (cobre, ferro, manganês e zinco), matéria orgânica, pH, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, silte, argila e areia. Estas análises foram realizadas por terceirização de serviço no Departamento de Ciência do Solo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (ESALQ/USP).

2.3. Extração de DNA

A extração de DNA genômico total das amostras de solo foi realizada utilizando o kit Mobio Power Soil DNA Isolation Kit (MO-BIO Laboratories, Carlsbad, CA, USA) segundo o protocolo do fabricante. A integridade e concentração final de DNA foi avaliada, respectivamente, em eletroforese em gel de agarose 1% (v/v) preparado em

tampão TAE 1X (Tris 0,04 M, ácido acético glacial 1M, EDTA 50 mM, em pH 8) e quantificado em Nanodrop.

2.4. Amplificação do DNA genômico extraídos das amostras de solo de recuo da geleira Collins e Baranowski

Para os estudos de diversidade dos fungos filamentosos foi realizado a amplificação da região ITS1, utilizando os *primers* ITS1F (5' TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCTTGGTCATTTAGAGGAAGTA A-3') (GARDES; BRUNS, 1993) e ITS2 (5'GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGCTGCGTTCTTCATCGAT GC) (WHITE et al., 1990). Para a reação foi utilizado 2 µl de DNA, 12,5 µl 2x KAPA HiFi HotStart ReadyMix e 9 µl de água MiliQ. As condições utilizadas para a amplificação foram: 95°C por 5 min; 30 ciclos de 95°C 30 s, 56°C por 30 s, 72°C por 30 s e 72°C por 5 min. Os *amplicons* foram purificados com o kit AMPure XP beads (BeckmanCoulter) e em seguida foram quantificados em Nanodrop. Para os solos de recuo da geleira Collins foi possível realizar as amplificações em triplicata, porém para os solos de recuo da geleira Baranowski as amplificações foram realizadas em duplicata. O total de 30 amostras foram sequenciadas na plataforma Miseq Illumina pela empresa Macrogen(Coreia do Sul).

2.5. Análises de bioinformática

O fluxo de trabalho de análise de bioinformática dos dados dos *amplicons* foram resumidos em quatro etapas principais: (i) pré-processamento, (ii) seleção de ASV (*amplicons sequence variant*) um análogo de alta resolução da tabela OTU tradicional, (iii) classificação taxonômica, e (iv) visualização e análise estatística.

2.5.1. Pré-processamento

2.5.1.1. Análises das Sequências Obtidas pela Plataforma Miseq Illumina

As sequências geradas no sequenciamento foram exportadas para arquivos em formato fastq que são arquivos de sequências em formato texto contendo as bases sequenciadas com os respectivos valores de qualidade na escala PHRED. A qualidade das amostras brutas, obtidas após o sequenciamento, foi avaliada utilizando a ferramenta FastQC versão 0.11.9 (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>).

2.5.1.2. Extração da região ITS

Para essa etapa realizamos a extração da região ITS1 utilizando a ferramenta ITSxpress (RIVERS et al., 2018), disponível no programa QIIME2 (*Quantitative Insights Into Microbial Ecology*). De acordo com Nilsson et al. (2009), a remoção das regiões observadas em torno do ITS resulta em uma classificação taxonômica mais precisa.

2.5.1.3. Filtragem das sequências ITS

As sequências foram filtradas pelo algoritmo de *denoising* utilizando o programa DADA2 (CLALLAHAN et al., 2015), um pacote aberto implementado na linguagem R. Essa ferramenta foi utilizada para modelagem e correção de erros de *amplicons* sem a construção de unidades taxonômicas operacionais (OTU). No processo de filtragem dos dados os *reads* não foram truncados para um comprimento fixo, pois essa abordagem remove variantes reais do ITS com comprimentos menores que o comprimento do truncamento. A filtragem dos dados em FASTQ foi realizada para cortar as bases ambíguas (Ns), por meio da função *filterAndTrim*. Posteriormente, foi utilizada a ferramenta *cutadapt* para remoção dos *primers* e adaptadores localizados. Os perfis de qualidade dos arquivos foram verificados por meio da função *plotQualityProfile*. A filtragem de arquivos FASTQ foi realizada para eliminar os *reads* com menos de 50 pares de base (bp) e os “erros esperados”.

O algoritmo DADA2 faz uso de um modelo de erro paramétrico e cada conjunto de dados de *amplicons* possui um conjunto diferente de taxas de erro. O método *learnErrors* (Taxas de erro) realiza a estimativa de erros, onde as taxas de erros são aprendidas (por aprendizado de máquina) a partir dos dados, alternando a estimativa das taxas de erro e a inferência da composição da amostra até que eles convirjam em uma solução consistente. Como em muitos problemas de aprendizado de máquina, o algoritmo deve começar com um palpite inicial, para o qual são usadas as taxas de erro máximas possíveis nesses dados (as taxas de erro se apenas o *reads* mais abundante estiver correta e todo o restante for erro). Diferentemente de outros, esse *pipeline* realiza a fusão de *paired-endreads* após a etapa *denoising*. Isso ocorre porque o algoritmo de *denoising* usa a relação empírica entre o índice de qualidade e as taxas de erro, atingindo maior precisão através do desmembramento antes da fusão. Como a fusão ocorre após a etapa *denoising*, é necessária sobreposição exata,

sem *mismatches*, uma vez que se espera que quase todos os erros de substituição já tenham sido removidos. Em seguida, as quimeras são removidas.

Após o processamento inicial dos dados, as taxonomias foram atribuídas a cada ASVs (*Amplicon Sequencing Variants*) utilizando uma implementação do programa DADA2 do método de classificador bayesiano ingênuo para essa finalidade. A função *assignTaxonomy* toma como entrada um conjunto de sequências (ASVs) a serem classificadas e um conjunto de treinamento de sequências de referência com taxonomia conhecida e atribui unidades taxonômicas com pelo menos a confiança de inicialização do *minBootbootstrap*. O banco de dados de referência da região ITS, UNITEE (<https://unite.ut.ee/>) foi utilizado como referência para classificação. O *pipeline* completo utilizado para essa etapa está disponível em https://benjjneb.github.io/dada2/ITS_workflow.html.

2.6. Métodos estatísticos

As tabelas de taxonomia e contagem de leitura construídas no DADA2 foram adequadamente convertidas e importadas para o pacote phyloseq (1.32.0) (MCMURDIE; HOLMES, 2013) no *software* R (4.0.2) para a exploração dos dados e análises estatísticas. O número de ASVs compartilhadas entre amostras foi visualizado usando o pacote ggplot2 (WICKHAM, 2009) e phyloseq.

Para compreender a estrutura principal do microbioma utilizamos a análise de Core do microbioma (*Core Microbiome*) por meio do pacote Microbiome (LEO LAHTI et al., 2017). Para análise, foi considerado o valor 50% de prevalência e 1% de abundância relativa das amostras.

Adicionalmente, foi realizado uma análise de espécies indicadoras para identificar padrões de associação táxon-habitat. Este procedimento identifica as ASVs como espécies indicadoras independentemente de sua abundância no conjunto total de dados. Essa análise foi realizada com a função *multipatt* (número de permutações = 99.999) implementada no pacote *indicspecies* (DE CÁCERES et al., 2010) para identificar OTUs, levando a alterações nos padrões multivariados.

A diferença na abundância de Filo foi realizada através de um teste multivariado de diferenças na composição geral entre os grupos de amostras das geleiras. Esse teste foi implementado usando o pacote HMP (LA ROSA et al., 2011), onde basicamente uma distribuição Dirichlet-Multinomial é assumida para os dados e o teste de hipótese nula é conduzido testando uma diferença na localização (distribuição

média de cada taxa) entre os grupos responsável pela super-dispersão nos dados da contagem.

O agrupamento hierárquico foi utilizado para examinar como as amostras se agrupam com relação à medida de (dis)similaridade taxonômica. Para isso os dados foram transformados por meio da ferramenta *Deseq2* (LOVE et al., 2014) e calculado utilizando a distância Euclidiana.

Avaliamos a abundância diferencial entre as amostras das geleiras Collins e Baranowski por meio da ferramenta *Deseq*. O *Deseq2* é um modelo que utiliza a distribuição binomial negativa. O mecanismo foi incluído como co-variável em todos os modelos e ASVs com um valor de p corrigido pela taxa de descoberta falsa (FDR) de Benjamini-Hochberg (FDR)<0,1 relatado.

Para avaliar e comparar as diferenças na diversidade alfa das amostras foram calculados os índices de entropia de Shannon, que mede o grau de incerteza em prever a que espécie pertencerá um indivíduo escolhido, ao acaso, de uma amostra com S espécies e N indivíduos, e o inverso de Simpson, que reflete a probabilidade de dois indivíduos escolhidos ao acaso na mesma comunidade pertencerem à mesma espécie (URAMOTO et al., 2005). Além disso, para estimar a riqueza de espécies foi calculado o estimador de riqueza Chao-1, que possibilita estimar o número total de espécies em uma determinada comunidade a partir dos dados das amostras. Essas análises foram conduzidas por meio do pacote *phyloseq* (MCMURDIE; HOLMES, 2013).

As diferenças nas estimativas de diversidade alfa entre as geleiras foram testadas por meio do teste Wilcoxon rank-sum.

As análises de coordenadas principais (PCoA) e a análise de componentes principais (PCA) foram utilizadas para comparar dissimilaridades entre as comunidades de fungos através da distância de sucessão e entre os recuos das geleiras. Para a Análise PCA, os dados brutos de leitura foram transformados por imputação de zeros e conversão de razão de log centralizada (distância de Aitchison) usando o pacote *zCompositions* (PALAREA-ALBALADEJO et al., 2015) e o pacote *CoDaSeq* (<https://github.com/ggloor/CoDaSeq>) (GLOOR et al., 2017). A análise de coordenadas principais (PCoA) foi realizada na matriz transformadas pela distância de Hellinger.

As diferenças na diversidade beta foram testadas pela análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA) implementada pela função *Adonis* no *vegan* v2.5.6 (OKSANEN et al., 2019).

Uma análise discriminatória de redundância (RDA) (LEGENDRE; LEGENDRE, 1988) foi realizada para investigar a influência de variáveis ambientais nas comunidades fúngicas. Considerando o fato de que os dados ecológicos contêm abundâncias muito altas e muito raras, os quais podem ser enganosos ao calcular distâncias euclidianas em valores brutos, os dados foram transformados por Hellinger usando o pacote *vegan* (ANDERSON, 2001; OKSANEN et al., 2019), pois esse procedimento tem demonstrado ser eficaz na melhoria desse problema (LEGENDRE; GALLAGHER, 2001). A influência das variáveis preditoras (efeito de cada parâmetro do solo) na taxonomia (Filos) foram avaliadas através da análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA; ANDERSON, 2001), a qual foi realizada em matrizes de distância Bray-Curtis obtidas de tabelas ASVs transformadas por Hellinger com 999 permutações, com a função *adonis*. A correlação entre a similaridade de espécies e distâncias geográficas (metros) e variáveis preditoras foi obtida pelo teste de Mantel, usando o índice de correlação de Pearson através dos pacotes *cultevo* (STADLER, 2018) e *corrplot* (WEI et al., 2017). O teste de Mantel é uma análise de correlação multivariada por meio de comparação entre matrizes de dissimilaridade da mesma dimensão.

O efeito geral do recuo da geleira na comunidade de fungos foi determinado usando MANOVAs permutacionais (PERMANOVAs). Estas análises acima foram realizadas no pacote *vegan* em R.

Todas as análises dos dados foram realizadas com o R (versão 4.0.2; <http://www.r-project.org>) no RStudio (versão 1.0.44; <http://rstudio.org>).

3. RESULTADOS

3.1. Análise dos parâmetros físico-químicos dos solos

O solo derivado do recuo da geleira Baranowski foi caracterizado como arenoso e médio-arenoso, levemente ácido (pH médio 6,5). Os solos coletados ao longo do transecto da geleira Collins possui caráter arenoso, e pH ácido (pH médio 5,7). O solo da Baranowski foi relativamente mais argiloso (102-205 g kg⁻¹) quando comparado com o solo da Collins (52-156 g kg⁻¹). Os solos das duas geleiras apresentaram maior concentração de silte a 200 e 300 metros (Tabela 2).

Tabela 2. Dados de pH e composição granulométrica das amostras de solo do recuo da geleira Baranowski e Collins.

Geleira	pH	Textura		Classe Textural
		Silte (g kg ⁻¹)	Argila (g kg ⁻¹)	
Baranowski (m)				
0	6,7	132	103	ar
50	6,2	271	155	md-ar
100	6,5	295	209	md-ar
200	6,5	330	181	md-ar
300	6,6	308	205	md-ar
400	6,5	128	102	ar
Collins (m)				
0	6,1	162	52	ar
50	6,1	102	82	ar
100	6	236	52	ar
200	5,7	338	156	ar
300	5,7	345	131	ar
400	5,6	125	77	ar

Onde: Classe de textura = Argila (c/ dispersante) até 149 g/kg = arenosa (ar); 150 a 249 g/kg = média arenosa (md-ar); pH em CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹.

A análise dos parâmetros físico-químicos dos solos demonstrou pouca variação entre as amostras de cada geleira (Tabela 3). O Ferro (Fe) foi encontrado em maior proporção (mg.dm⁻³) nas amostras da geleira Collins. Manganês (Mn) e Fósforo (P) demonstraram uma variação ao longo do gradiente do transecto, sendo encontrado em maiores proporções no solo subglacial (0 m) de ambas geleiras.

Tabela 3. Composição físico-química das amostras de solo das geleiras Baranowski e Collins.

Geleiras	P*	K**	Ca**	Mg**	Cu*	Fe*	Mn*	Zn*
Baranowski(m)								
0	470	8,9	477	40	4,8	7	13,6	0,1
50	284	2,5	509	29	4,5	6	5,2	0,1
100	338	1,9	701	31	3,1	5	4,5	0,3
200	287	2,6	522	42	4,7	12	5,8	0,1
300	277	3,6	500	25	3,6	10	5,6	0,2
400	487	4,7	559	43	5,2	11	5	0,2
Collins(m)								
0	369	11,9	197	101	4,1	67	38,7	0,4
50	340	7,9	210	125	4,6	45	10,3	0,2
100	269	6,7	153	136	2,8	67	4,4	0,4
200	230	7,2	139	103	3,3	54	6,6	0,5
300	270	6,6	119	81	4,5	77	4	0,6
400	257	16,2	470	78	1,6	39	1,7	0,2

* em mg.dm⁻³; ** em mmolc.dm⁻³

Os dados resultantes da análise da variação estatística dos parâmetros ambientais com relação ao local de coleta (distanciamento em metros), realizado pela correlação de Spearman, revelaram que a correlação foi positiva para o Cálcio (Ca) nas duas geleiras estudadas. Para o conjunto de dados da geleira Baranowski apresentou correlação positiva para Fósforo (P), Magnésio (Mg), Cobre (Cu), Ferro (Fe) e Zinco (Zn) e para o conjunto de dados da geleira Collins houve correlação positiva para Potássio (K), Silte e Argila (Tabela 4).

Tabela 4. Correlação de Spearman entre os parâmetros ambientais e os pontos de coletas (metros) das geleiras Baranowski e Collins.

	Baranowski	Collins
pH	-0,09	-0,19
P	0,03	-0,06
K	0,09	0,18
Ca	0,43	0,28
Mg	0,26	-0,35
Cu	0,14	-0,23
Fe	0,6	-0,16
Mn	-0,37	-0,57
Zn	0,49	-0,02
Silte	0,09	0,06
Argila	-0,03	0,18

3.2. Análise de diversidade e estrutura da comunidade fúngica das geleiras Baranowski e Collins

Os dados referentes à extração e purificação das 6 amostras de diferentes pontos ao longo do transecto da geleira Baranowski e Collins (0, 50, 100, 200, 300 e 400 m) estão apresentados na (Tabela 5).

Tabela 5. Quantificação do produto de PCR das amostras do recuo da geleira Collins e Baranowski

Amostras solos (Collins)	ng/ μ L	Amostras solos (Baranowski)	ng/ μ L
0CA	48	0BA	53
0CB	49	0BB	22
0CC	35	-----	-----
50CA	48	50BA	35
50CB	27	50BB	30
50CC	20	-----	-----
100CA	20	100BA	25
100CB	22	100BB	34
100CC	23	-----	-----
200CA	22	200BA	31
200CB	27	200BB	38
200CC	20	-----	-----
300CA	24	300BA	37
300CB	40	300BB	38
300CC	35	-----	-----
400CA	56	400BA	37
400CB	55	400BB	44
400CC	45	-----	-----

Após os processos de filtragem de erros, qualidade e quimeras, foi obtido um total de 2.931.038 *reads*. As amostras derivadas do transecto da geleira Collins apresentaram um total de 1.343.162 *reads*, enquanto 1.096.883 *reads* foram recuperadas das amostras dos solos de recuo da geleira Baranowski. Na Tabela 6 estão apresentados os resultados do número de *reads* totais, número de *reads* filtrados e número de ASVs (*Amplicon Sequence Variant*) por amostra.

Tabela 6. Resultados obtidos após a análise dos dados de sequenciamento quanto ao número de *reads* totais, número de *reads* após o filtro de qualidade e número de ASVs, em cada amostra analisada.

Amostras	Número de <i>reads</i>	Filtrados	ASVs
Baranowski			
0BA	173012	148419	257
0BB	138085	123447	327
50BA	30152	24553	159
50BB	170531	150527	447
100BA	168211	147510	477
100BB	158769	139116	430
200BA	133246	117049	404
200BB	158197	136638	428
300BA	80637	67125	295
300BB	96585	80242	319
400BA	114471	99696	346
400BB	98988	84575	379
Collins			
0CA	53769	42392	48
0CB	55051	47654	235
0CC	98891	87561	512
50CA	56651	50336	218
50CB	50200	43192	174
50CC	155835	143165	354
100CA	166669	149548	289
100CB	121170	111134	149
100CC	122877	108881	420
200CA	171679	148674	72
200CB	9138	8012	91
200CC	161093	147985	316
300CA	130627	112240	428
300CB	178334	158673	384
300CC	87888	78364	302
400CA	98868	75542	252
400CB	78775	62803	247
400CC	46996	35985	153

Do total de *reads* sequenciado, 2.440.045 (83,3%) foram classificadas a partir do nível de Filo e 490.993 (16,7%) foram classificadas apenas ao nível de Reino (Fungi). Essa etapa resultou em um total de 3.025 ASVs, abrangendo 8 Filos, 29 Classes, 67 Ordens, 137 Famílias e 190 Gêneros, sendo 39% (1.202 ASVs) classificados apenas ao nível de Reino.

Um total de 1.382 ASVs foram encontradas nas amostras provenientes da geleira Baranowski, enquanto 2.316 ASVs foram encontradas nas amostras da geleira Collins. Sendo que 673 ASVs (22%) foram compartilhadas entre as duas geleiras (Figura 2).

Com relação à cronossequência em metros, a geleira Baranowski apresentou a maior abundância de ASV a 100 m de recuo (656 ASVs), sendo a menor abundância de ASV encontrada a 300 m (397 ASVs). Para a geleira Collins a maior abundância (902 ASVs) foi encontrada a 300 m e a menor a 200 m (418 ASVs).

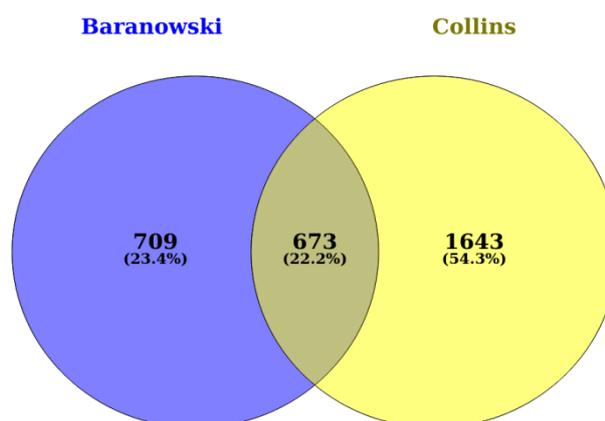


Figura 2. O diagrama de Venn demonstrando a distribuição das ASVs fúngicas nas amostras de solos da geleira Baranowski e Collins. São indicadas as porcentagens de ASVs compartilhadas e encontradas exclusivamente em cada geleira.

Os Filos dominantes com relação ao total de amostras foram Basidiomycota (39% do total de sequências), Ascomycota (36%) e Mortierellomycota (20%), seguidos por Chytridiomycota (2%), Aphelidiomycota (1.3%) e Monoblepharomycota, Rozellomycota e Glomeromycota, os quais apresentaram menos de 1% do total de sequências (Figura 3).

Os Filos mais ricos em ASV foram Ascomycota (935 ASVs) e Basidiomycota (621 ASVs), seguidos por Mortierellomycota (119 ASVs), Chytridiomycota (96 ASVs),

Aphelidiomycota (17 ASVs), Monoblepharomycota (12 ASVs), Rozellomycota (22 ASVs) e Glomeromycota (1 ASVs). O Filo Glomeromycota foi identificado somente nas amostras do recuo da geleira Collins, representando menos de 1% das ASVs.

A análise de abundância relativa revelou que os taxa estão distribuídos de maneira mais uniforme nos solos de recuo da geleira Baranowski do que nos solos de recuo da geleira Collins (Figura 3).

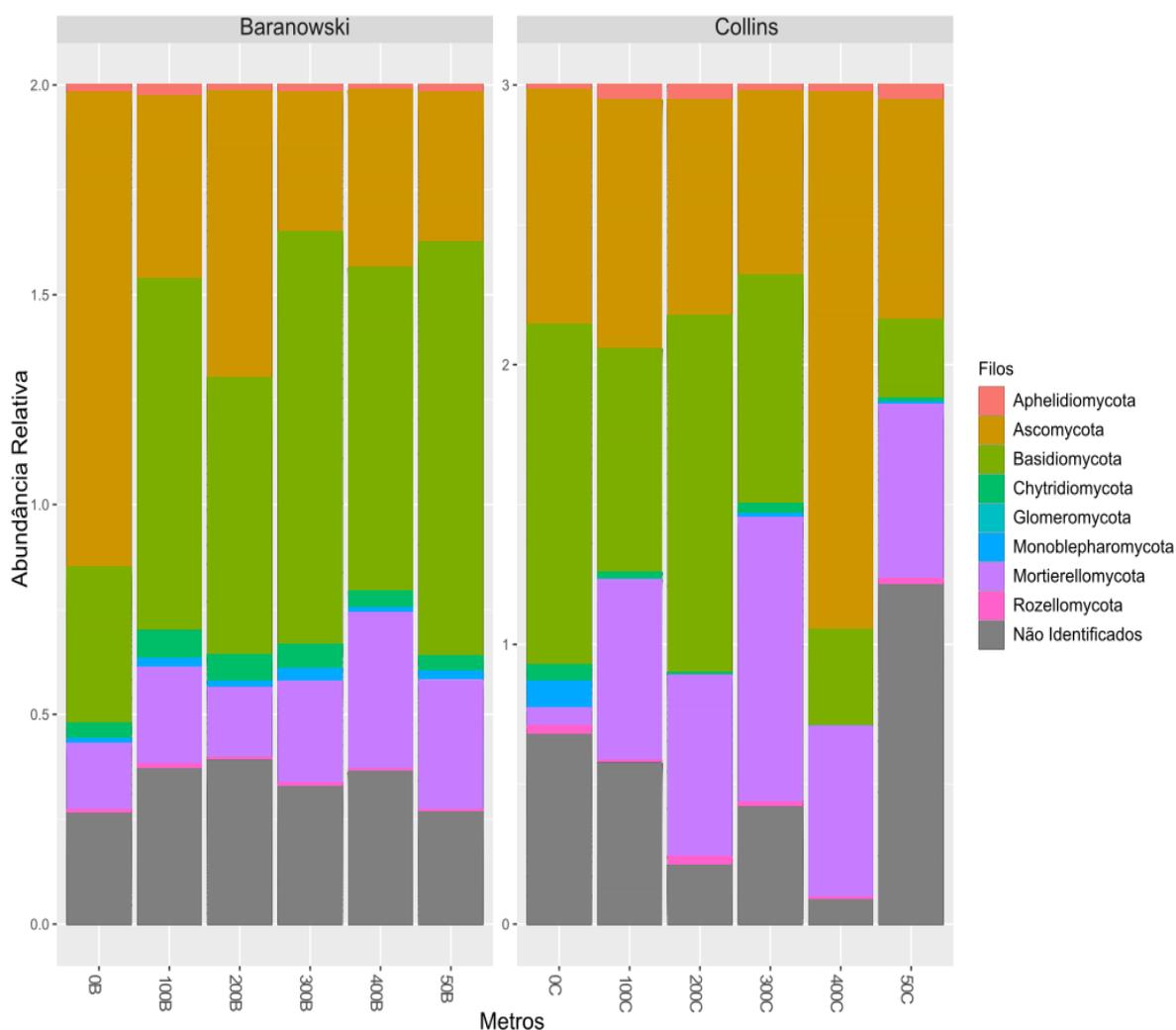


Figura 3. Abundância relativa dos grupos taxonômicos em âmbito de Filo para as geleiras Baranowski e Collins

Em termo de Classe, 1.701 ASVs (56%) permaneceram não identificadas, enquanto 29 Classes representaram 44% das ASVs classificadas, com dominância de Agaricomycetes 312 ASVs (24%), Eurotiomycetes 297 ASVs (22%) e Leotiomycetes 146 ASVs (11%) (Figura 4).

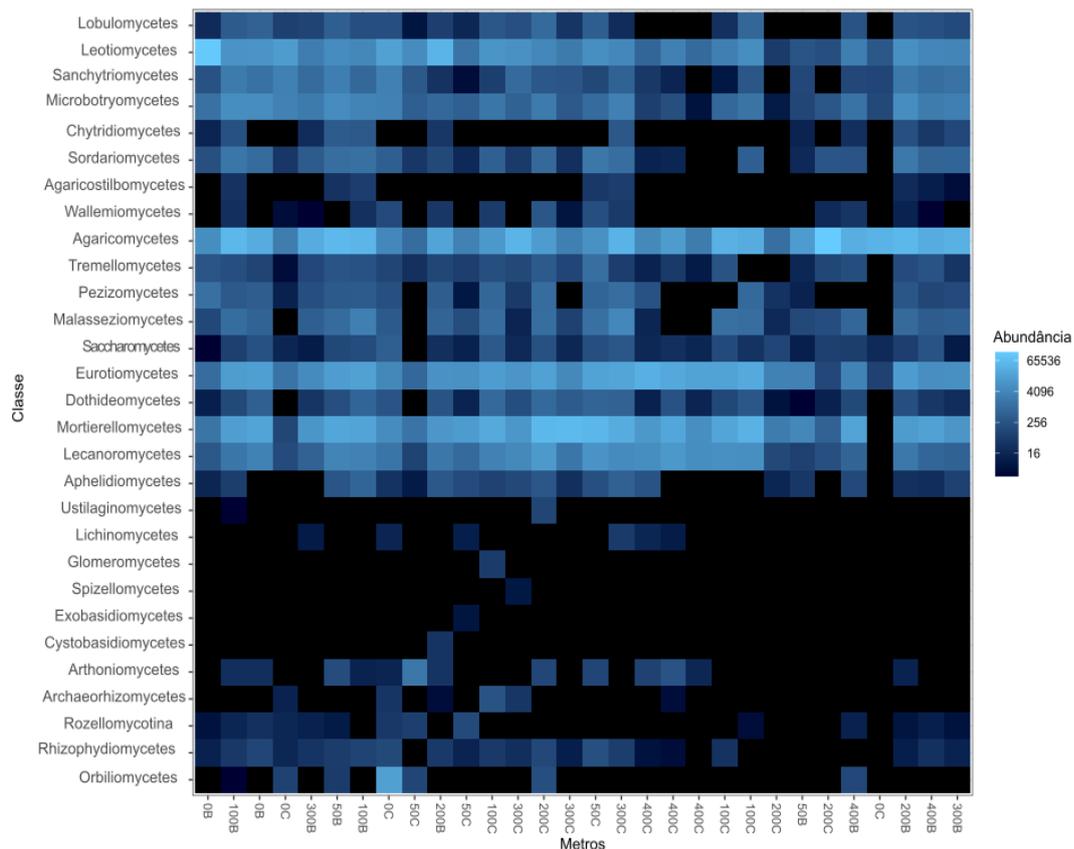


Figura 4. Mapa de calor demonstrando a abundância relativa de cada Classe em cada amostra de solo (expressa em metros) das geleiras Collins e Baranowski.

Um total de 1.169 ASVs (40%) foi classificada no nível de Ordem, com dominância de Verrucariales 175 ASVs (15%), Mortierellales 119 ASVs (10%), e Helotiales 118 ASVs (10%). A classificação em âmbito de Família apresentou 137 representantes de 1.015 ASVs (34%) classificadas, com a predominância de Verrucariaceae 175 ASVs (17%), Mortierellaceae 118 ASVs (12%) e Peniophoraceae 88 ASVs (9%). Foi classificado um total de 190 Gêneros correspondentes a 897 ASVs (30%), sendo os mais abundantes *Verrucaria* com 155 ASVs (17%), *Mortierella* com 118 ASVs (13%) e *Peniophora* com 86 ASVs (10%).

Ao avaliar a prevalência dos grupos fúngicos no conjunto de dados, notamos que Filos Ascomycota, Basidiomycota e Mortierellomycota foram os mais prevalentes nas amostras estudadas (Figura 5).

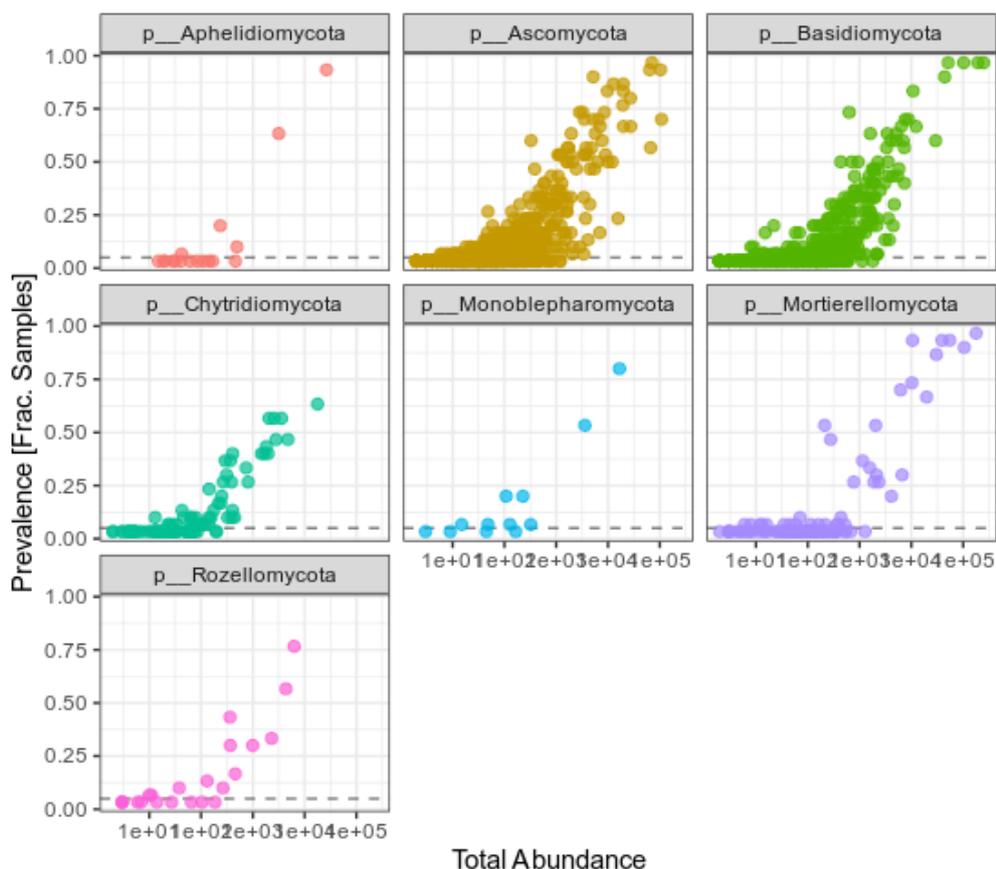


Figura 5. Gráfico de prevalência (prevalência de taxa versus contagem total) representando a diversidade de filo entre as amostras. Cada ponto corresponde a um táxon diferente ou único. O eixo y representa a fração das amostras que esses táxons estão presentes e eixo x, corresponde a escala logarítmica.

3.3. Estrutura da comunidade fúngica da cronossequência das geleiras Baranowski e Collins

A abundância relativa dos grupos filogenéticos das amostras do recuo da geleira Baranowski e Collins com base nas sequências ITS revelou que o Filo Basidiomycota (50%) apresentou abundância relativa semelhante quando comparado às amostras das duas geleiras estudadas, pois foi o Filo mais abundante tanto no transecto da geleira Collins (35%) como no da Baranowski (26%). A maior abundância relativa do Filo foi encontrada em pontos intermediários no transecto das duas geleiras: Collins a 200 m (35%) e Baranowski a 100 m (25%). Os Filos Mortierellomycota (69%) e Ascomycota (54%) foram mais frequentes nas amostras do solo da Collins. O Filo Ascomycota apresentou abundância semelhante nas duas geleiras (~36%) quando a avaliação foi realizada de maneira individual, com predominância a 100 m (23%) na geleira Collins e 0 m (15%) na Baranowski.

Mortierellomycota compôs 25% da comunidade fúngica da geleira Collins com maior abundância a 300 m (29%) e menor abundância a 0 m (2%), enquanto para as amostras da geleira Baranowski foi responsável por compor 14% da abundância fúngica com predominância a 400 m (23%). O Filo Chytridiomycota apresentou maior abundância relativa nas amostras da geleira Baranowski (69%) quando comparado com a abundância encontrada nas amostras da geleira Collins (Figura 6). O Filo representou 3% da abundância relativa na Baranowski sendo mais encontrado a 100 m (27%), enquanto na geleira Collins representou 1% da abundância relativa com maior prevalência a 300 m (33%).

Os Filos Monoblepharomycota, Rozellomycota, Aphelidiomycota corresponderam a 1 % da abundância relativa nas amostras das duas geleiras. O Filo Glomeromycota só foi encontrado nas amostras da geleira Collins (1%) a 100 m.

Os Filos mais ricos em ASVs encontrados nas amostras do recuo da geleira Baranowski foram Ascomycota (389 ASVs), Basidiomycota (324 ASVs), Mortierellomycota (58 ASVs) e Chytridiomycota (47 ASVs). Enquanto para as amostras da geleira Collins houve predominância dos Filos Ascomycota (750 ASVs), Basidiomycota (457 ASVs), Mortierellomycota (87 ASVs), Chytridiomycota (76 ASVs) e (1 ASVs) sendo representado por 59 *reads*.

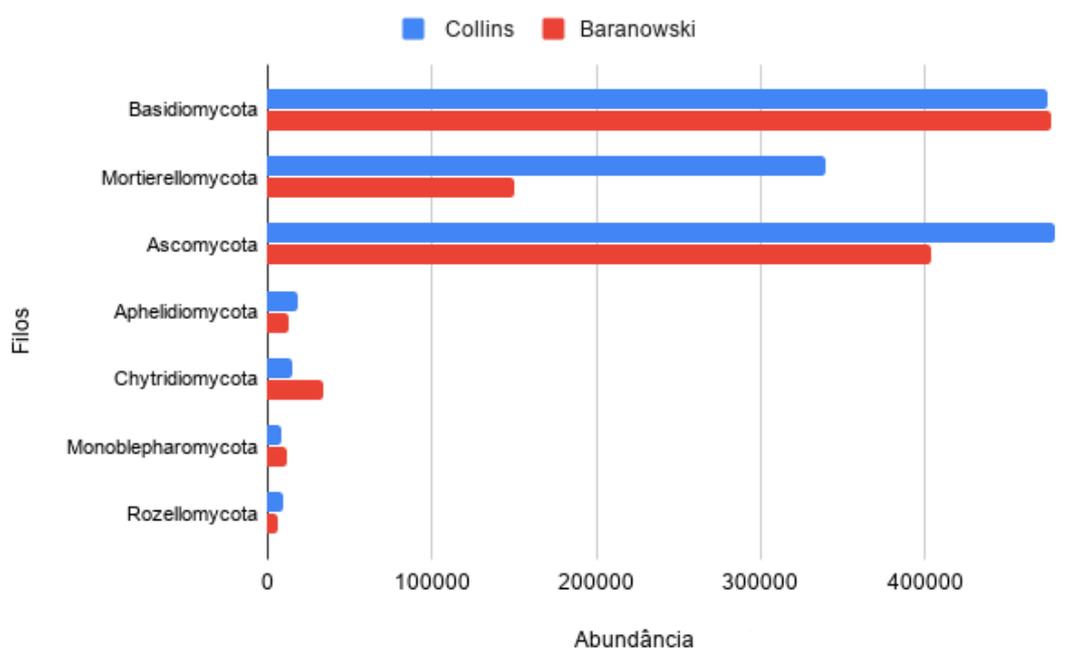


Figura 6. Abundância das sequências classificadas ao nível de Filo das amostras das geleiras Collins e Baranowski.

Para amostras do recuo da geleira Baranowski, foram identificadas 26 Classes. A Classe Agaricomycetes, estava presentes em todas as amostras (25% a 100 metros), sendo o grupo mais abundante (40% abundância relativa), sendo também o grupo mais rico (160 ASVs), seguido pelos Leotiomycetes (22% abundância relativa, 73 ASVs), sendo mais abundante a 0 metro (62%) e Mortierellomycetes (16% abundância relativa, 58 ASVs) com 22% de sua abundância relativa a 400 metros (Figura 6).

Com relação às amostras do solo do recuo da geleira Collins, foram identificadas 28 Classes, sendo o Agaricomycetes o táxon mais comum (abundância relativa de 38 %), porém não mais rico (218 ASVs), seguido pelos Mortierellomycetes com 30% de abundância relativa e um total de 87 ASVs, Eurotiomycetes representado por 16%, sendo considerado a Classe mais rica com 262 ASVs. Todas as Classes mencionadas tiveram predominância a 400 metros (Figura 6). Os membros dos Spizellomycetes (Chytridiomycota) estavam presentes apenas na amostra 300 metros de recuo e Exobasidiomycetes (Basidiomycota) apenas a 50 metros.

A classificação revelou a presença de 55 Ordens dentre as ASVs classificadas, com maior abundância de ordens pertencentes ao Filo Basidiomycota (Russulales e Polyporales, 20% cada) nos solos de recuo da geleira Baranowski, predominantemente a 100 m. Seguindo da Ordem Thelebolales (19%) representante de Ascomycota, com maior abundância na amostra de 0 metro e como Mortierellales (17%) pertencente ao Filo Mortierellomycota, mais abundante a 400 metros. A riqueza em ASVs apresentou a dominância de Verrucariales (61 ASVs), Mortierellales (58 ASVs), Agaricales (44 ASVs) e Russulales (42 ASVs).

As amostras provenientes dos solos de recuo da Collins apresentaram um total de 64 Ordens, com maior abundância de Mortierellales (32%), seguido de Verrucariales (16%), Russulales (14%) e Polyporales (9%). Todas as ordens mencionadas apresentaram maior abundância relativa a 400 m do transecto. As Ordens dominantes foram Verrucariales (155 ASVs), Helotiales (91 ASVs), Mortierellales (87 ASVs) e Russulales (65 ASVs).

As amostras da geleira Baranowski apresentaram um total de 707.935 *reads* classificados em gênero, correspondendo a 2.088 ASVs e 122 gêneros. Os taxa que apresentaram maior abundância relativa e riqueza foram *Peniophora* (25%, 42 ASVs), *Mortierella* (21%, 58 ASVs), *Verrucaria* (12%, 56 ASVs) e *Thelebolus* que embora tenha apresentado um número alto de reads (103.716) correspondendo a 15% de

abundância, apresentou uma riqueza de 2 ASVs, sendo 94% da abundância encontrada a 0 metros.

Para as amostras da geleira Collins um total de 896.206 *reads* classificados em gênero foi obtido, compreendendo 1.377 ASVs e 161 gêneros. Os representantes com maior abundância e riqueza de ASVs foram *Mortierella* (38%, 86 ASVs), *Peniophora* (21%, 63 ASVs) e *Verrucaria* (16%, 137 ASVs). Todos os gêneros mencionados apresentaram maior abundância a partir de 100 m de recuo.

3.4. A estrutura do microbioma do recuo das geleiras Collins e Baranowski

3.4.1. O core do microbioma

O core do microbioma do total de amostras dos solos de recuo das duas geleiras estudadas, ou seja, a estrutura principal do microbioma com 50% de prevalência e 1% de abundância relativa foi constituída de 96 ASVs (Figura 7; Anexo 1). Um total de 81% das ASVs que compõe o core do microbioma foi classificado a partir de Filo, com a predominância de Ascomycota (47,44%) seguido de Basidiomycota (25,64%) (Tabela 7), revelando que os táxons principais são mais estáveis e abundantes (Figura 8). Para as amostras de solos da geleira Baranowski foi observada a presença dos filos identificados em todo o recuo da geleira, enquanto para a Collins houve heterogeneidade na cronossequência estudada.

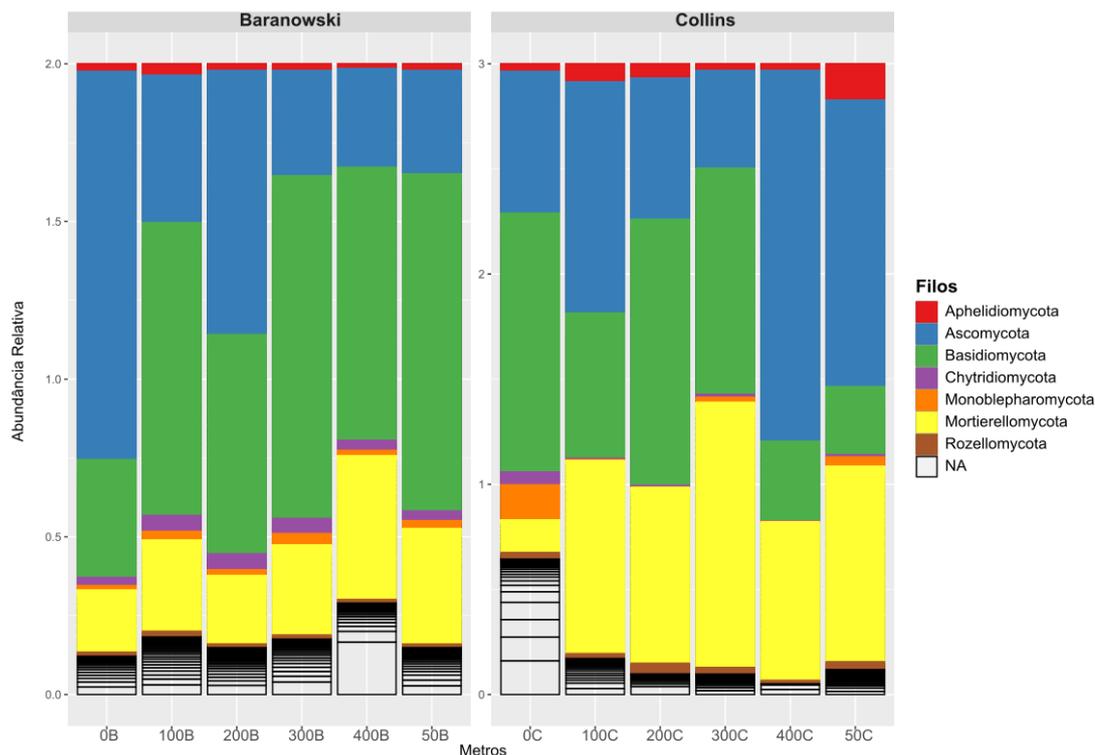


Figura 7. Abundância relativa em âmbito de Filo do Core Microbioma das geleiras Baranowski e Collins

Tabela 7. Core Microbioma das amostras das geleiras Baranowski e Collins em âmbito de Filo.

Core Microbioma (%)	
Ascomycota	47,44%
Basidiomycota	25,64%
Mortierellomycota	14,10%
Chytridiomycota	5,13%
Aphelidiomycota	2,56%
Monoblepharomycota	2,56%
Rozellomycota	2,56%

Ao avaliar as ASVs prevalentes que compõe a estrutura do conjunto de dados, observamos que a ASV 1 representante da Família Meruliaceae (Basidiomycota) apresentou prevalência e maior abundância na maior parte das amostras. Sendo, 54% da abundância relativa encontrada nas amostras da geleira Baranowski, com maior abundância no solo coletado a 100 metros do transecto, e 46% da abundância relativa da ASV1 foi encontrada nas amostras da geleira Collins, com maior abundância no solo coletado a 200 m (43%).

Representantes do Filo Basidiomycota, como ASV 2 e ASV 7 pertencentes ao gênero *Peniophora* também mostraram alta prevalência e abundância na maior parte das amostras (Anexo 3). Algumas ASVs (ASV 3, 5, 11, 14) do gênero *Mortierella* também demonstraram alta prevalência e abundância no conjunto de amostras (Figura 9).

A estrutura principal do microbioma do total de amostras que compõe o transecto das duas geleiras apresentou 60 ASVs classificadas ao nível de Classe, com dominância de Leotiomycetes (20% do total de ASVs classificadas), Mortierellomycetes (18%), Agaricomycetes e Eurotiomycetes (9%). E 46 ASVs obtiveram classificação até o nível de gênero, com maior riqueza de *Mortierella* (24%), *Verrucaria* (12%), *Coleophoma* (9%) e *Psoroma* com 7%.

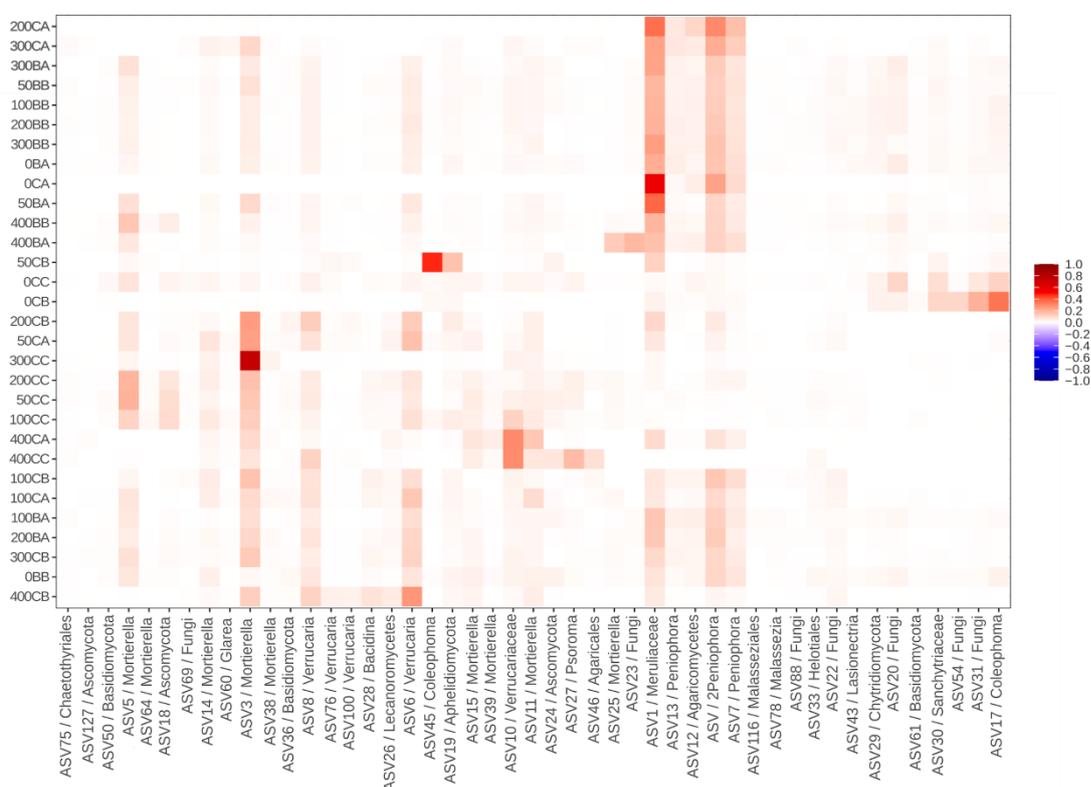


Figura 8. Análise baseada na prevalência (50%) e abundância (1%) das ASVs presentes no total de amostras da geleira Baranowski e Collins. Na figura estão demonstradas as 50 ASVs com maior prevalência.

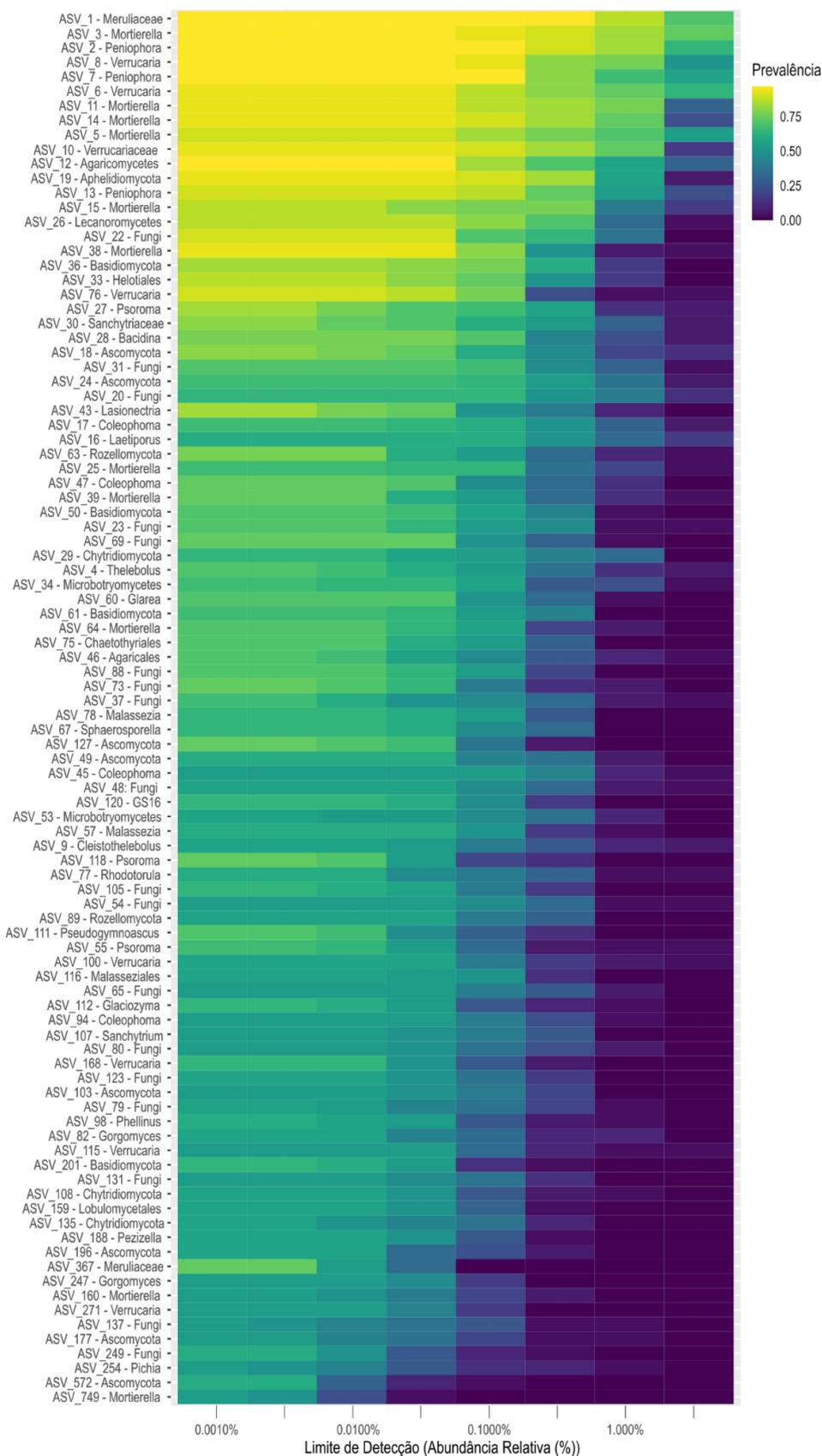


Figura 9. Mapa de calor do total de ASVs com prevalência de 50% e abundância de 1% no conjunto de dados das geleiras Baranowski e Collins

Ao avaliar o core do microbioma das geleiras de forma independente as amostras do transecto do solo exposto pela geleira Baranowski revelaram um total de 235 ASVs, enquanto para as amostras de solo da geleira Collins o valor de ASVs foi de 51.

A estrutura principal dos solos da geleira Baranowski foi composta por 7 Filos com a predominância de Ascomycota 58 ASVs (38.4%) e Basidiomycota 56 ASVs (37%). Os resultados revelaram um total de 17 Classes diferentes, com a predominância da Classe Agaricomycetes com 24 ASVs (22%), seguido Leotiomycetes (17%), Mortierellomycetes e Microbotryomycetes com 13% cada. O Filo Chytridiomycota foi observado apenas na estrutura principal da microbiota da geleira Baranowski, apresentando ASVs com alta prevalência e abundância variada (Figura 10). Os taxas com maior prevalência e abundância foram *Peniophora* (ASV 2 e 7), *Meruliaceae* (ASV 1), *Verrucaria* (ASV 6) *Mortierella* (ASV 3 e 5) (Figura 11).

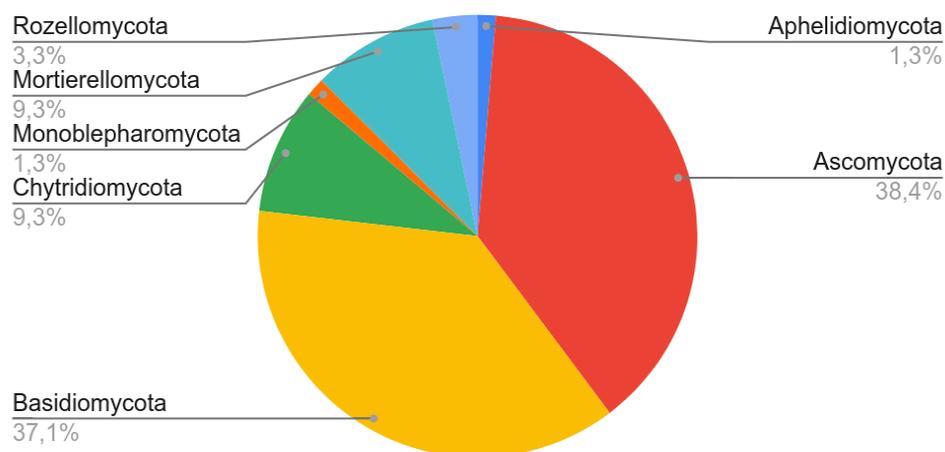


Figura 10. Filos presentes no Core do Micobioma das amostras de solos da geleira Baranowski.

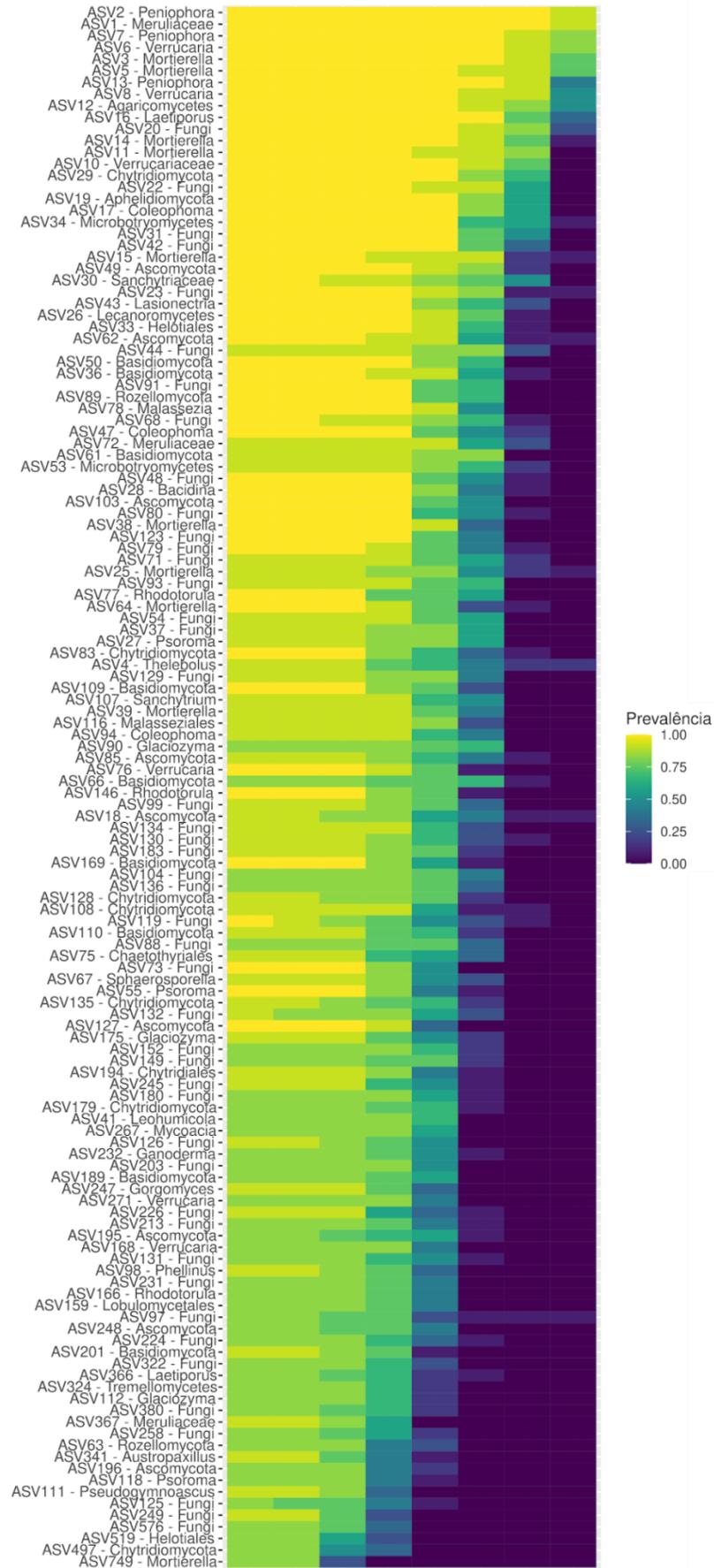


Figura 11. Core do Micobioma presente nas amostras de solo da geleira Baranowski.

Nas amostras de solo da geleira Collins foram observados 6 Filos, com a predominância também de Ascomycota 24 ASVs (53%) e Basidiomycota 10 ASVs (22%) (Figura 12). Foram identificadas um total de 9 Classes diferentes, com a predominância de Agaricomycetes 8 ASVs (22%), Eurotiomycetes e Mortierellomycetes (7 ASVs), representando 19% das ASVs classificadas em âmbito de Classe. A ASV 1 classificada como família Meruliaceae e os gêneros *Peniophora* (ASV 2) e *Mortierella* (ASV 3) apresentaram maior prevalência e abundância na estrutura principal do microbioma dos solos da geleira (Figura 13).

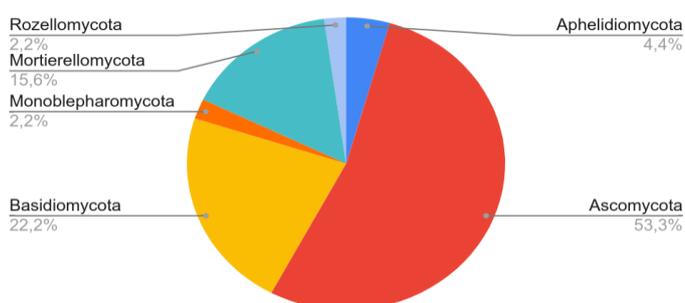


Figura 12. Filos presentes no Core do Micobioma das amostras de solos da geleira Collins.

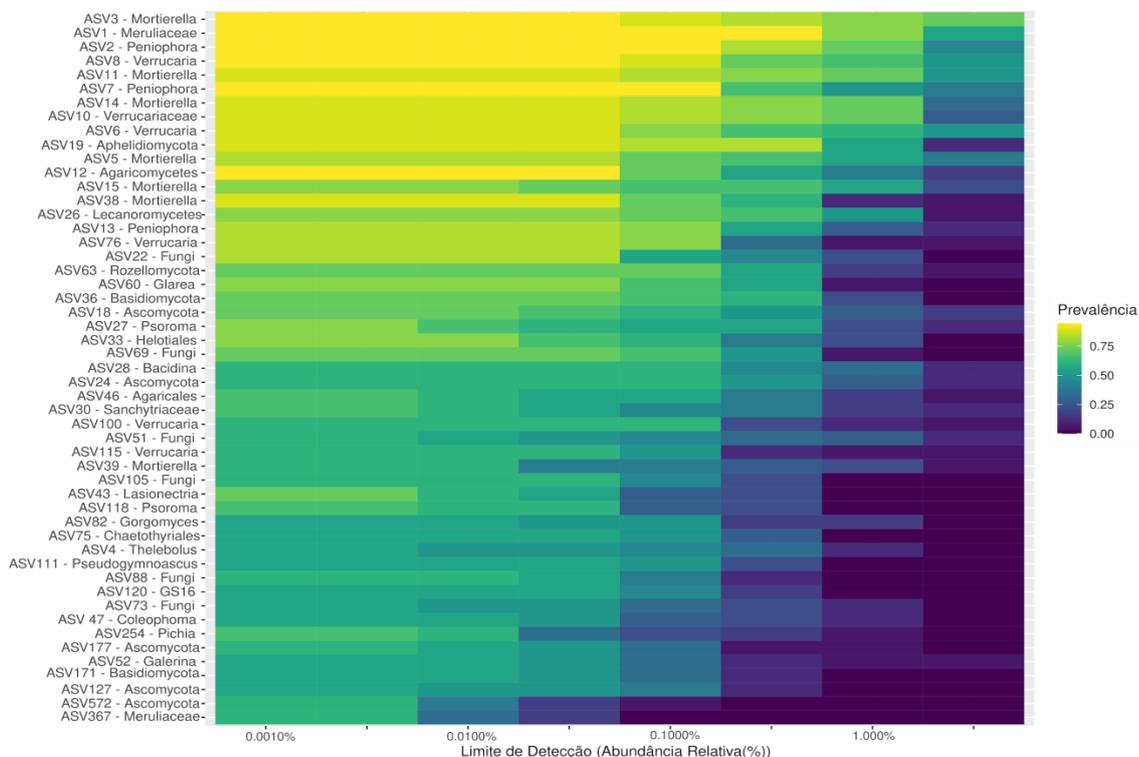


Figura 13. Core do Micobioma associado as amostras de solo da geleira Collins.

As amostras das geleiras Baranowski e Collins compartilharam 44 ASVs (18.3%; Anexo 2) de sua estrutura principal. O core do microbioma compartilhado foi composto por 6 Filos, sendo o Filo Ascomycota dominante (40%), seguido pelo Basidiomycota e Mortierellomycota (18% cada). Um Total de 72% das ASVs compartilhadas foi identificado ao nível de Classe, com predominância de Mortierellomycetes (25%), Agaricomycetes (22%) e Leotiomycetes (19%). As ASVs classificadas ao nível de gênero (51%) revelaram a predominância de *Mortierella*, representando 36% das ASVs classificadas.

Somente 7 ASVs obtidas nas amostras da geleira Collins não compõe o core das amostras de solo de recuo da geleira Baranowski. Essas ASVs são compostas por representantes do gênero *Verrucaria* (ASV 100 e 105), *Galerina* (ASV 52), *Pichia* (ASV 254), dois fungos classificados somente ao nível de Filo, Ascomycota (ASV 171) e Basidiomycota (ASV 171) e um representante com classificação somente ao nível de Reino (ASV 51). Um total de 190 ASVs representa a estrutura da comunidade microbiana exclusiva das amostras de solo da geleira Baranowski (Figura 14).

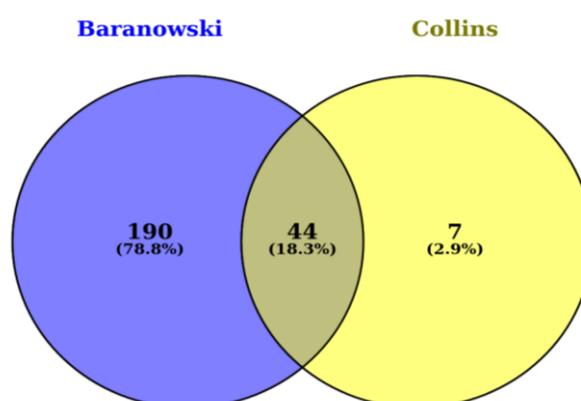


Figura 14. Core do microbioma as amostras das geleiras Baranowski e Collins e número de ASVs compartilhado.

3.4.2. Espécies indicadoras

A análise de espécies indicadoras foi empregada para identificar padrões de associação dos táxons com as amostras do transecto das geleiras Baranowski e Collins. Do total de 3025 ASV analisadas, 158 espécies foram selecionadas como espécies preditoras ($p < 0,05$), sendo 140 das amostras da Baranowski (Anexo 3) e 18 da Collins (Anexo 4). Dentre as espécies indicadoras encontradas nas amostras do recuo da geleira Baranowski 56% foram classificadas ao nível de Filo, apresentando a predominância de Basidiomycota (32 ASV), com representação dominante das

Classes Agaricomycetes (13 ASVs) e Microbotryomycetes (7 ASVs). Para o Filo Ascomycota (28 ASV) as Classes dominantes foram Leotiomycetes (6 ASVs). Ao nível de Ordem, 34% foram classificadas e apresentaram a predominância de Polyporales (9 ASVs) Basidiomycota e gênero *Verrucaria* com 5 ASVs. A geleira Collins apresentou 18 ASVs indicadoras, sendo 72% identificadas ao nível de Filo com predominância de Ascomycota (9 ASVs) e da Classe Eurotiomycetes (4 ASVs).

3.5. Diferenças na estrutura da comunidade fúngica entre as amostras do recuo da geleira Baranowski e Collins

3.5.1. Agrupamento Hierárquico

O agrupamento hierárquico, utilizado para examinar como as amostras agrupam com relação a medida de (dis)similaridade taxonômica, revelou que as amostras foram agrupadas em dois clados distintos, sendo um contendo somente as amostras de solo do recuo da geleira Baranowski (vermelho) e o outro contendo as amostras da geleira Collins (azul) (Figura 15).

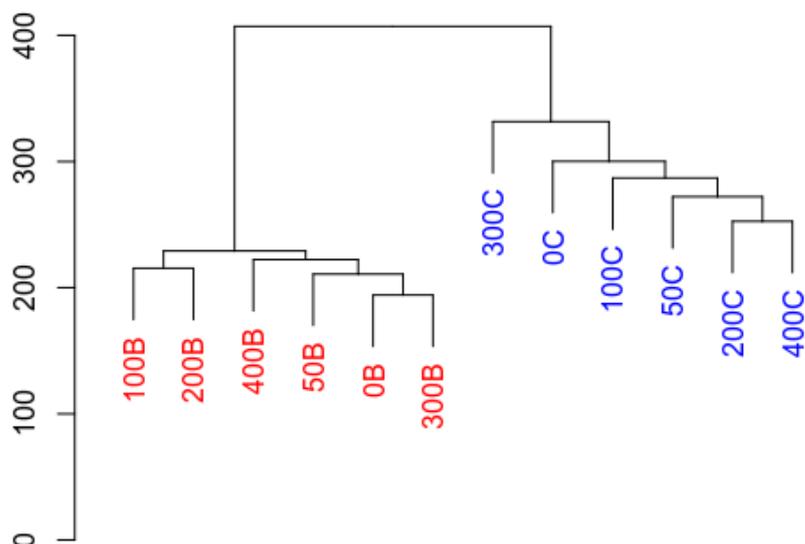


Figura 15. Agrupamento hierárquico das amostras do transecto das geleiras Baranowski (vermelho) e Collins (azul) realizado por meio da ferramenta Deseq2 e matriz de distância Euclidiana.

3.5.2. Modelo Dirichlet-multinomial

A análise HMP (*Hypothesis Testing and Power Calculations for Comparing Metagenomic Samples*) utiliza a distribuição Dirichlet-Multinomial, sendo assumida para os dados do microbioma baseado na taxonomia e o teste de hipótese nula é realizado testando-se a diferença na localização (distribuição média de cada taxa) entre os grupos, responsável pela super-dispersão nos dados da contagem.

No teste de HMP as amostras foram agrupadas em dois grupos, sendo um com Filos mais abundantes e outro com Filos raros ($\leq 1\%$ de abundância relativa) conforme La Rosa et al. (2011). Ao avaliar o grupo de Filos abundantes, o teste HMP rejeita a hipótese nula de não haver diferença na distribuição dos filotaxas entre as duas geleiras (de acordo com nossas expectativas) ($p = 0,003$). Para o grupo de filotaxas raras, não houve diferença significativa entre as amostras ($p = 0,299$). Para avaliar os grupos de filotaxas responsáveis pela diferenciação entre a comunidade das duas geleiras foram realizadas análises de abundância diferencial.

3.5.3. Abundância diferencial

Ao testar a abundância diferencial de acordo com as amostras do recuo das duas geleiras, os resultados revelaram um total de 72 ASVs abundantes (com FDR p -valor $< 0,1$).

Das ASVs que apresentaram diferenças entre as geleiras 62% continham classificação ao nível de Filo, sendo 47% representantes do Filo Ascomycota, 42% Basidiomycota, 7% Chytridiomycota e 4% Mortierellomycota. A maior parte das ASVs responsáveis pela diferença nas comunidades entre as duas geleiras foi encontrada nas amostras do recuo da geleira Baranowski. A ASV 16 classificada como representante do gênero *Laetiporus* (Basidiomycota), seguida de ASV 43 pertencente ao gênero *Lasionectria*, (Ascomycota) e a ASV 34 (Classe Microbotryomycetes, (Basidiomycota) apresentaram maior abundância e prevalência na geleira Baranowski, exercendo um importante papel na diferenciação das duas geleiras (Figura 16). A classificação das ASVs que compõe a abundância diferencial está disponível no Anexo 3.

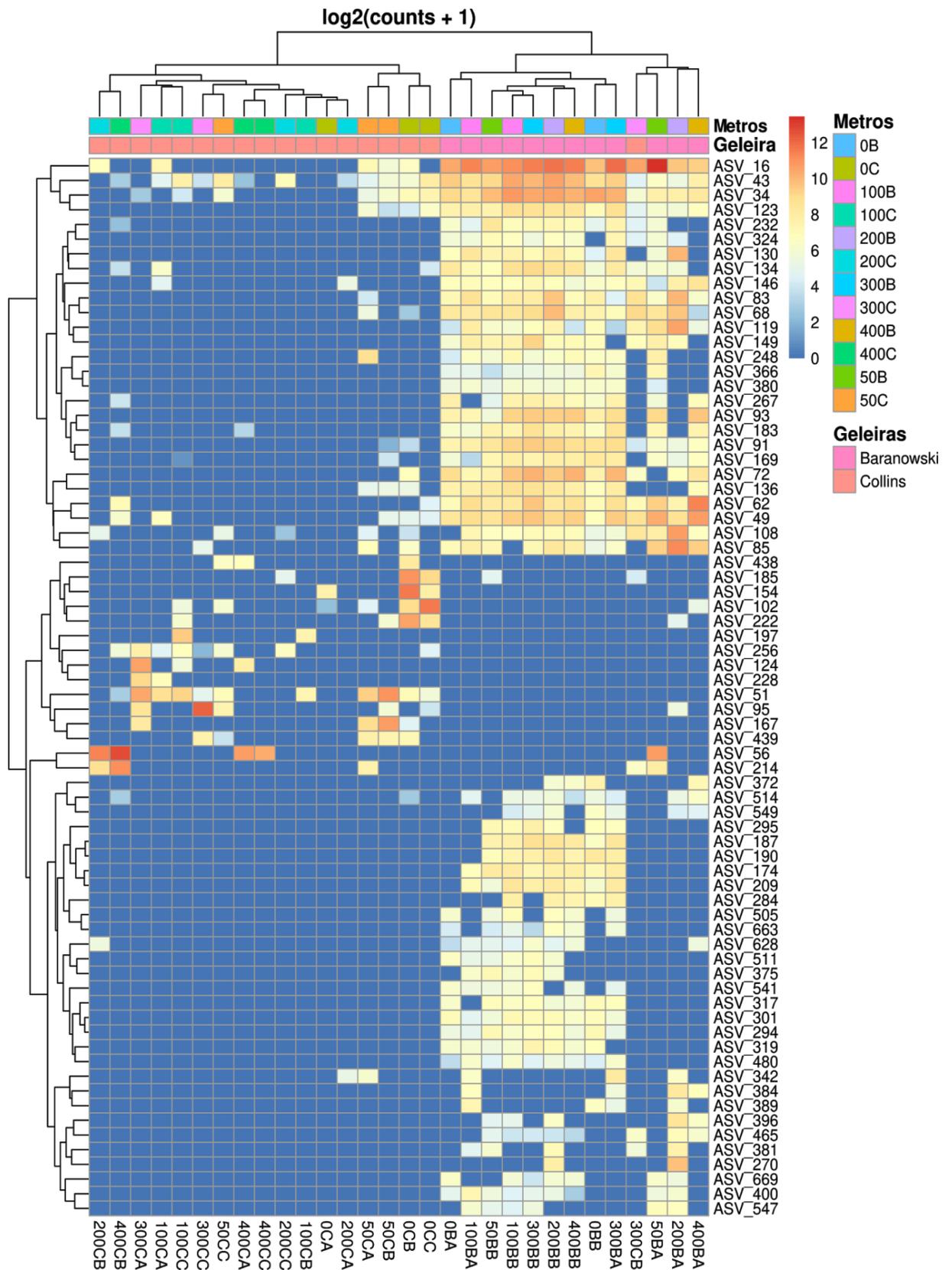


Figura 16. Abundância diferencial das amostras derivadas do transecto das geleiras Baranowski e Collins.

Dentre as ASVs pertencentes à abundância diferencial, 24 tiveram classificação atribuída ao nível de Gênero correspondendo a 13 representantes, com dominância de *Peniophora* (21%). Os gêneros representantes dos filos Ascomycota e Basidiomycota foram predominantes (Figura 17).

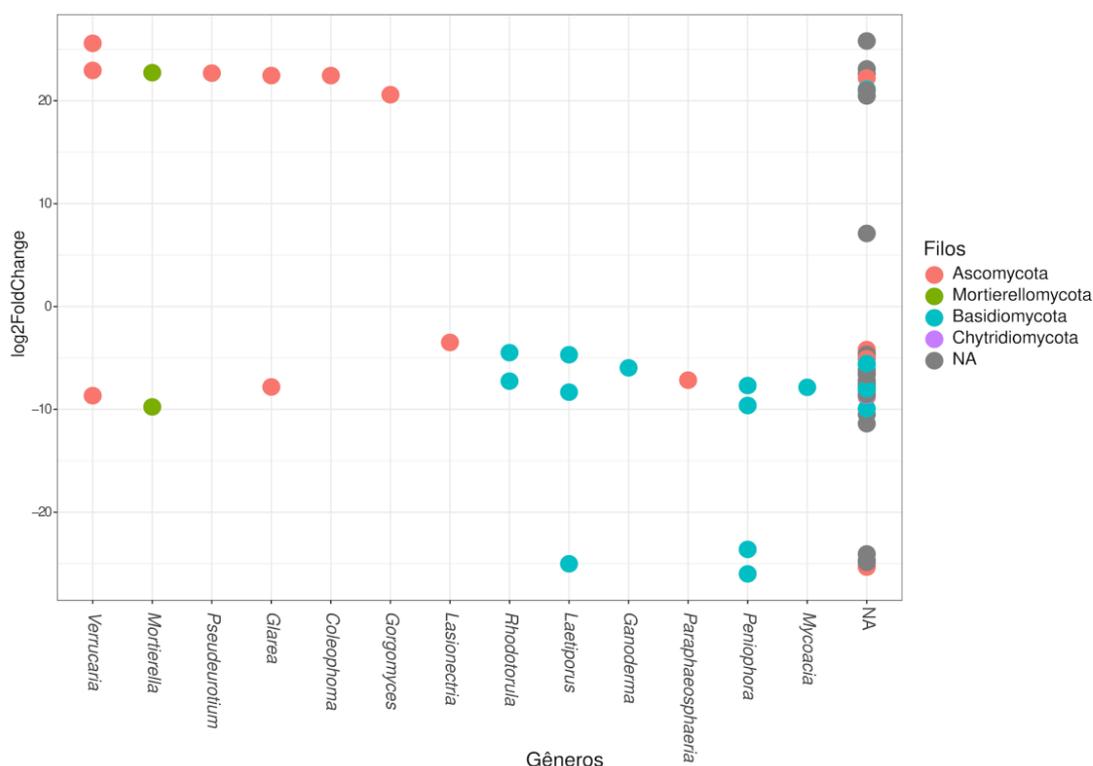


Figura 17. Análise de abundância diferencial entre as amostras das duas geleiras pelo método Deseq. As principais ASVs diferentemente abundantes no recuo da geleira Collins versus geleira Baranowski. Alterações no log2 razão de expressão foram mostradas para ASVs com um valor p corrigido por BH-FDR <0,1 (13 táxons em âmbito de gênero). Cada ponto reflete um ASV distinto. Os ASVs são apresentados pelos gêneros fúngicos no eixo x e colorido pelo filo.

3.6. Diversidade e riqueza fúngica dos solos de recuo de geleira

Para a avaliação da diversidade de espécies para cada ponto amostrado (em metros) do recuo das duas geleiras estudadas foram utilizados cinco índices de biodiversidade ecológica: quatro baseados em medidas de diversidade sendo índice de diversidade de Shannon, índice de Simpson, inverso do índice de Simpson e Fisher e o índice de riqueza Chao1 (Tabela 8; Figura 18). A biodiversidade estimada de Shannon para os pontos amostrados da geleira Baranowski variou de 3,50 (0m) a 4,63 (100m), enquanto que para os pontos da geleira Collins a variação foi de 3,82 (200 e 400m) a 4,71 (100m). As amostras do recuo das duas geleiras estudadas apresentaram valores semelhantes quanto ao índice de Simpson. O índice de

Simpson inverso (InvSimpson) nas amostras da geleira Baranowski variou de 6,99 (0m) a 34,58 (100m) e nas amostras da geleira Collins a variação foi de 15,70 (200 m) a 42,24 (100 m). O índice de Fisher para as mostras das geleiras Baranowski e Collins variou de 52,90 (0 m) a 80,18(100 m) e 47,71 (200 m) a 112,13 (300 m), respectivamente (Tabela 8). A riqueza estimada das espécies expressa pelo índice de Chao1 apresentou variação de 655,06 (100 m) a 401 (300 m) para as amostras da geleira Baranowski e de 896 (300 m) a 415,72 (200m) para as amostras da geleira Collins.

Os índices de Shannon, Simpson, Fisher e Chao1 sugerem que o ponto amostrado a 0 m da geleira Baranowski é menos diverso do que os demais e a maior diversidade e riqueza foi encontrada a 100 m. As amostras do recuo da geleira Collins apresentaram um padrão diferente das do recuo de Baranowski, sendo a menor diversidade encontrada a 200 m (Shannon, Simpson inverso e Fisher), 100 m (Shannon e Simpson inverso) e a maior diversidade(Fisher) e riqueza (Chao1) a 300 m (Tabela 8).

Comparações pareadas foram feitas usando o teste de k de Wilcoxon para dados não paramétricos. O teste de Wilcoxon foi utilizado para correlacionar os índices de diversidade com as geleiras. De acordo com os resultados, as geleiras parecem não apresentar diferenças quanto à diversidade fúngica (Shannon $p = 0,68$, Simpson $p=0,68$ e Fisher $p=0,47$).

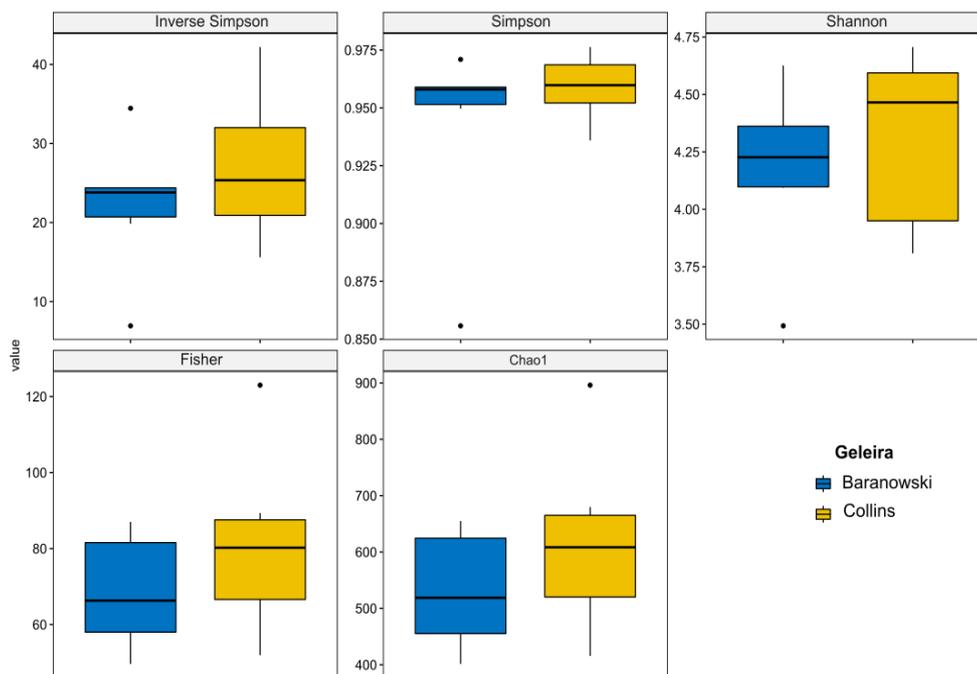


Figura 18. Índices de diversidade e riqueza. As amostras de cada recuo de geleira foram agrupadas para a construção dos boxplots.

Tabela 8. Índices de riqueza e diversidade para comunidade fúngica das amostras de solo do recuo da geleira Baranowski e Collins.

	Metros	N° ASV	Chao1	Shannon	Simpson	InvSimpson	Fisher
Baranowski	0	452	444,54	3,50	0,86	6,99	52,90
	50	489	487,9	4,35	0,96	24,45	61,47
	100	656	655,06	4,63	0,97	34,58	80,18
	200	646	649,46	4,37	0,96	24,45	80,15
	300	397	401,5	4,10	0,95	20,04	49,65
	400	537	549,72	4,11	0,96	23,23	67,92
Collins	0	623	621,11	4,34	0,96	28,55	80,98
	50	591	595,76	4,60	0,97	33,12	73,12
	100	674	679,78	4,71	0,98	42,24	79,86
	200	418	415,72	3,82	0,94	15,70	47,71
	300	902	896	4,60	0,95	22,16	112,13
	400	489	495	3,82	0,95	20,46	61,51

3.7. Variação na composição de espécies entre as amostras das geleiras Baranowski e Collins

Para analisar padrões de similaridade de composição de espécies entre as amostras de solo das geleiras Baranowski e Collins foi realizada a análise de componentes principais (PCA) conduzida com duas transformações diferentes. A distância de Hellinger (PCoA - Análises de coordenadas principais) e distância de Aitchison, onde aplicamos ao PCA a transformações da razão de log centralizada (CLR), uma abordagem utilizada em análises de dados composicionais (CoDA).

A Figura 16 corresponde aos dois primeiros componentes (PC1 e PC2) e reflete a quantidade relativa de informações explicada por cada eixo, conforme recomendado por Nguyen e Holmes (2019). Os resultados demonstram que as amostras se agruparam por geleira, não ocorrendo um grau de sobreposição.

Embora a PCA seja uma ferramenta de análise exploratória e visualização, utilizamos a análise de variação permutacional multivariada (PERMANOVA-Adonis) para dar rigor estatístico aos agrupamentos. Os resultados da análise de PCA e PERMANOVA revelaram diferenças significativas nas comunidades de fungos entre as geleiras ($p > 0,001$, $R^2 = 0.14$) (Figura 19).

A análise de PCoA com a distância de Hellinger confirmaram que as amostras das duas geleiras apresentam diferenças na composição das comunidades fúngicas por origem amostral (metros). O eixo 1 explica a maior porcentagem da variabilidade (18.25%). Podemos observar que grande parte das amostras do recuo da geleira Baranowski ficou agrupada, demonstrando possuir variabilidade semelhante. Ao avaliar a variação do eixo 2 (11.4%) podemos observar um gradiente de distribuição em metros para as amostras da geleira Collins (Figura 20).

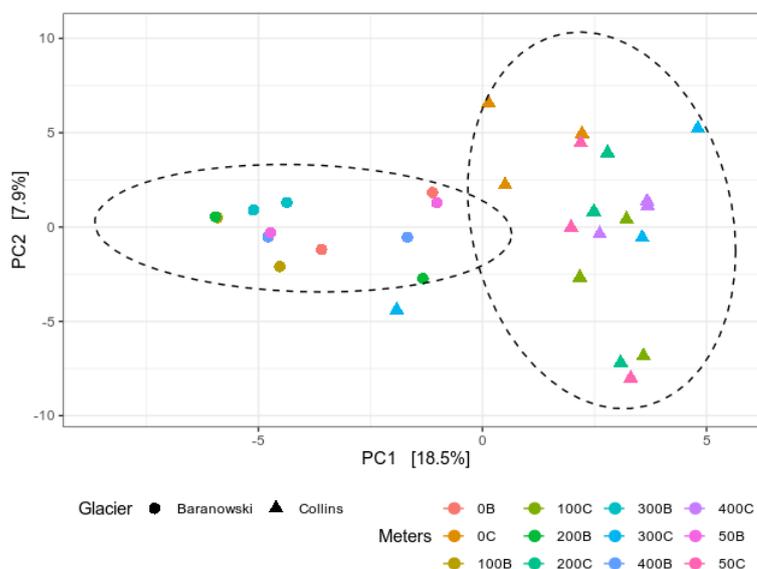


Figura 19. Análise de componentes principais (PCA) com a transformação CLR correlacionando a comunidade fúngica com as amostras do recuo da geleira Baranowski e Collins. Os números em metros terminados em “C” correspondem às amostras da geleira Collins e “B” da Baranowski

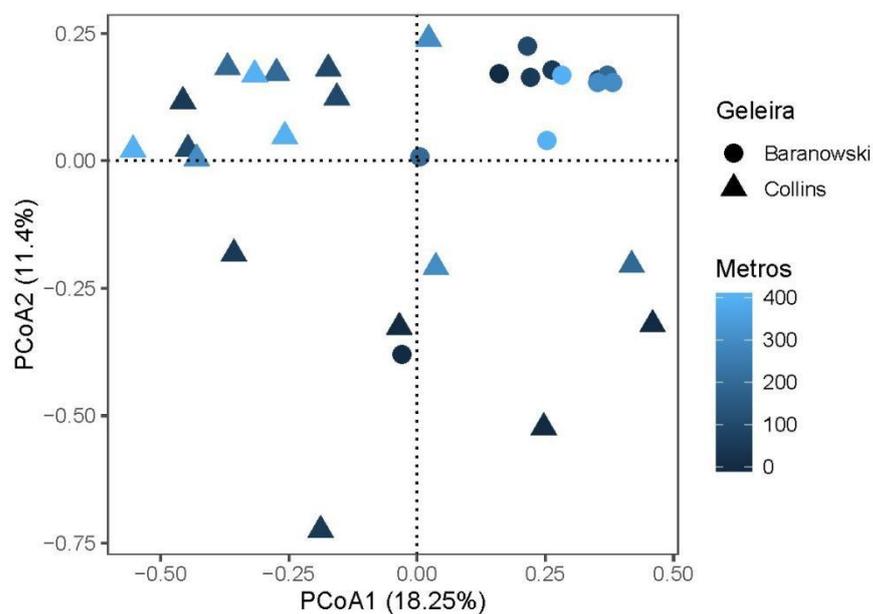


Figura 20. Análise de coordenadas principais utilizando a distância Hellinger correlacionando a comunidade Fúngica com as amostras do recuo da geleira Baranowski e Collins.

3.8. Correlações da estrutura das comunidades fúngicas com fatores ambientais

A análise de Redundância (RDA) foi utilizada para verificar a fração de explicação das variáveis preditoras sobre a comunidade fúngica do recuo das geleiras Baranowski e Collins. Por ser um método linear, os dados de abundância foram submetidos a transformação de Hellinger. Os resultados demonstraram que os pontos amostrados em metros das duas geleiras apresentaram distribuição semelhante à análise de PCoA. A estrutura da comunidade fúngica da Geleira Baranowski foi agrupada de forma independente e parece ter sido influenciada por Cálcio (Ca), e Silte (Figura 21). As amostras obtidas no início do recuo das duas geleiras parecem sofrer influência de Manganês (Mn). As amostras do recuo da Collins mostraram um comportamento heterogêneo, sofrendo influências de Potássio (K), Ferro (Fe) e Magnésio (Mg) (Figura 21).

A análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA) foi realizada para explicar a influência das variáveis explicativas (ambientais) sobre as variáveis respostas (taxa). De acordo com os resultados obtidos na análise de PERMANOVA, as variáveis ambientais que apresentaram influência estatística significativa sobre a comunidade dos microbiomas estudados foram Mn ($p < 0,01$) e Mg ($p = 0,05$).

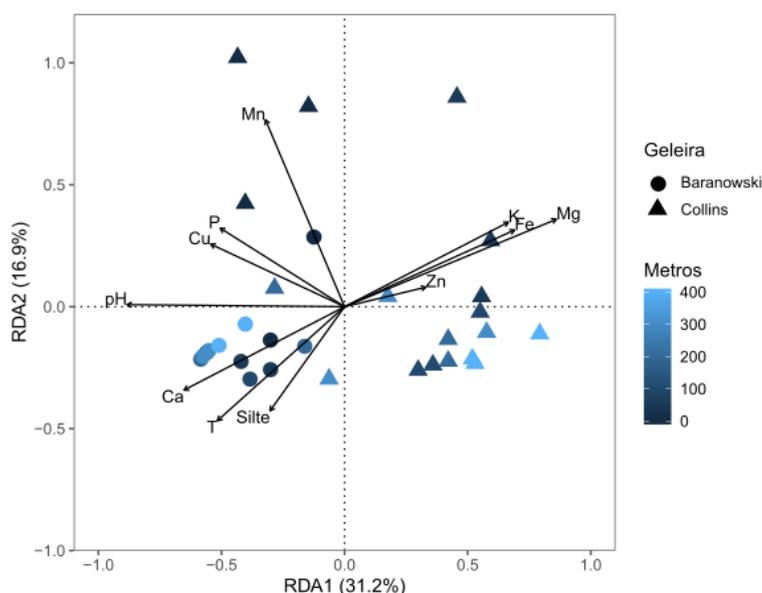


Figura 21. Gráfico de análise de redundância (RDA) utilizando a matriz de distância Hellinger, para visualizar os resultados do microbioma no espaço bidimensional para variáveis ambientais individuais nos dois locais, Collins (triângulo) e a Baranowski (círculo). Os símbolos coloridos representam os pontos amostrados em metros.

Visto que algumas variáveis ambientais parecem influenciar a organização da comunidade fúngica, analisamos se a ordenação produzida não é espacialmente estruturada, ou seja, se os locais espacialmente mais próximos possuem comunidades fúngicas semelhantes. A mudança temporal do recuo das geleiras representada pela distância geográfica e parâmetros ambientais foram correlacionados com a composição da comunidade, usando a medida de distância de Hellinger e correlação de Pearson por meio da análise de Mantel, sendo avaliado ao longo do recuo das geleiras Collins e Baranowski.

Testes parciais de Mantel para amostras da geleira Baranowski indicaram que os parâmetros ambientais do solo apresentaram efeito fortemente significativo em relação à distância em relação a geleira ($R=0.60$, $p=0.002$). No entanto, a dissimilaridade da composição da comunidade fúngica não teve efeito significativo quanto à distância em relação a geleira ($R=0.04$, $p=0.342$) e matriz de dissimilaridade ambiental ($R=0.21$, $p=0.118$). Efeitos significativos foram observados para as amostras da geleira Collins ao avaliar a dissimilaridade dos parâmetros ambientais com a distância geográfica ($R=0.39$, $p=0.002$), dissimilaridade da composição fúngica com a distância geográfica ($R=0.16$, $p=0.052$) e os parâmetros ambientais ($R=0.45$, $p=0.001$) (Figura 22).

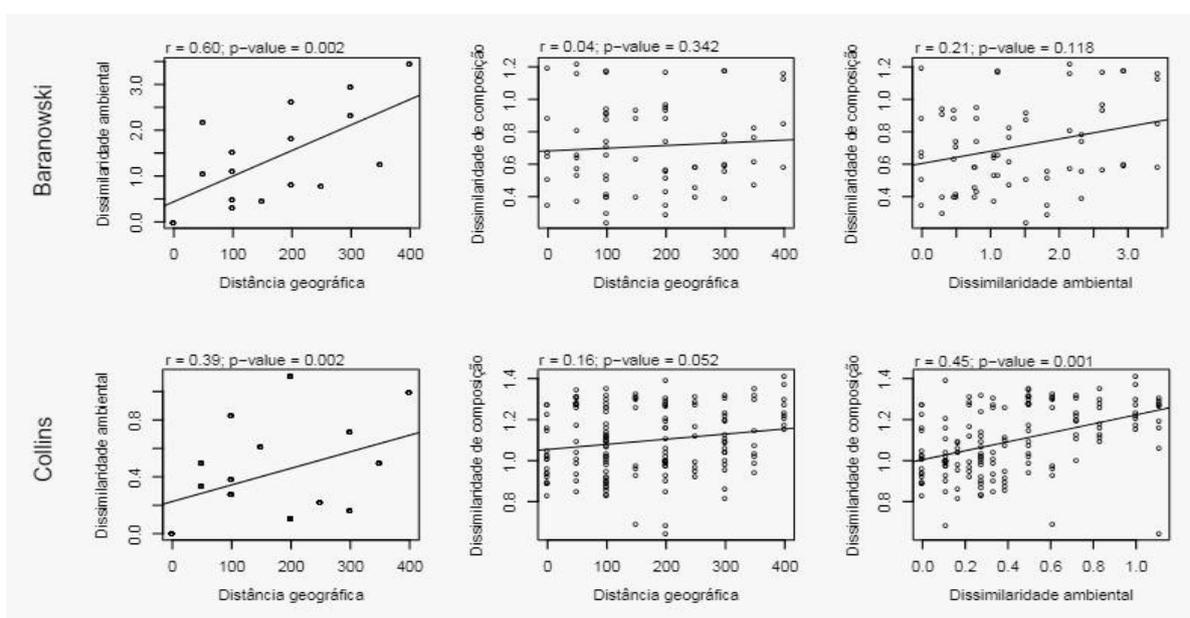
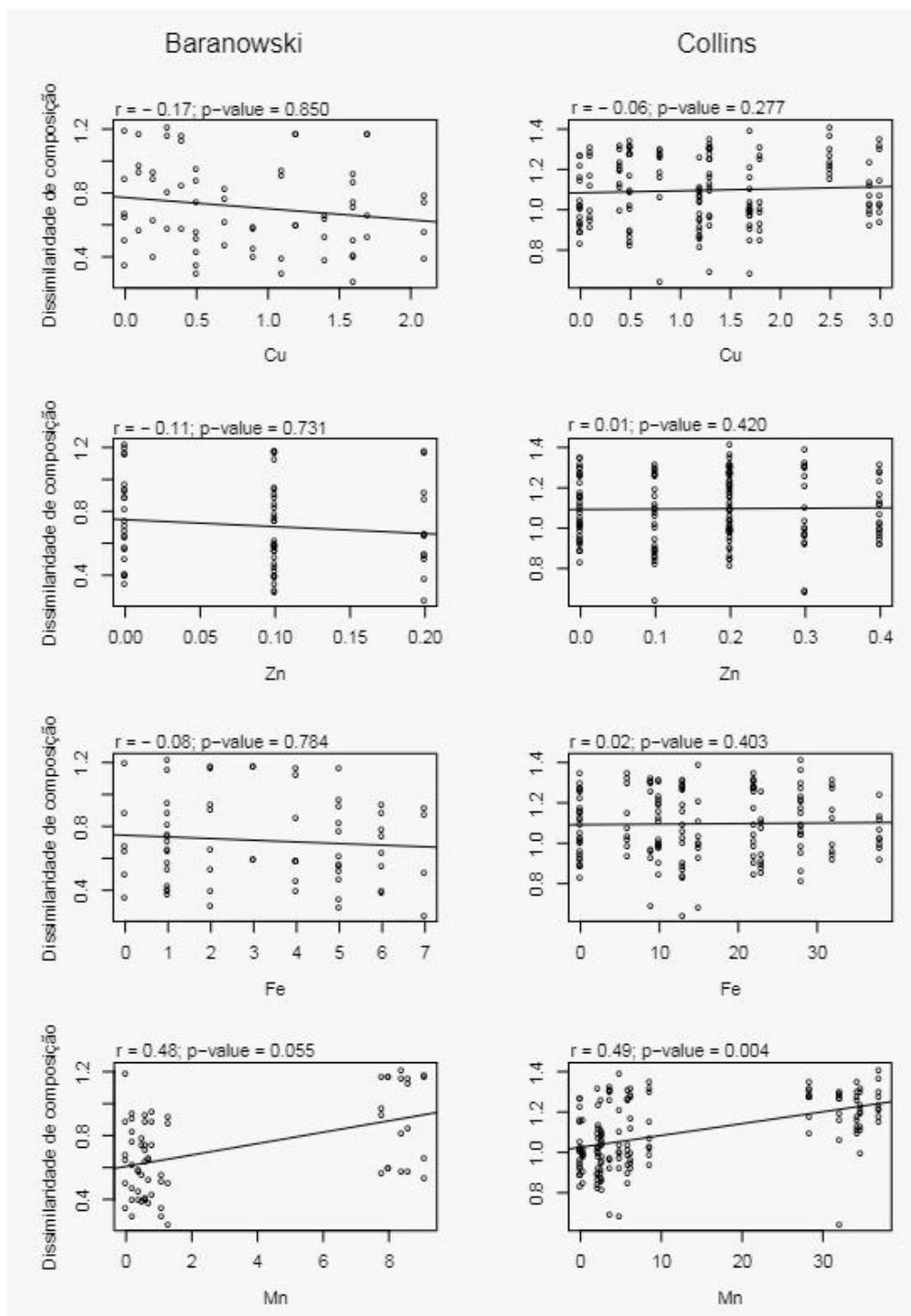
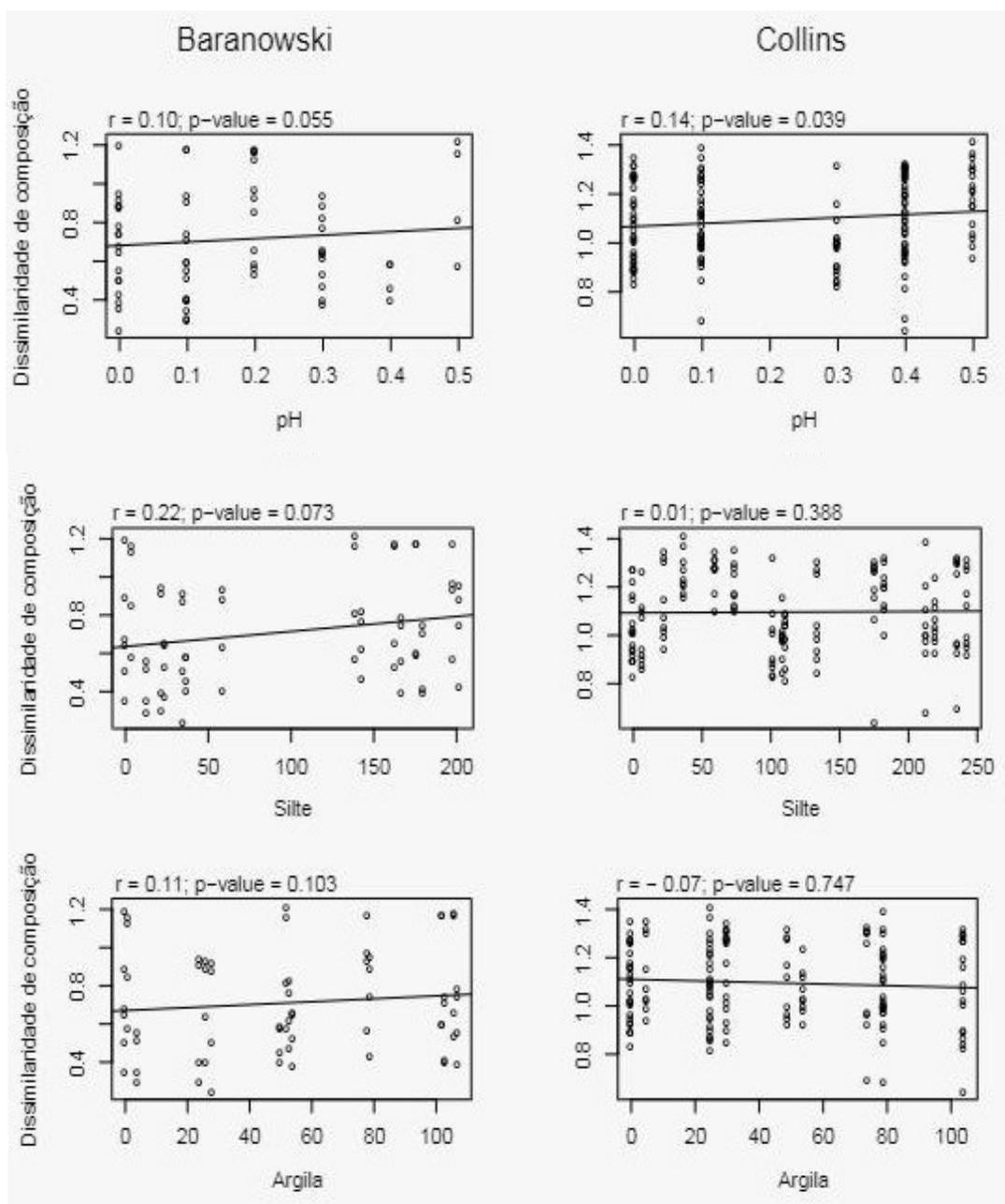


Figura 22. Resultados obtidos na análise de Mantel com a matriz de distância Hellinger e correlação de Person para os parâmetros de dissimilaridade ambiental, composição fúngica e distância geográfica para amostras do solo das geleiras Baranowski e Collins.

A análise também indicou que alguns dos parâmetros físico-químicos do solo tiveram efeito significativo na estrutura da comunidade. Os parâmetros ambientais que demonstraram significância quando correlacionados com as amostras da geleira Baranowski foi Manganês ($R = 0.48$, $p = 0.055$), pH ($R = 0.10$, $p = 0.055$) e Potássio ($R = 0.44$, $p = 0.039$). Ao avaliar dos dados referentes a geleira Collins, as variáveis pH ($R = 0.14$, $p = 0.039$), Manganês ($R = 0.49$, $p = 0.004$) e Fósforo ($R = 0.37$, $p = 0.004$) apresentaram efeito significativo na composição da comunidade fúngica pela correlação de Pearson (Figura 23).





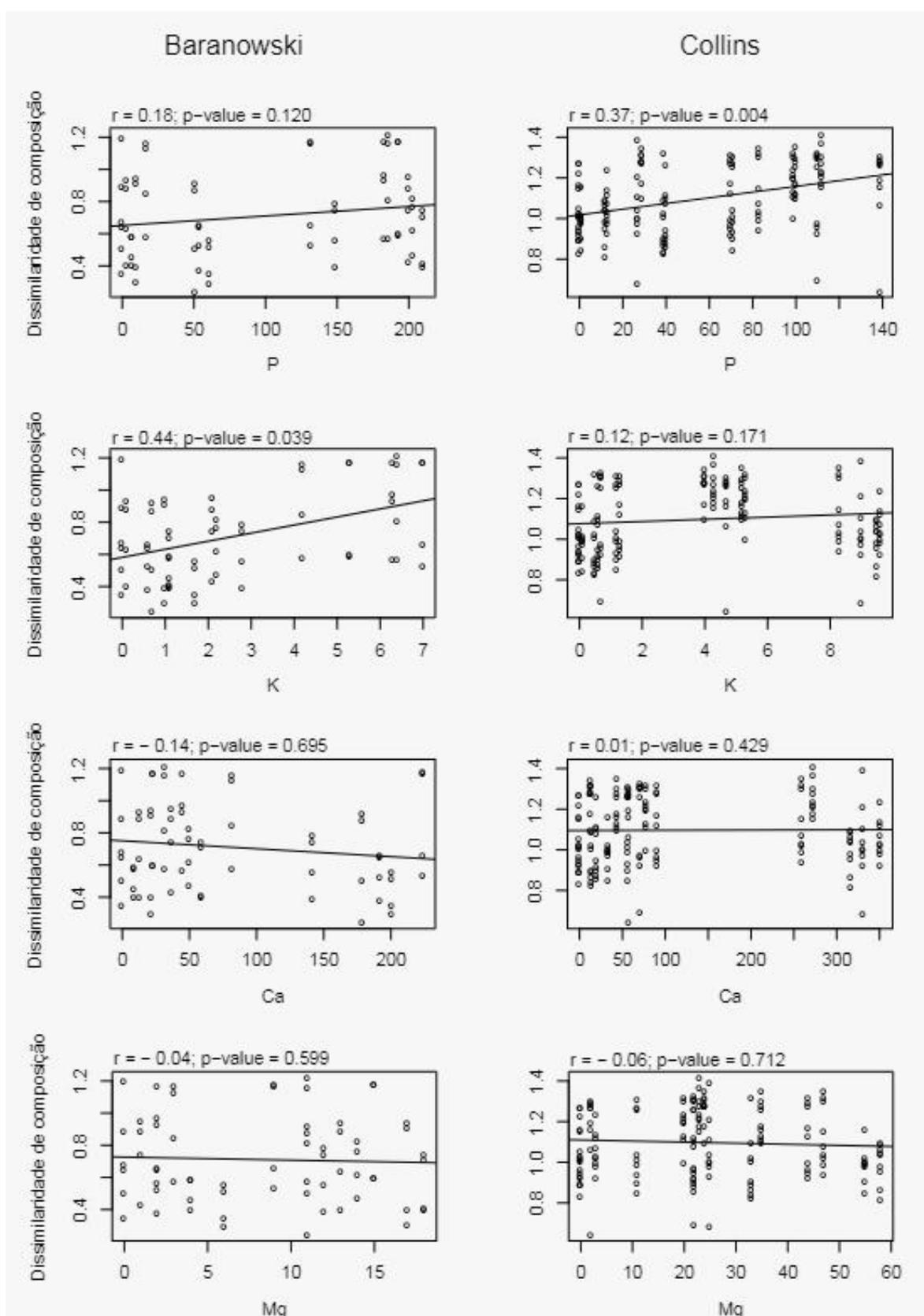


Figura 23. Resultados obtidos na análise de Mantel com a matriz de distância Hellinger e correlação de Pearson para os parâmetros de dissimilaridade de composição fúngica e parâmetros ambientais para amostras do solo das geleiras Baranowski e Collins

Para compreender e quantificar em que grau os parâmetros físico-químicos, local de coleta e textura do solo poderiam explicar a composição da comunidade (com base em Filos) realizamos uma análise de PERMANOVA. Para tanto, a comunidade total e os quatro Filos mais abundantes de forma independente para cada geleira foram avaliados. Primeiro, as variáveis foram consideradas individualmente para a comunidade total de cada geleira, e os quatro Filos individuais.

Com relação aos Filos presentes na geleira Collins, as amostragens em metros explicaram a composição da comunidade de Basidiomycota ($p < 0,05$). Manganês (Mn) ($p < 0,05$) demonstrou influenciar a comunidade de Mortierellomycota e Chytridiomycota (Tabela 9).

Tabela 9. Proporção de variação na composição da comunidade fúngica presente nas amostras do solo da geleira Collins, no nível da comunidade total (todos os fungos), e dos quatro principais filos, explicados pelos parâmetros ambientais, com análise multivariada permutacional de variância, com base na matriz da comunidade de fungos transformada por Hellinger. Variáveis significativas (em negrito).

	Filos (Total)	Ascomycota	Basidiomycota	Mortierellomycota	Chytridiomycota
pH	0,643	0,762	0,21	0,535	0,799
P	0,733	1	0,825	0,854	0,452
K	0,719	0,44	0,924	0,714	0,384
Ca	0,487	0,398	0,386	0,97	0,048
Mg	0,508	0,577	0,831	0,824	0,741
Cu	0,466	0,201	0,713	0,601	0,859
Fe	0,122	0,303	0,101	0,134	0,225
Mn	0,288	0,645	0,916	0,044	0,037
Zn	0,609	0,484	0,271	0,978	0,405
Metros	0,072	0,228	0,049	0,082	0,153
Argila	0,452	0,978	0,836	0,424	0,962
Silte	0,538	0,256	0,843	0,203	0,191

A comunidade fúngica total das amostras do recuo da geleira Baranowski demonstra ter sido influenciada por Manganês ($p < 0,05$). A abundância de Ascomycota e Basidiomycota foi influenciada Manganês ($p < 0,05$). Além disso, representantes do Filo Ascomycotas sofreram influência da cronossequência (metros) do recuo (Tabela 10).

Tabela 10. Proporção de variação na composição da comunidade fúngica presente nas amostras do solo da geleira Baranowski, no nível da comunidade total (todos os fungos), e dos quatro principais filos, explicados pelos parâmetros ambientais, com análise multivariada permutacional de variância, com base na matriz da comunidade de fungos transformada por Hellinger. Variáveis significativas (em negrito).

	Filos (Total)	Ascomycota	Basidiomycota	Mortierellomycota	Chytridiomycota
pH	0,623	0,535	0,936	0,586	0,249
P	0,462	0,26	0,437	0,722	0,367
K	0,434	0,373	0,486	0,401	0,464
Ca	0,988	0,673	0,832	0,674	0,873
Mg	0,486	0,99	0,822	0,457	0,484
Cu	0,663	0,49	0,655	0,857	0,694
Fe	0,37	0,191	0,705	0,818	0,676
Mn	0,049	0,049	0,042	0,076	0,256
Zn	0,738	0,346	0,637	0,976	0,329
Metros	0,065	0,028	0,109	0,101	0,627
Argila	0,435	0,205	0,445	0,575	0,17
Silte	0,512	0,269	0,546	0,865	0,575

Para uma melhor compreensão sobre a associação dos parâmetros ambientais na composição da comunidade fúngica, foi realizado a análise de correlação linear de Pearson. Ao avaliar os dados correspondentes a geleira Baranowski, foi possível observar que a variável Metros correlacionou positivamente com o Filo Mortierellomycota, porém essa foi uma correlação considerada fraca ($R=0.13$). O Filo Ascomycota apresentou uma correlação linear negativa (moderada) para Metros ($R=-0.44$), mas foi correlacionado positivamente (moderado) com Mn ($R=0.67$), pH ($R=0.43$) e K ($R=0.56$). Os representantes do Filo Basidiomycota apresentaram associação positiva moderada com Ca ($R=0.52$), Zn ($R=0.4$) e negativa com K ($R=-0.49$), Cu ($R=-0.4$) e Mn ($R=-0.42$). Os representantes de Chytridiomycota apresentaram correlação positiva com Ca ($R=0.52$) e Zn ($R=0.4$). O Filo Aphelidiomycota teve associação positiva com Ca ($R=0.5$) e negativa, Cu ($R=-0.4$) e Fe ($R=-0.44$) (Figura 24).

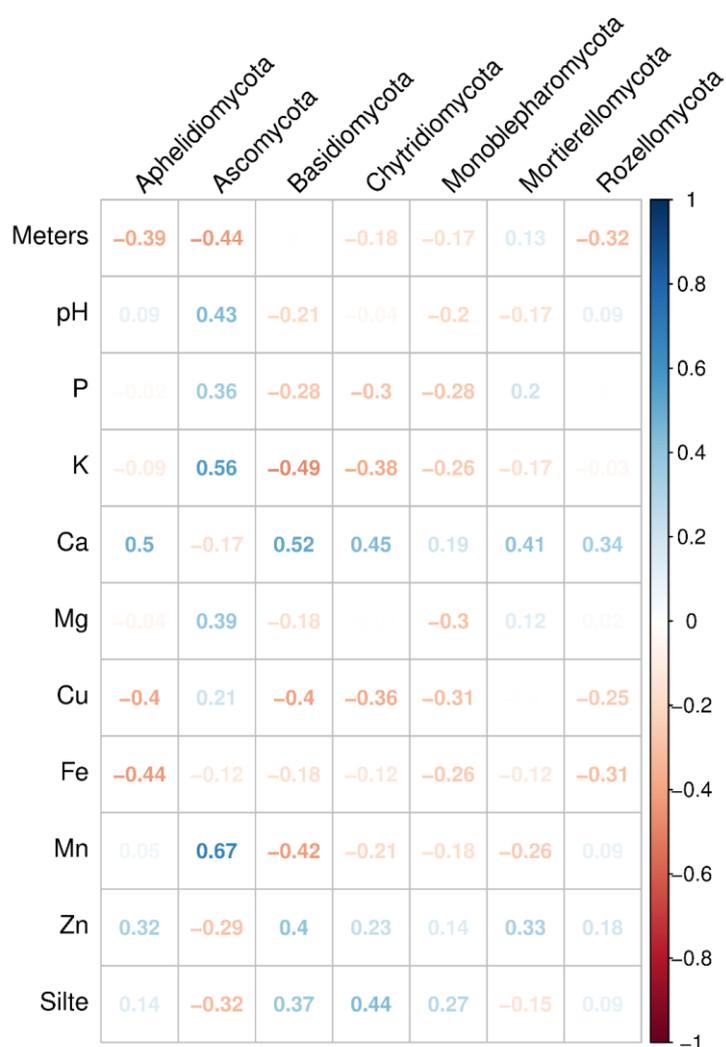


Figura 24. Correlação de Pearson entre a composição da comunidade fúngica e dados ambientais das amostras do transecto da geleira Baranowski.

Para os dados da geleira Collins, o Filo Basidiomycota apresentou correlação linear positiva (moderada) com Silte ($R=0.46$), e correlação negativa com K ($R=-0.41$). O Chytridiomycota demonstrou correlação positiva com Ca ($R=0.49$), pH ($R=0.58$) e negativa com K ($R=-0.58$), Mg ($R=-0.54$) e Fe ($R=-0.46$). E o Monoblepharomycota tiveram associação positiva com Manganês ($R=0.45$) (Figura 25).

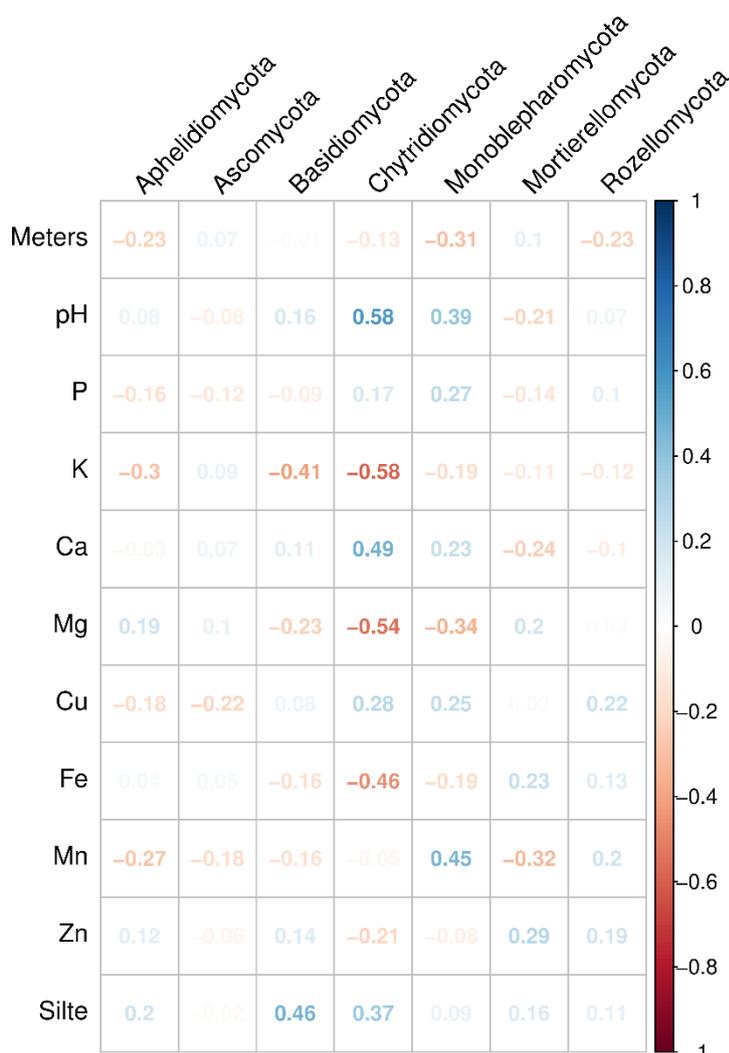


Figura 25. Correlação de Pearson entre a composição da comunidade fúngica e dados ambientais das amostras do transecto da geleira Collins.

A correlação linear de Pearson também foi realizada para as espécies indicadoras de cada geleira. Para a geleira Collins, as variáveis correspondentes ao ponto de coleta na cronosequência (metros) e Cálcio apresentaram associação positiva (moderada) com representantes do gênero *Verrucaria* (ASV 735, $R=0.41$; ASV 427, $R=0.69$). O gênero *Pseudogymnoascus* (ASV 111) apresentou associação positiva com Mg ($R=0.47$) e negativa com K ($R=-0.44$). O Zinco (Zn) apresentou associação positiva com o gênero *Glarea* ($R=0.42$) e negativa com *Verrucaria* (ASV 427, $R=-0.46$). O representante da Classe Eurotiomycetes (ASV 530) apresentou correlação positiva com Metros ($R=0.61$) e correlação negativa com pH ($R=-0.52$) e Mg.

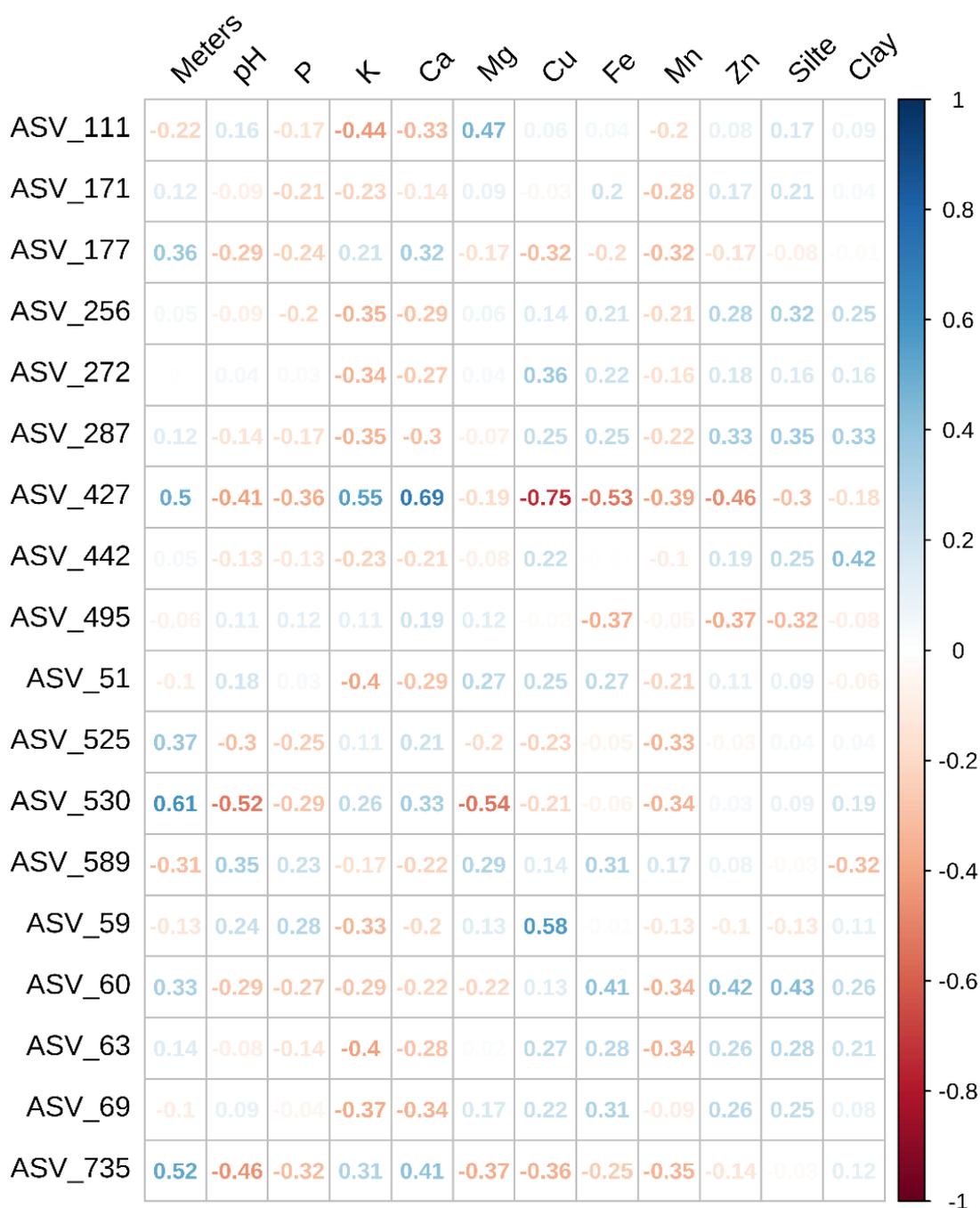


Figura 26. Correlação de Pearson entre a composição das espécies indicadoras e dados ambientais das amostras do transecto da geleira Collins.

As amostras da geleira Baranowski apresentaram um total de 140 espécies indicadoras. Destas, 30% apresentou correlação linear positiva moderada (0.4 – 0.6) com Argila e 1 taxon apresentou correlação forte (0.7 – 1) com essa variável. O cálcio correlacionou positivamente com 29% (moderado) das espécies e 6% das mesmas exibiu correlação forte. Outros parâmetros apresentaram correlação positiva, como Silte (26% moderado), Zinco (25% moderado) e Manganês (11% moderado).

Alguns parâmetros ambientais correlacionaram negativamente com as espécies indicadoras, sendo o Potássio (30% moderado, 1 taxa forte), o Cobre (26% moderado, 3% forte), e o Manganês com 22% de correlação negativa moderada.

Outras variáveis preditoras apresentaram correlações positivas e negativas, porém em menor proporção como demonstrado na figura 27.

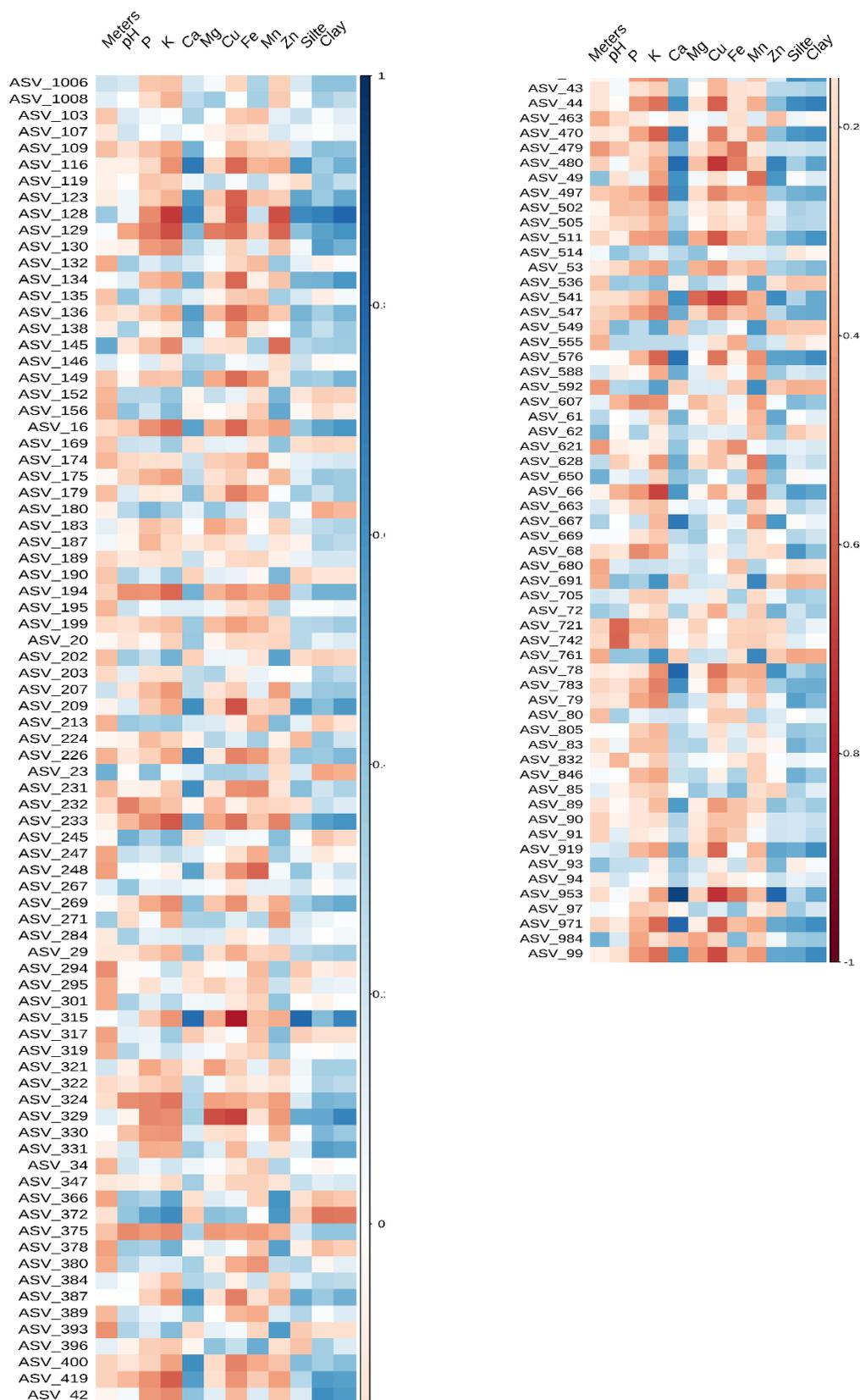


Figura 27. Correlação de Pearson entre a composição das espécies indicadoras e dados ambientais das amostras do transecto da geleira Baranowski.

4. Discussão

Até onde vai nosso conhecimento, este trabalho representa a primeira análise de comunidades de fungos comparando o recuo de duas geleiras com localizações distintas no ambiente antártico utilizando um método NGS de alto rendimento. Com o progresso das tecnologias de sequenciamento de nova geração, análises de metagenoma e *metabarcoding* em estudos com amostras de sedimentos glaciais (WRIGHT et al., 2013) e solos antárticos (PEARCE et al., 2012; DRESCH et al., 2019; PESSI et al., 2019) têm revelado uma diversidade muito maior de linhagens e funções do que se pensava anteriormente. As geleiras, mesmo sendo consideradas um dos ambientes naturais mais desafiadores para proliferação de vida, abrigam uma grande diversidade de micro-organismos eucariotos. Nosso estudo demonstrou que a diversidade e a comunidade de fungos responderam à sequência cronológica do recuo das geleiras. Os dados revelaram que as amostras do transecto das geleiras Baranowski e Collins apresentaram diferenças com base nas ASVs mais representativas.

4.1. Análise dos parâmetros físico-químicos do solo

Os solos derivados do transecto das geleiras Baranowski e Collins foi caracterizado como arenoso e médio arenoso. De acordo com as medidas físico-químicas dos parâmetros ambientais, os valores de pH indicaram solos levemente ácido, próximos a neutros, que foram de 5,6 a 6,7. Durán et al. (2019) relatou valor semelhante de pH em solo da geleira Collins. No entanto, Duarte, (2010) ao estudar amostras de solo do recuo da geleira Baranowski em 2004, relatou solos mais alcalinos do que o encontrado em nosso estudo (~ 8,4). O Manganês demonstrou uma variação ao longo do gradiente do transecto, sendo encontrado maior proporção a 0 metro de ambas as geleiras. O solo da Baranowski foi relativamente mais argiloso, quando comparado com o solo da Collins.

A correlação de Spearman entre as variáveis ambientais e o local amostrado (metros) demonstrou que o Manganês apresentou uma correlação negativa moderada para ambas geleiras, demonstrando que quando maior (em metros) o recuo, menos Mn está disponível no solo.

4.2. Diversidade e estrutura da comunidade fúngica

O uso da tecnologia *metabarcoding* em ambientes polares ainda é desafiador devido às concentrações relativamente baixas de biomassa microbiana, resultando em baixas recuperações do DNA genômico de qualidade, principalmente em solos jovens (BRADLEY et al., 2014). A concentração de DNA obtida no presente estudo, mesmo em valores baixos, está dentro do esperado, uma vez que os ambientes polares possuem parâmetros ambientais extremos e possivelmente poucos grupos microbianos são adaptados a estas condições quando comparados a outros habitats

Nossos resultados revelaram o total de 3025 ASVs (análogo de OTU) nas amostras ao longo da cronosequência das geleiras Baranowski e Collins, sendo 1.382 ASVs recuperadas de amostras da geleira Baranowski, 2.316 ASVs das amostras da Collins e 673 ASVs compartilhada entre as duas geleiras. Estudos realizados em solo e geleiras em diferentes partes do mundo mostraram um número total de OTUs fúngicas variando entre 900 e 2500 (TEDERSOO et al., 2014) e de 298 a 1611 (GUTIÉRREZ et al., 2015; RIME et al., 2016).

Os resultados revelaram uma abundância relativamente maior no Filo Basidiomycota (39%) seguida pelo filo Ascomycota (36%) e uma maior riqueza de Ascomycota (935 ASVs) e Basidiomycota (621 ASVs). Acredita-se que a maioria dos fungos no microbioma da Antártica pertencem ao Filo Ascomycota. Essa ideia é apoiada pela predominância de ASVs desse Filo em nosso estudo e em pesquisas anteriores utilizando métodos moleculares para acessar as comunidades fúngica sem solos da Antártica (COX et al., 2016; JI et al., 2016; WEI et al., 2016; CANINI et al., 2020), comunidades endolíticas em Vales Secos de McMurdo e em Victoria Land (COLEINE et al., 2018) e solos da Península Mitchell (JI et al., 2016).

Outros grupos fúngicos reportados em nosso estudo, como Mortierellomycota, Chytridiomycota, Aphelidiomycota, Monoblepharomycota, Rozellomycota e Glomeromycota foram reportados como presentes em ambientes antárticos em estudos anteriores (ROSA et al., 2019). No estudo relacionado com solo de recuo de geleira, Tian et al. (2017) identificaram uma alta abundância do Filo Rozellomycota em estágios intermediários do recuo. No presente estudo este Filo foi encontrado em maior abundância nos pontos 0 (25%) e 300 m (27%) do recuo da Collins e 0 (20%) e

100 m (28%) na Baranowski, sendo a menor abundância relatada no último estágio do recuo estudado (400 m) nas duas geleiras.

O Filo Chytridiomycota (comumente conhecidos como quitrídios) raramente são isolados de ambientes extremos, mas nos últimos anos a análise do DNA ambiental permitiu uma maior compreensão da ecologia desses fungos basais (SAITO et al., 2018). Representantes deste Filo são considerados saprotróficos e alguns grupos são endêmicos da Antártica, podendo ser encontrados em lagos (ROJAS - JIMENEZ et al., 2017) e em solos antárticos (COX et al., 2019; BRIDGE; NEWSHAM, 2009). Em nossa pesquisa, os quitrídios foram identificados nas amostras do recuo das duas geleiras estudadas, representando 5% da abundância relativa (96 ASVs). Um total de 31% dos representantes deste filo foram encontrados nos solos recuo da Collins e 69% nos solos da Baranowski. As ordens Spizellomycetales e Rhizophydiales são os quitrídios mais comuns no solo. Foi demonstrado em experimentos de laboratório que algumas espécies pertencentes a essas ordens toleram a dessecação e o congelamento (GLEASON et al., 2004, 2010). Representantes de Spizellomycetales foram encontrados somente nos solos coletados nos pontos mais afastados da geleira Collins (300 e 400 m). Representantes de Rhizophydiales e Lobulomycetales foram observados em todos os pontos amostrados das duas geleiras.

Os fungos basidiomicetos da Classe Agaricomycetes apresentaram maior abundância e riqueza, representando 24% (312 ASVs) das ASVs classificadas, e com a mesma proporção de abundância para as duas geleiras. Esses dados contrapõem estudos anteriores relacionados ao ambiente antártico. Cox e colaboradores (2016) reportaram a presença de no máximo 3% das sequências de Agaricomycetes na ilha Signy, e um número menor de sequências em outras duas ilhas estudadas. Outros estudos apontaram baixa abundância e riqueza de Agaricomycetes em solo antártico (CANINI et al., 2020). Em contraste, os Agaricomycetes são um táxon fúngico dominante encontrado na maioria dos solos do mundo, constituindo uma média de 50% das sequências registradas no solo (TEDERSOO et al., 2014) e representando um dos táxons fúngicos mais ricos em OTU (MEISER et al., 2014 ; TEDERSOO et al., 2014). De acordo com Cox et al., (2016) a ausência de raízes lenhosas de plantas nos solos antárticos, responsáveis por formar ectomicorrizas com membros dos Agaricomycetes em latitudes mais baixas, provavelmente explica a abundância muito

menor dessa Classe de fungos na Antártica. Contudo, nossos dados revelam que os solos derivados de recuo de geleiras são altamente propícios para proliferação de agaromicetos, sendo encontrado em maior proporção a 100 m do recuo da geleira Baranowski e 400 m do recuo da geleira Collins. Além disso, os representantes dessa Classe podem estar formando simbiose com líquens, ou até mesmo musgos. Putzke et al. (2012) reportou a presença de representantes da Ordem Agaricales encontrados associados com musgos na Ilha Elefante, Antártica.

Fungos da Ordem Verrucariales (Ascomycota) representaram 15% das ASVs classificadas. Os Verrucariales são formadores de líquen, alguns representantes são reconhecidos como táxons endêmicos antárticos, sugerindo que esses fungos são ineficientes na dispersão a longo prazo (COX et al., 2019). Dentre os representantes dessa Ordem, 155 pertencem ao gênero *Verrucaria*, sendo um dos gêneros mais abundantes no total de amostras. Como *Verrucaria* é um gênero que habita rochas na Antártica (ØVSTEDAL et al., 2001), é provável que tenhamos detectado o fungo em seu estado de vida livre (ou como esporos ou outros propágulos) no solo.

Nossos resultados revelaram a ocorrência de várias *reads* que não puderam ser identificadas em âmbito de Filo (16%), muitas das quais podem desempenhar papéis importantes nessas comunidades. Outros estudos envolvendo amostras antárticas também relataram essa ocorrência (CANINI et al., 2020; Cox et al., 2019). Embora o sequenciamento de amostras ambientais possam detectar rapidamente a diversidade e elucidar os padrões ecológicos, essas abordagens dependem de bancos de dados de sequências informativas para identificação de fungos (COSTELLO et al., 2013; YAHR et al., 2016). Devido à falta de conhecimento atual, grande parte das sequências ambientais não pode ser identificada em níveis taxonômicos significativos (NILSSON et al., 2016).

4.3. A estrutura do microbioma dos solos de recuo das geleiras Collins e Baranowski

A estrutura principal do microbioma (core microbiome) forneceu dados pelos quais é possível identificar e analisar grupos fúngicos potencialmente importantes no recuo das geleiras antárticas estudadas. Embora existam diversos estudos sobre a diversidade microbiana no ambiente antártico, ainda desconhecemos o core do microbioma Antártico e, principalmente, daquele pertencente ao recuo de geleiras. Até o momento, estudos focados em desvendar o core do microbioma Antártico se concentram na diversidade de bactérias (SIGNORI et al 2018; CAMPEN et al., 2019). A estrutura principal das amostras de solo do transecto correspondentes às duas geleiras estudadas, revelou a predominância do Filo Ascomycota (47,44%) seguido de Basidiomycota (25,64%). A ASV com maior prevalência e abundância dentre as amostras pertence a Meruliaceae (ASV1), uma família de fungos da Ordem Polyporales considerados saprófitos. Os gêneros *Peniophora* (Basidiomycota) e *Mortierella* (Mortierellomycota) também apresentaram alta prevalência e abundância no total das amostras, fazendo parte do core do microbioma total dos recuos.

O core total foi principalmente formado por representantes das Classes Leotiomycetes, Mortierellomycetes, Agaricomycetes e Eurotiomycetes. Os gêneros como *Verrucaria*, *Coleophoma* e *Psoroma* foram encontrados com maior dominância de ASVs no core total. Os gêneros *Verrucaria* e *Psoroma* são conhecidos por serem liquenizados e simbiotróficos (ESSLINGER et al., 2019) e *Coleophoma* é considerado saprófito (TEDERSOO et al., 2014).

Ao comparar a estrutura principal das duas geleiras, foi possível observar que o core do microbioma proveniente do solo do transecto da geleira Baranowski possui uma maior riqueza de ASVs quando comparado ao proveniente da Collins (235 e 51 ASVs, respectivamente). Esse resultado indica que a comunidade fúngica da geleira Baranowski é mais estável do que a da Collins.

Os Filos Ascomycota e Basidiomycota foram predominantes no core do microbioma de ambas geleiras estudadas. Enquanto o Filo Chytridiomycota, foi reportado somente nas amostras da geleira Baranowski. Embora o Filo Chytridiomycota, tenha sido reportado como dominante em amostras de solo de Vales Secos de McMurdo, Antártica (DREESENS et al., 2014) é possível inferir que o

mesmo, provavelmente, não constitui o core do microbioma dos diversos ecossistemas antárticos. De acordo com Barr (2001), Chytridiomycota constitui um grupo muito antigo com formas existentes, possivelmente pouco alterado desde os primeiros tempos da evolução eucariótica. Apesar da geleira Baranowski possuir datação mais jovem do que a Collins, a presença dos quitrídios nas amostras desta geleira pode estar associada à conservação dos solos protegidos pelo gelo.

A Classe Agaricomycetes apresentou predominância no core das duas geleiras, indicando se tratar de uma comunidade fúngica estável nesses ambientes. Essa Classe foi relatada em outros estudos em ambientes antárticos, porém em baixa abundância (COX et al., 2016; CANINI et al., 2020). Os nossos resultados revelaram que representantes da Classe Agaricomycetes compõem o core do microbioma das amostras do recuo das duas geleiras, sendo a Classe predominantemente mais rica.

O core da geleira Baranowski foi composto por 17 Classes diferentes. Com predominância de Agaricomycetes, Leotiomyces, Mortierellomyces e Microbotryomyces, sendo 8 Classes exclusivas do core dessa geleira: Chytridiomyces e Lobulomyces (Chytridiomycota), Dothideomyces, Pezizomyces (Ascomycota), Malasseziomyces, Microbotryomyces, Tremellomyces (Basidiomycota) e Rozellomycotina (Rozellomycota). As Classes Microbotryomyces e Tremellomyces foram descritas como sendo mais ricas em regiões com climas mais quentes no hemisfério norte (TEDERSOO et al., 2014). Por outro lado, as Classes Leotiomyces, Microbotryomyces (leveduras basidiomicéticas) e Mortierellomyces possuem maior diversidade próximos aos polos (TEDERSOO et al., 2014).

O core do microbioma da geleira Collins foi constituído por 9 Classes diferentes, com a predominância de Classes Agaricomycetes, Eurotiomyces e Mortierellomyces. Apenas 7 ASVs compõem exclusivamente o core da geleira. Essas ASVs são compostas por representantes do gênero *Verrucaria*, *Galerina*, *Pichiae* por dois fungos classificados somente em âmbito de Filo (Ascomycota e Basidiomycota).

O core do microbioma compartilhado entre as duas geleiras apresentou a predominância de Mortierellomyces, Agaricomycetes e Leotiomyces, com predominância do gênero *Mortierella*. O gênero *Mortierella*, foi reportado em estudos

anteriores em solo de recuo de geleiras (BRUNNER et al., 2011) e é comumente encontrado em diversos ambientes e substrato Antárticos (WENTZEL et al., 2019). A diversidade de fungos da Classe Leotiomycetes tende a aumentar em direção aos pólos, sendo está uma das Classes de ascomicetos mais abundantes na tundra do Ártico e nas ilhas Antárticas (TEDERSOO et al., 2014; ZHANG et al., 2015; COX et al. al., 2016; NEWSHAM et al., 2016). Esses relatos sugerem que os taxa encontrados na estrutura principal das amostras de solos das geleiras Baranowski e Collins são altamente adaptados ao ambiente antártico e importantes para o processo de sucessão primária e formação dos solos de recuo de ambas geleiras.

Em adição, realizamos a análise de espécies indicadoras para identificar padrões de associação táxon-habitat. Este procedimento identifica as ASVs como espécies indicadoras independentemente de sua abundância no conjunto total de dados. Sendo possível identificar um total de 159 taxa selecionados como espécies preditoras. Um total de 140 taxa foi encontrado nas amostras da geleira Baranowski, enquanto 18 taxa foram provenientes das amostras de solo de recuo da Collins. A geleira Baranowski apresentou uma predominância do Filo Basidiomycota, com uma riqueza da Classe Agaricomycetes e da Ordem Polyporales. Para as espécies preditoras oriundas do recuo da geleira Collins a predominância foi do Filo Ascomycota e da Classe Eurotiomycetes.

4.4. Diferenças na estrutura da comunidade fúngica das amostras de solo das geleiras Collins e Baranowski

A análise de agrupamento hierárquico agrupou em clados distintos as amostras pertencentes a cada geleira, indicando haver diferenças entre as comunidades fúngicas. Além disso, o teste HMP rejeitou a hipótese nula de não haver diferença na distribuição dos Filos entre as suas geleiras, reforçando a diferença entre a microbiota desses ambientes. O resultado obtido corrobora com os dados encontrados na análise do Core do microbioma, onde a Baranowski apresentou predominância de Basidiomycota e o Filo Ascomycota foi predominante nas amostras da Collins.

Para avaliar os grupos dos taxóns responsáveis pela diferenciação entre a comunidade das duas geleiras foram realizadas análise de abundância diferencial. Um total de 72 ASVs foi apontado como responsável pela diferenciação entre os

ambientes. Os gêneros *Laetiporus* (Basidiomycota) e *Lasionectria* (Ascomycota) estão entre as ASVs mais abundantes e prevalentes, responsáveis pela diferenciação entre as geleiras. O gênero *Lasionectria* foi reportado em outro estudo em amostras de solo antártico (DA SILVA et al., 2020). De acordo com Sułkowska-Ziaja et al. (2018) representantes do gênero *Laetiporus* são cosmopolitas, e estão presente em todos os continentes, exceto na Antártica. Entretanto, nossos dados revelaram um total de 14 ASVs pertencentes ao gênero *Laetiporus*, sendo 13 ASVs encontradas nas amostras de solo do recuo da geleira Baranowski e 2 ASVs nas amostras da geleira Collins.

As análises realizadas demonstraram existir diferenças na composição da comunidade fúngica presente no transecto das geleiras Baranowski e Collins. A maior parte dos táxons responsáveis pela diferenciação entre esses ambientes foi encontrado nas amostras da geleira Baranowski. A presença desses táxons colabora para hipótese dos solos de recuo da geleira Baranowski serem mais estáveis e abrigarem uma diversidade mais antiga, anteriormente preservada pelo gelo.

4. 5. Diversidade e riqueza fúngica dos solos de recuo das geleiras Collins e Baranowski

A análise de alfa diversidade mostrou que as duas geleiras não apresentam diferenças significativas quanto à diversidade. Os índices de diversidade e riqueza sugerem que o ponto amostrado a 0 m da geleira Baranowski é menos diverso que os demais e a maior diversidade e riqueza foram encontradas a 100 m. As amostras de solo do recuo da geleira Collins apresentaram um padrão diferente das amostras da Baranowski, sendo a menor diversidade encontrada a 100 e 200 m, e a a maior diversidade e riqueza encontradas a 300 m. A maior diversidade de fungos foi encontrada na idade intermediária das geleiras (expressa em metros de recuo), mas diminuiu posteriormente, seguindo um padrão semelhante observado para plantas e animais em cronossequências de solo glacial (JONES; HENRY, 2003 ;HODKINSON et al., 2004). Resultado semelhante foi relatado em estudos da diversidade fúngica no recuo da geleira Hailuogou, China (TIAN et al., 2017).

4.6. Variação na composição de espécies entre as amostras das geleiras Baranowski e Collins

Para analisar padrões de similaridade de composição de espécies entre as amostras das geleiras Baranowski e Collins foram realizadas análises de PCA e PCoA. As duas geleiras apresentam diferenças na composição fúngica tanto na abordagem de dados composicionais (CoDA), quanto quando a distância de Hellinger.

A análise de RDA demonstrou que a estrutura da comunidade fúngica das amostras da geleira Baranowski foi agrupada de forma independente da encontrada nas amostras da geleira Collins e parece ter sido influenciada por cálcio e silte. As amostras do início do recuo das duas geleiras parecem sofrer influência de manganês. As amostras do recuo da geleira Collins mostraram um comportamento heterogêneo, sofrendo influências de potássio, ferro e magnésio. De acordo com os resultados obtidos na análise de PERMANOVA, os preditores ambientais considerados determinantes para a composição da comunidade fúngica total foram pH, Mn e Mg.

Em geral, as respostas das comunidades microbianas do solo às mudanças ambientais estão intimamente relacionadas às suas propriedades específicas, como tolerância fisiológica, capacidade de dispersão e taxonomia, embora estejam sujeitas às mesmas condições ambientais (JONES; LENNON 2010; LIU et al. 2015). Em nosso estudo, a quantidade de variação total explicada pela RDA para a comunidade fúngica foi de 31%.

A análise de Mantel mostrou que os parâmetros ambientais apresentaram efeito significativo com relação à distância em metros do transecto de cada geleira. Efeitos significativos foram obtidos ao correlacionar a composição fúngica com a distância geográfica do transecto e parâmetros ambientais das amostras da geleira Collins, sugerindo que a comunidade fúngica dessa geleira pode estar sendo influenciada pelo tempo, espaço e variação ambiental decorrente do recuo da mesma, resultando no processo de sucessão primária acompanhada pela formação do solo.

Ao analisar a composição fúngica das amostras das geleiras de forma independente, observamos que foi encontrada uma relação linear positiva entre a abundância relativa da comunidade fúngica do solo de recuo da geleira Baranowski e as concentrações de Manganês, Potássio e pH. Enquanto para as amostras da geleira Collins a correlação foi positiva com concentrações de pH, Manganês e Fósforo.

Esses resultados sugerem que em ambientes limitantes como os da Antártica, mesmo pequenas alterações nos valores de pH, devido a mudanças ambientais, podem afetar as comunidades de fungos (CANINI et al., 2020).

A análise de PERMANOVA mais detalhada realizada para quantificar em que grau os parâmetros físico-químicos poderiam explicar a composição da comunidade com base nos Filos revelou que o Mn influenciou apenas os Filos que compõem os solos do recuo da geleira Baranowski.

A cronossequência do transecto (metros) influenciou a comunidade de Basidiomycota nas amostras da geleira Collins e de Ascomycotas nas amostras da geleira Baranowski. De acordo com os resultados obtidos na correlação de Pearson foi encontrada uma correlação linear negativa entre a abundância relativa de Ascomycota e os pontos amostrados em metros ($R=-0.44$), sugerindo que quanto menor o recuo maior a proporção de representantes do Filo.

O Manganês (Mn) apresentou resultados significativos ($p>0.05$) para comunidade de Mortirellomycota (Collins), Ascomycota e Basidiomycota (Baranowski). Em adição, as concentrações de Mn encontradas nas amostras da geleira Baranowski apresentaram correlações negativas ($R= -0.42$) para a abundância relativa de Basidiomycota e positivas para Ascomycota ($R=0.67$). Além disso, foi observada correlação negativa (16%) e positiva com as espécies indicadoras presentes nas amostras da geleira Baranowski. Estudos relatam que a limitação do Mn pode representar um mecanismo para explicar mudanças nas comunidades de fungos (MINOCHA et al., 2015; WHALEN et al., 2018).

Embora o pH do solo esteja entre os principais fatores de diversidade de fungos e bactérias nas duas regiões polares (SICILIANO et al., 2014) e de diversidade e distribuição de fungos em escala global (TEDERSOO et al., 2014; BAHRAM et al., 2018), nossos dados demonstraram correlação somente para dois Filos Ascomycota (Baranowski, $R=0.43$) e Chytridiomycota (Collins, $R = 0.58$). Em escala global a riqueza de Chytridiomycota foi melhor explicada por um resposta positiva ao pH do solo (TEDERSOO et al., 2014).

A concentração de Argila (associação positiva) e Potássio (negativa) encontrada nos solos das duas geleiras apresentou correlação com a composição da comunidade de Basidiomycota. Além disso, a argila correlacionou positivamente

(32%) e o Potássio negativamente (32%) com as espécies indicadoras presentes nos solos da geleira Baranowski. Canini et al. (2020) relataram que cátions trocáveis como K foram considerados determinantes para composição fúngica em solo antártico. De acordo com os autores, quanto maior a quantidade de argila no solo, maior sua capacidade de reter água e nutrientes e proporcionar condições mais favoráveis à atividade microbiana.

Tedersoo et al. (2014) relataram o Ca^{2+} como um dos preditores mais importantes da diversidade de fungos em escala global, explicando a riqueza da Classe Agaricomycetes (Basidiomycota) foi melhor explicada por uma resposta positiva à concentração de Ca no solo. Em nosso estudo, Ca apresentou correlação positiva moderada com Basidiomycota ($R=0.52$), Chytridiomycota (0.52) e Aphelidiomycota (0.5). Para espécies indicadoras presentes no recuo das geleiras, 34 e 35% dos táxons encontrados nas amostras das geleiras Collins e Baranowski, respectivamente, apresentaram correlação positiva com Ca. Essa foi também a variável preditora mais bem correlacionada com as espécies indicadoras.

O método utilizado no presente estudo para a avaliação da diversidade e estrutura da comunidade fúngica em amostras de solo de geleiras Antárticas possui limitações. Além de ter sido baseado no DNA, incluindo potencialmente fungos ativos e inativos, fez uso da região *barcoding* ITS, a qual pode ser ineficiente para classificação de alguns grupos fúngicos, além da ausência de robustez nos bancos de dados para esse marcador. Porém, os resultados obtidos são relevantes e ampliam o conhecimento acerca dos fungos que habitam os solos de recuo de geleiras antárticas, de sua distribuição e correlação com os fatores ambientais.

CONCLUSÕES

- Os métodos aplicados no presente estudo permitiram o conhecimento da diversidade e da estrutura das comunidades fúngicas em solos de recuo de duas diferentes geleiras da antártica (Baranowski e Collins). Os Filos Ascomycota e Basidiomycota foram predominantes na composição fúngica das amostras do recuo das duas geleiras. Táxons de fungos nunca reportados em ambiente antártico foram identificados. A abundância de representantes de táxons incomuns nos ambientes antárticos e associados a regiões mais quentes do planeta pode ser um indicativo de que o aquecimento está alterando a composição da microbiota nesses ambientes.

- Os resultados revelaram diferenças nos padrões de co-ocorrência e trajetórias sucessivas ao longo da sequência cronológica e entre as geleiras. As diferenças na composição das comunidades fúngicas, indicam que o tempo de recuo pode ter selecionado algumas espécies nesses ambientes.

Alguns fatores ambientais influenciaram a composição de táxons das amostras estudadas com destaque para Manganês e Cálcio. As variáveis Mn e pH apresentaram correlação positiva para comunidade fúngica das duas geleiras. O Manganês demonstrou ter influência na comunidade de Mortirellomycota (Collins), Ascomycota e Basidiomycota (Baranowski). As concentrações de Manganês encontradas nas amostras da geleira Baranowski apresentaram correlações negativas para a abundância relativa de Basidiomycota e positivas para Ascomycota. O Cálcio foi à variável ambiental que melhor correlacionou com as espécies indicadoras nas duas geleiras estudadas.

- A geleira Baranowski demonstrou ter uma comunidade fúngica mais estável. Apresentando o core do microbioma e espécies indicadoras representados por maior número de taxas. A abundância relativa manteve homogênea pela cronossequência do recuo com menor variação na riqueza e diversidade.

- A Collins apresentou uma composição mais heterogênea entre o recuo. Menor estrutura do microbioma e um número reduzido de taxas indicador. E a composição fúngica apresentou correlação significativa com o transecto e variáveis ambientais. Sugerindo que o recuo esteja passando por um processo de sucessão primária e estabelecimento de espécies. Outra resposta para essa variação talvez seja efeito de condições.

5. REFERÊNCIAS

- ADAMS, B.; ARTHURN, R.; ATKINSON, A.; BARBANTE, C.; BARGAGLI, R.; BERGSTROM, D.; et al. in *Antarctic Climate Change and the Environment* (eds TURNER, J. et al.) 183–298 (Scientific Committee on Antarctic Research, Scott Polar Research Institute, 2009).
- ANDERSON, M. J. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. **Austral ecology**, v. 26, n. 1, p. 32-46, 2001.
- BAHRAM, M.; HILDEBRAND, F.; FORSLUND, S. K.; ANDERSON, J. L.; SOUDZILOVSKAIA, N. A.; BODEGOM, P. M. et al. Structure and function of the global topsoil microbiome. **Nature**, v. 560, n. 7717, p. 233-237, 2018.
- BAJERSKI, F.; WAGNER, D. Bacterial succession in Antarctic soils of two glacier forefields on Larsemann Hills, East Antarctica. **FEMS microbiology ecology**, v. 85, n. 1, p. 128-142, 2013.
- BARR, D. J. S.; Chytridiomycota. In: **Systematics and Evolution**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2001. p. 93-112.
- BLAALID, R.; CARLSEN, T. O. R.; KUMAR, S.; HALVORSEN, R.; UGLAND, K. I.; FONTANA, G.; KAUSERUD, H. Changes in the root-associated fungal communities along a primary succession gradient analysed by 454 pyrosequencing. **Molecular ecology**, v.21, n.8, p. 1897-1908, 2012.
- BRADLEY, J. A.; SINGARAYER, JOY S.; ANESIO, ALEXANDRE M. Microbial community dynamics in the forefield of glaciers. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, v. 281, n. 1795, p. 20140882, 2014.
- BRIDGE, P.D.; NEWSHAM, K.K. Soil fungal community composition at Mars Oasis, a southern maritime Antarctic site, assessed by PCR amplification and cloning. **Fungal Ecol.**, v.2, p.66–74, 2009.
- BROWN, S. P.; JUMPPONEN, A. Phylogenetic diversity analyses reveal disparity between fungal and bacterial communities during microbial primary succession. **Soil Biol. Biochem.**, v.89, p.52–60, 2015.
- BRUNNER, I.; PLÖTZE, M.; RIEDER, S.; ZUMSTEG, A.; FURRER, G.; FREY, B. Pioneering fungi from the Damma glacier forefield in the Swiss Alps can promote granite weathering. **Geobiology**, v.9, n.3, p. 266-279, 2011.
- CAMPEN, R.; KOWALSKI, J.; LYONS, W. B.; TULACZYK, S.; DACHWALD, B.; PETTIT, E. et al. Microbial diversity of an Antarctic subglacial community and high-resolution replicate sampling inform hydrological connectivity in a polar desert. **Environmental microbiology**, v..21, n.7, p. 2290-2306, 2019.
- CANINI, F.; GEML, J.; D'ACQUI, L. P.; SELBMANN, L.; ONOFRI, S.; VENTURA, S.; ZUCCONI, L. Exchangeable cations and pH drive diversity and functionality of fungal communities in biological soil crusts from coastal sites of Victoria Land, Antarctica. **Fungal Ecology**, v.45, p.100923, 2020.
- CALLAHAN, B. J.; MCMURDIE, P. J.; ROSEN, M. J.; HAN, A. W.; JOHNSON, A. J.; HOLMES, S. P. DADA2: High resolution sample inference from amplicon data. **bioRxiv**, p. 024034, 2015.
- COOK, A. J., FOX, A. J., VAUGHAN, D. G., FERRIGNO, J. G. Retreating glacier fronts on the Antarctic Peninsula over the past half-century. **Science**, v. 308, n. 5721, p. 541-544, 2005.

COLEINE, C.; STAJICH, J. E.; ZUCCONI, L.; ONOFRI, S.; POMBUBPA, N.; EGIDI, E.; et al. Antarctic cryptoendolithic fungal communities are highly adapted and dominated by Lecanoromycetes and Dothideomycetes. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 1392, 2018.

COSTELLO, M. J.; MAY, R. M.; STORK, N. E. Can we name earth's species before they go extinct? **Science**, v. 339, p.413-416, 2013.

COX, F.; NEWSHAM, K. K.; BOL, R.; DUNGAIT, J. A. J.; ROBINSON, C. H. Not poles apart: Antarctic soil fungal communities show similarities to those of the distant Arctic. **Ecol. Lett.**, v.19, p.528–536, 2016.

COX, F.; NEWSHAM, K. K.; ROBINSON, C. H. Endemic and cosmopolitan fungal taxa exhibit differential abundances in total and active communities of Antarctic soils. **Environmental Microbiology**, v. 21, n.5, p.1586–1596, 2019.

DA SILVA, T. H.; SILVA, D. A. S.; DE OLIVEIRA, F. S.; SCHAEFER, C. E. G. R.; ROSA, C. A.; ROSA, L. H. Diversity, distribution, and ecology of viable fungi in permafrost and active layer of Maritime Antarctica. **Extremophiles: Life Under Extreme Conditions**, 2020.

DAVEY, M.; BLAALID, R.; VIK, U.; CARLSEN, T.; KAUSERUD, H.; EIDSEN, P. B. Primary succession of *Bistorta vivipara* (L.) Delabre (*Polygonaceae*) root-associated fungi mirrors plant succession in two glacial chronosequences. **Environmental microbiology**, v. 17, n. 8, p. 2777-2790, 2015.

DE CACERES, M.; JANSEN, F. indicpecies: Functions to assess the strength and significance of relationship of species site group associations. R package version 1.5. **cran.rproject.org/web/packages/indicpecies/index.html**, 2010.

DREESENS, L. L.; LEE, C. K.; CARY, S. C. The distribution and identity of edaphic fungi in the McMurdo Dry Valleys. **Biology**, v.3, n.3, p.466-483, 2014.

DRESCH, P.; FALBESONER, J.; ENNEMOSER, C.; HITTORF, M.; KUHNERT, R.; PEINTNER, U. Emerging from the ice-fungal communities are diverse and dynamic in earliest soil developmental stages of a receding glacier. **Environmental microbiology**, v.21, n.5, p. 1864-1880, 2019.

DUARTE, Rubens Tadeu Delgado. **Micro-organismos em ambientes criogênicos: gelo glacial, solos expostos por recuo de geleiras, e permafrost polares**. 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

DURÁN, P.; BARRA, P. J.; JORQUERA, M. A.; VISCARDI, S.; FERNANDEZ, C.; PAZ, C. et al. Occurrence of soil fungi in Antarctic pristine environments. **Frontiers in bioengineering and biotechnology**, v. 7, p. 28, 2019.

EDWARDS, A.; IRVINE-FYNN, T.; MITCHELL, A. C.; RASSNER, S. M. E. A germ theory for glacial systems? **Wiley Interdiscip Rev Water**, v.1, p. 331–340, 2014.

ESSLINGER, T. L.; Hansen, E.S; Leavitt, S. D. A cumulative checklist for the lichen-forming, lichenicolous and allied fungi of the continental United States and Canada, version 23. **Opuscula Philolichenum**, v. 18, p. 102-378, 2019.

FREY, B.; RIEDER, S. R.; BRUNNER, I.; PLÖTZE, M.; KOETZSCH, S.; LAPANJE, A. et al. Weathering-associated bacteria from the Damma Glacier forefield: physiological capabilities and impact on granite dissolution. **Appl Environ Microbiol.**, v.76, p. 4788–4796, 2010.

GARDES, M.; BRUNS, T. D. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes – application to the identification of mycorrhizas and rusts. **Mol Ecol.**, v.2, p.113–118, 1993.

- GLEASON, F. H.; DAYNES, C. N.; MCGEE, P. A. Some zoosporic fungi can grow and survive within a wide pH range. **Fungal Ecology**, v.3, n.1, p. 31-37, 2010.
- GLEASON, F. H.; LETCHER, P. M.; MCGEE, P. A. Some Chytridiomycota in soil recover from drying and high temperatures. **Mycological research**, v.108, n.5, p.583-589, 2004.
- GLOOR, G. B.; MACKLAIM, J. M.; PAWLOWSKY-GLAHN, V.; EGOZCUE, J. J. Microbiome datasets are compositional: and this is not optional. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 2224, 2017.
- GUTIÉRREZ, M. H.; GALAND, P. E.; MOFFAT, C.; PANTOJA, S. Melting glacier impacts community structure of Bacteria, Archaea and Fungi in a Chilean Patagonia fjord. **Environmental microbiology**, v. 17, n. 10, p. 3882-3897, 2015.
- HODKINSON, I. D.; COULSON, S. J.; WEBB, N. R. Invertebrate community assembly along proglacial chronosequences in the high Arctic. **J. Anim. Ecol.** 73, 556–568, 2004.
- JI, M.; VAN DORST, J.; BISSETT, A. et al. Microbial diversity at Mitchell Peninsula, Eastern Antarctica: a potential biodiversity “hotspot”. **Polar Biol.**, v.39, p.237–249, 2016.
- JONES, G. A.; HENRY, G. H. R. Primary plant succession on recently deglaciated terrain in the Canadian High Arctic. **J. Biogeogr.**, v.30, p.277–296, 2003.
- JONES, S. E.; LENNON, J. T. Dormancy contributes to the maintenance of microbial diversity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 13, p. 5881-5886, 2010.
- LA ROSA, P. S.; DEYCH, E.; SHANDS, B.; SHANNON, W. D. HMP: Hypothesis Testing and Power Calculations for Comparing Metagenomic Samples from HMP. R-package, 2011.
- LEGENDRE, P.; GALLAGHER, E. D. Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. **Oecologia**, v. 129, n. 2, p. 271-280, 2001.
- LEGENDRE, P.; LEGENDRE, L. F. J. **Numerical ecology**. Elsevier, 2012.
- LAHTI, L.; SHETTY, S.; BLAKE, T.; SALOJARVI, J. Tools for microbiome analysis in R. Version 1.5. 28. 2017.
- LIU, L.; YANG, J.; YU, Z.; WILKINSON, D. M. The biogeography of abundant and rare bacterioplankton in the lakes and reservoirs of China. **The ISME journal**, v. 9, n. 9, p. 2068-2077, 2015.
- LOVE, M. I.; HUBER, W.; ANDERS, S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. **Genome biology**, v. 15, n. 12, p. 550, 2014.
- MARTINY, J. B. H.; BOHANNAN, B. J. M.; BROWN, J. H.; COLWELL, R. K.; FUHRMAN, J. A.; GREEN, J. L. et al. Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. **Nat Rev Microbiol.**, v.4, p.102–112, 2006.
- MCMURDIE, P. J.; HOLMES, S. “phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data.” **PLoS ONE**, v.8, n.4, p. e61217, 2013.
- MEISER, A.; BÁLINT, M.; SCHMITT, I. Meta-analysis of deep-sequenced fungal communities indicates limited taxon sharing between studies and the presence of biogeographic patterns. **New Phytol.**, v.201, p.623–635, 2014.
- MINOCHA, R.; TURLAPATI, S. A.; LONG, S.; MCDOWELL, W. H.; MINOCHA, S. C. Long-term trends of changes in pine and oak foliar nitrogen metabolism in response to chronic nitrogen amendments at Harvard Forest, MA. **Tree physiology**, v.35, n.8, p.894-909, 2015.

NEWSHAM, K.; HOPKINS, D.; CARVALHAIS, L. et al. Relationship between soil fungal diversity and temperature in the maritime Antarctic. **Nature Clim Change**, v.6, p.182–186, 2016.

NGUYEN, L. H.; HOLMES, S. Ten quick tips for effective dimensionality reduction. **PLoS computational biology**, v.15, n.6, 2019.

NILSSON, R.H.; ANSLAN, S.; BAHRAM, M.; WURZBACHER, C.; BALDRIAN P.; TEDERSOO, L. Mycobiome diversity: high-throughput sequencing and identification of fungi. **Nature Reviews Microbiology**, v.17, p. 95–109, 2019.

NILSSON, R. H.; ABARENKOV, K.; KÖLJALG, U. Molecular techniques in mycological studies and sequence data curating: quality control and challenges. In: **Biology of microfungi.**, p. 47-64. 2016.

OKSANEN, J.; GUILLAUME BLANCHET, F.; FRIENDLY, M.; KINDT, R.; LEGENDRE, P. **Vegan: Community Ecology Package. R package version**, p. 2.5-5, 2019.

ØVSTEDAL, D. O.; SMITH, R. I. L. **Líquenes da Antártica e da Geórgia do Sul: um guia para sua identificação e ecologia.** Cambridge University Press, 2001.

PALAREA-ALBALADEJO, J.; MARTÍN-FERNÁNDEZ, J. A. zCompositions—R package for multivariate imputation of left-censored data under a compositional approach. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 143, p. 85-96, 2015.

PEARCE, D. A.; NEWSHAM, K.; THORNE, M.; CALVO-BADO, L.; KRSEK, M.; LASKARIS, P. et al. Metagenomic analysis of a southern maritime Antarctic soil. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, p. 403, 2012.

PESSI, I. S.; PUSHKAREVA, E.; LARA, Y.; BORDERIE, F.; WILMOTTE, A.; ELSTER, J. Marked succession of cyanobacterial communities following glacier retreat in the high Arctic. **Microbial ecology**, v. 77, n. 1, p. 136-147, 2019.

PUTZKE, J.; PEREIRA, A. B. Fungos muscícolas na Ilha Elefante-Antártica. **Caderno de Pesquisa**, v. 24, n. 1, p. 155-164, 2012.

RIME, T.; HARTMANN, M.; BRUNNER, I.; WIDMER, F.; ZEYER, J.; FREY, B. Vertical distribution of the soil microbiota along a successional gradient in a glacier forefield. **Molecular Ecology**, v. 24, n. 5, p. 1091-1108, 2015.

RIME, T.; HARTMANN, M.; FREY, B. Potential sources of microbial colonizers in an initial soil ecosystem after retreat of an alpine glacier. **The ISME journal**, v. 10, n. 7, p. 1625-1641, 2016.

RIVERS, A. R.; WEBER, K. C.; GARDNER, T. G.; LIU, S.; ARMSTRONG, S. D. ITSxpress: Software to rapidly trim internally transcribed spacer sequences with quality scores for marker gene analysis. **F1000Research**, v. 7, 2018.

ROJAS-JIMENEZ, K.; WURZBACHER, C.; BOURNE, E. C.; CHIUCHIOLO, A.; PRISCU, J. C.; GROSSART, H. P. Early diverging lineages within Cryptomycota and Chytridiomycota dominate the fungal communities in ice-covered lakes of the McMurdo Dry Valleys, Antarctica. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2017.

ROSA, L. H.; ZANI, C. L.; CANTRELL, C. L.; DUKE, S. O.; DIJCK, P. V.; DESIDERI, A.; ROSA, C. A. Fungi in Antarctica: diversity, ecology, effects of climate change, and bioprospection for bioactive compounds. In: Rosa LH (eds) **Fungi of Antarctica**, Springer, Cham, p. 1-17, 2019.

RÜCKAMP, M.; BRAUN, M.; SUCKRO, S.; BLINDOW, N. Observed glacial changes on the King George Island ice cap, Antarctica, in the last decade. *Global and Planetary Change*, v.79, p. 99-109, 2011.

SAITO, R. D.; CONNELL, L.; RODRIGUEZ, R.; REDMAN, R.; LIBKIND, D.; DE GARCIA, V. Metabarcoding analysis of the fungal biodiversity associated with Castaño Overa glacier–Mount Tronador, Patagonia, Argentina. *Fungal Ecology*, v. 36, p. 8-16, 2018.

SETÄLÄ, H.; MCLEAN, M. A. Decomposition rate of organic substrates in relation to the species diversity of soil saprophytic fungi. *Oecologia*, v. 139, n. 1, p. 98-107, 2004.

SICILIANO, S. D.; PALMER, A. S.; WINSLEY, T.; LAMB, E.; BISSETT, A.; BROWN, M. V. Soil fertility is associated with fungal and bacterial richness, whereas pH is associated with community composition in polar soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 78, p. 10-20, 2014.

SIGNORI, C. N.; PELLIZARI, V. H.; ENRICH-PRAST, A.; SIEVERT, S. M. Spatiotemporal dynamics of marine bacterial and archaeal communities in surface waters off the northern Antarctic Peninsula. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, v. 149, p. 150-160, 2018.

SIMÕES, C.L.; ROSA, K.K.D.; CZAPELA, F.F.; VIEIRA, R.; SIMOES, J.C. Collins Glacier Retreat Process and Regional Climatic Variations, King George Island, Antarctica. *Geographical Review*, v.105, p.462-471, 2015.

SMITTENBERG, R. H.; GIERGA, M.; GÖRANSSON, H.; CHRISTL, I.; FARINOTTI, D.; BERNASCONI, S. M.; Climate-sensitive ecosystem carbon dynamics along the soil chronosequence of the Damma glacier forefield, Switzerland. *Glob Chang Biol.*, v.18 p.1941–1955, 2012.

STADLER, K. (2018) cultevo: Tools, Measures and Statistical Tests for Cultural Evolution. R package version 1.0.2.

SUŁKOWSKA-ZIAJA, K.; MUSZYŃSKA, B.; GAWALSKA, A.; SAŁACIAK, K. Laetiporus sulphureus–CHEMICAL COMPOSITION AND MEDICINAL VALUE. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, v. 17, n. 1, 2018.

SZIŁO, J.; BIALIK, R. J. Bedload transport in two creeks at the ice-free area of the Baranowski Glacier, King George Island, West Antarctica. *Polish Polar Research*, v. 38, n. 1, p. 21-39, 2017.

TEDERSOO, L.; BAHRAM, M.; PÖLME, S.; KÖLJALG, U.; YOROU, N. S.; WIJESUNDERA, R. et al. Global diversity and geography of soil fungi. *science*, v. 346, n. 6213, 2014.

TEDERSOO, L.; BAHRAM, M.; TOOTS, M.; DIÉDHIU, A. G.; HENKEL, T. W.; KJØLLER, R.; et al. Towards global patterns in the diversity and community structure of ectomycorrhizal fungi. *Mol Ecol.*, v.21, p. 4160–4170, 2012.

TIAN, J.; QIAO, Y.; WU, B.; CHEN, H.; LI, W.; JIANG, N.; ZHANG, X.; LIU, X. Ecological succession pattern of fungal community in soil along a retreating glacier. *Frontiers in microbiology*, v.8, p.1028, 2017.

TIUNOV, A.; SCHEU, S. Facilitative interactions rather than resource partitioning drive diversity-functioning relationships in laboratory fungal communities. *Ecology Letters*, v. 8, n. 6, p. 618-625, 2005.

TURNER, J.; BARRAND, N. E.; BRACEGIRDLE, T. J.; CONVEY, P.; HODGSON, D. A.; JARVIS, M. et al. Antarctic climate change and the environment: an update. 2013.

URAMOTO, K., WALDER, J. M. M., ZUCCHI, R. A. Análise quantitativa e distribuição de populações de espécies de *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) no Campus Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP. *Neotropical Entomology*, Londrina, v. 34, n. 1: 033-039, 2005.

VAN HORN, D. J.; VAN HORN, M. L.; BARRETT, J. E.; GOOSEFF, M. N.; ALTRICHTER, A. E., GEYER, K. M. Factors controlling soil microbial biomass and bacterial diversity and community composition in a cold desert ecosystem: role of geographic scale. **PLoS One**, v. 8, n. 6, p. e66103, 2013.

WEI, S. T.; LACAP-BUGLER, D. C.; LAU, M. C.; CARUSO, T.; RAO, S.; DE LOS RIOS, A. et al. Taxonomic and functional diversity of soil and hypolithic microbial communities in Miers Valley, McMurdo Dry Valleys, Antarctica. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 1642, 2016.

WEI, T.; SIMKO, V.; LEVY, M.; XIE, Y.; JIN, Y.; ZEMLA, J. Package 'corrplot'. **Statistician**, v. 56, n. 316, p. e24, 2017.

WENTZEL, L. C. P.; INFORSATO, F. J.; MONTOYA, Q. V.; ROSSIN, B. G.; NASCIMENTO, N. R.; RODRIGUES, A.; SETTE, L. D. Fungi from Admiralty Bay (King George Island, Antarctica) soils and marine sediments. **Microbial Ecology**, v.77, p.12-24, 2019

WHALEN, E. D.; SMITH, R. G.; GRANDY, A. S.; FREY, S. D. Manganese limitation as a mechanism for reduced decomposition in soils under atmospheric nitrogen deposition. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 127, p. 252-263, 2018.

WHITE, T. J., BRUNS, T. D., LEE, S. B., TAYLOR, J. W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. INNIS, M. A.; GELFAND, D. H.; SNINSKY, J. J.; WHITE T. J. (eds). New York: Academic Press, pp. 315–322, 1990.

WICKHAM, H. Ggplot: using the grammar of graphics with R. 2009.

WRIGHT, K. E.; WILLIAMSON, C.; GRASBY, S. E.; SPEAR, J. R.; TEMPLETON, A. S. Metagenomic evidence for sulfur lithotrophy by Epsilonproteobacteria as the major energy source for primary productivity in a sub-aerial arctic glacial deposit, Borup Fiord Pass. **Frontiers in microbiology**, v. 4, p. 63, 2013.

YAHR, R.; SCHOCH, C. L.; DENTINGER, B. T. M. Scaling up discovery of hidden diversity in fungi: impacts of barcoding approaches. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 371, n. 1702, p. 20150336, 2016.

ZHANG, T.; WANG, N. F.; ZHANG, Y. Q.; LIU, H. Y.; YU, L. Y. Diversity and distribution of fungal communities in the marine sediments of Kongsfjorden, Svalbard (High Arctic). **Scientific reports**, v. 5, p. 14524, 2015.

ZUMSTEG, A.; LUSTER, J.; GÖRANSSON, H.; SMITTENBERG, R. H.; BRUNNER, I., BERNASCONI, S. M. et al. Bacterial, archaeal, and fungal succession in the forefield of a receding glacier. **Microbial ecology**, v. 63, n. 3, p. 552-564, 2012.

ANEXOS

ANEXO 1. Core do Micobioma associado ao recuo da geleira Baranowski e Collins

ASV	base Mean	Log2 FoldChange	pvalue	padj	Filo	Classe	Ordem	Família	Gênero
ASV51									
ASV284	32,40	-25,992	6,59E-25	2,03E-22	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Peniophoraceae	Peniophora
ASV396	19,91	-25,327	2,63E-24	5,41E-22	Ascomycota	-	-	-	-
ASV93	174,79	-11,385	2,50E-23	3,85E-21	-	-	-	-	-
ASV56	184,12	25,589	1,59E-17	1,96E-15	Ascomycota	Eurotiomycetes	Verrucariales	Verrucariaceae	Verrucaria
ASV384	19,23	-25,281	2,46E-17	2,53E-15	Ascomycota	-	-	-	-
ASV130	93,55	-10,480	5,17E-17	4,12E-15	-	-	-	-	-
ASV372	15,83	-25,012	5,34E-17	4,12E-15	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Fomitopsidaceae	Laetiporus
ASV381	14,23	-24,868	8,06E-17	5,52E-15	-	-	-	-	-
ASV389	12,28	-24,664	1,44E-16	8,88E-15	-	-	-	-	-
ASV270	7,82	-24,054	7,97E-16	4,47E-14	-	-	-	-	-
ASV342	5,63	-23,609	2,72E-15	1,40E-13	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Peniophoraceae	Peniophora
ASV167	27,30	23,099	1,47E-14	6,97E-13	-	-	-	-	-
ASV214	24,56	22,954	2,14E-14	9,45E-13	Ascomycota	Eurotiomycetes	Verrucariales	Verrucariaceae	Verrucaria
ASV95	20,99	22,737	3,75E-14	1,54E-12	Mortierellomycota	Mortierellomycetes	Mortierellales	Mortierellaceae	Mortierella
ASV102	20,31	22,691	4,22E-14	1,63E-12	Ascomycota	Leotiomycetes	Thelebolales	Pseudeurotiaceae	Pseudeurotium
ASV185	19,11	22,607	5,24E-14	1,90E-12	-	-	-	-	-
ASV222	17,11	22,453	7,76E-14	2,52E-12	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiales	Coleophoma
ASV439	17,17	22,456	7,70E-14	2,52E-12	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiaceae	Glarea
ASV154	14,58	22,224	1,39E-13	4,27E-12	Ascomycota	-	-	-	-
ASV438	6,68	21,144	1,98E-12	5,83E-11	Basidiomycota	-	-	-	-
ASV197	6,05	21,007	2,76E-12	7,74E-11	-	-	-	-	-
ASV124	9,65	20,594	7,17E-12	1,92E-10	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Leotiaceae	Gorgomyces
ASV228	4,13	20,477	9,72E-12	2,50E-10	-	-	-	-	-
ASV91	142,05	-7,664	8,45E-11	2,09E-09	-	-	-	-	-
ASV169	63,72	-7,492	2,84E-09	6,73E-08	Basidiomycota	-	-	-	-
ASV174	57,01	-9,756	5,08E-09	1,16E-07	Mortierellomycota	Mortierellomycetes	Mortierellales	Mortierellaceae	Mortierella
ASV209	51,72	-9,615	1,37E-08	3,02E-07	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Peniophoraceae	Peniophora
ASV119	99,81	-7,728	3,64E-08	7,74E-07	-	-	-	-	-

ASV301	29,27	-8,795	5,15E-08	1,06E-06	Ascomycota	Leotiomyces	Helotiales	Dermateaceae	-
ASV187	64,08	-9,923	5,47E-08	1,09E-06	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Meruliaceae	-
ASV366	21,09	-8,322	6,39E-08	1,23E-06	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Fomitopsidaceae	Laetiporus
ASV380	19,42	-8,205	7,06E-08	1,32E-06	-	-	-	-	-
ASV183	70,36	-7,281	1,05E-07	1,90E-06	-	-	-	-	-
ASV294	24,99	-8,568	1,63E-07	2,88E-06	Ascomycota	Leotiomyces	Helotiales	-	-
ASV190	52,16	-9,626	2,03E-07	3,48E-06	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Peniophoraceae	Peniophora
ASV267	47,51	-7,852	5,62E-07	9,37E-06	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Meruliaceae	Mycoacia
ASV317	25,57	-8,598	1,56E-06	2,53E-05	Chytridiomycota	Lobulomyces	Lobulomycetales	-	-
ASV319	24,55	-8,539	1,73E-06	2,73E-05	-	-	-	-	-
ASV83	118,85	-6,407	2,87E-06	4,42E-05	Chytridiomycota	-	-	-	-
ASV34	387,98	-4,873	6,49E-06	9,53E-05	Basidiomycota	Microbotryomycetes	-	-	-
ASV400	15,33	-7,861	6,35E-06	9,53E-05	Ascomycota	-	-	-	-
ASV480	12,61	-7,581	1,20E-05	0,00017	-	-	-	-	-
ASV68	152,59	-5,637	3,54E-05	0,00050	-	-	-	-	-
ASV295	26,84	-8,665	4,13E-05	0,00057	Ascomycota	Eurotiomyces	Verrucariales	Verrucariaceae	Verrucaria
ASV149	66,02	-6,527	5,64E-05	0,00076	-	-	-	-	-
ASV248	33,45	-6,486	7,18E-05	0,00094	Ascomycota	-	-	-	-
ASV43	302,75	-3,490	8,40E-05	0,00108	Ascomycota	Sordariomyces	Hypocreales	Nectriaceae	Lasionectria
ASV108	97,95	-4,869	0,00015	0,00188	Chytridiomycota	-	-	-	-
ASV232	43,29	-5,958	0,00018	0,00224	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Ganodermataceae	Ganoderma
ASV541	13,60	-7,684	0,00019	0,00225	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Peniophoraceae	Peniophora
ASV628	9,59	-7,183	0,00020	0,00239	-	-	-	-	-
ASV514	12,27	-6,144	0,00025	0,00286	-	-	-	-	-
ASV669	13,21	-7,639	0,00025	0,00286	Ascomycota	-	-	-	-
ASV62	240,37	-5,149	0,00030	0,00336	Ascomycota	-	-	-	-
ASV72	217,01	-5,655	0,00032	0,00353	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Meruliaceae	-
ASV511	14,79	-7,804	0,00044	0,00475	-	-	-	-	-
ASV505	14,91	-7,815	0,00045	0,00479	Ascomycota	Leotiomyces	Helotiales	Helotiaceae	Glarea
ASV123	106,85	-4,437	0,00052	0,00547	-	-	-	-	-
ASV663	10,08	-7,253	0,00064	0,00655	Basidiomycota	Microbotryomycetes	Sporidiobolales	Sporidiobolaceae	Rhodotorula
ASV547	13,29	-7,647	0,00066	0,00672	-	-	-	-	-
ASV549	9,44	-7,159	0,00068	0,00673	Ascomycota	Dothideomyces	Pleosporales	Didymosphaeriaceae	Paraphaeosphaeria
ASV16	1228,58	-4,684	0,00072	0,00705	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Fomitopsidaceae	Laetiporus
ASV49	286,23	-4,185	0,00078	0,00748	Ascomycota	-	-	-	-
ASV256	19,22	7,106	0,00088	0,00836	-	-	-	-	-
ASV375	16,83	-7,990	0,00090	0,00837	Basidiomycota	Malasseziomyces	Malasseziales	-	-

ASV134	94,77	-4,663	0,00098	0,00891	-	-	-	-	-
ASV136	86,82	-5,102	0,00097	0,00891	-	-	-	-	-
ASV465	9,41	-6,624	0,00104	0,00926	-	-	-	-	-
ASV85	178,31	-5,077	0,00107	0,00946	Ascomycota	-	-	-	-
ASV146	55,57	-4,481	0,00111	0,00962	Basidiomycota	Microbotryomycetes	Sporidiobolales	Sporidiobolaceae	Rhodotorula
ASV324	27,54	-5,534	0,00115	0,00988	Basidiomycota	Tremellomycetes	-	-	-

Anexo 2. Core da microbiota compartilhada entre as amostras de solo das geleiras Baranowski e Collins

ASV	Filo	Classe	Ordem	Familia	Gênero
ASV 1	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Meruliaceae	-
ASV 2	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Peniophoraceae	Peniophora
ASV 3	Mortierellomycota	Mortierellomycetes	Mortierellales	Mortierellaceae	Mortierella
ASV 4	Ascomycota	Leotiomycetes	Thelebolales	Thelebolaceae	Thelebolus
ASV 5	Mortierellomycota	Mortierellomycetes	Mortierellales	Mortierellaceae	Mortierella
ASV 6	Ascomycota	Eurotiomycetes	Verrucariales	Verrucariaceae	Verrucaria
ASV 7	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Peniophoraceae	Peniophora
ASV 8	Ascomycota	Eurotiomycetes	Verrucariales	Verrucariaceae	Verrucaria
ASV 10	Ascomycota	Eurotiomycetes	Verrucariales	Verrucariaceae	-
ASV 11	Mortierellomycota	Mortierellomycetes	Mortierellales	Mortierellaceae	Mortierella
ASV 12	Basidiomycota	Agaricomycetes	-	-	-
ASV 13	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Peniophoraceae	Peniophora
ASV 14	Mortierellomycota	Mortierellomycetes	Mortierellales	Mortierellaceae	Mortierella
ASV 15	Mortierellomycota	Mortierellomycetes	Mortierellales	Mortierellaceae	Mortierella
ASV 18	Mortierellomycota	Mortierellomycetes	Mortierellales	Mortierellaceae	Mortierella
ASV 19	Aphelidiomycota	-	-	-	-
ASV 22	Fungi	-	-	-	-
ASV 24	Ascomycota	-	-	-	-
ASV 26	Ascomycota	Lecanoromycetes	-	-	-
ASV 27	Ascomycota	Lecanoromycetes	Peltigerales	Pan-riaceae	Psoroma
ASV 30	Monoblepharomycota	Sanchytriomycetes	Sanchytriales	Sanchytriaceae	-
ASV 33	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	-	-
ASV 36	Basidiomycota	-	-	-	-
ASV 38	Mortierellomycota	Mortierellomycetes	Mortierellales	Mortierellaceae	Mortierella

ASV 39	Mortierellomycota	Mortierellomycetes	Mortierellales	Mortierellaceae	Mortierella
ASV 43	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	Lasionectria
ASV 46	Basidiomycota	Agaricomycetes	Agaricales	-	-
ASV 47	Ascomycota	Leotiomyces	Helotiales	Helotiales	Coleophoma
ASV 60	Ascomycota	Leotiomyces	Helotiales	Helotiaceae	Glarea
ASV 63	Rozellomycota	-	-	-	-
ASV 69	Fungi	-	-	-	-
ASV 73	Fungi	-	-	-	-
ASV 75	Ascomycota	Eurotiomycetes	Chaetothyriales	-	-
ASV 76	Ascomycota	Eurotiomycetes	Verrucariales	Verrucariaceae	Verrucaria
ASV 82	Ascomycota	Leotiomyces	Helotiales	Leotiaceae	Gorgomyces
ASV 88	Chytridiomycota	-	-	-	-
ASV 105	Fungi	-	-	-	-
ASV 111	Ascomycota	Leotiomyces	Thelebolales	Pseudeurotiaceae	Pseudogymnoascus
ASV 118	Ascomycota	Lecanoromycetes	Peltigerales	Pan-riaceae	Psoroma
ASV 120	Aphelidiomycota	Aphelidiomycetes	GS16	-	-
ASV 127	Ascomycota	-	-	-	-
ASV 367	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Meruliaceae	-
ASV 572	Ascomycota	-	-	-	-

Anexo 4. Espécies Indicadoras presentes nas amostras de solo da geleira Baranowski

ASV	Reino	Filo	Classe	Ordem	Familia	Gênero	Espécie
ASV183	Fungi						
ASV72	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Meruliaceae		
ASV123	Fungi						
ASV93	Fungi						
ASV91	Fungi						
ASV267	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Meruliaceae	Mycoacia	fuscoatra
ASV136	Fungi						
ASV90	Fungi	Basidiomycota	Microbotryomycetes	Kriegeriales	Camptobasidiaceae	Glaciozyma	
ASV16	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Fomitopsidaceae	Laetiporus	
ASV145	Fungi						
ASV29	Fungi	Chytridiomycota					
ASV271	Fungi	Ascomycota	Eurotiomycetes	Verrucariales	Verrucariaceae	Verrucaria	humida
ASV20	Fungi						
ASV49	Fungi	Ascomycota					
ASV514	Fungi						
ASV103	Fungi	Ascomycota					
ASV628	Fungi						
ASV380	Fungi						
ASV174	Fungi	Mortierellomycota	Mortierellomycetes	Mortierellales	Mortierellaceae	Mortierella	elongatula
ASV134	Fungi						
ASV34	Fungi	Basidiomycota	Microbotryomycetes				
ASV189	Fungi	Basidiomycota					
ASV233	Fungi	Basidiomycota					
ASV187	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Meruliaceae		
ASV61	Fungi	Basidiomycota					
ASV209	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Peniophoraceae	Peniophora	laxitexta
ASV576	Fungi						
ASV199	Fungi	Ascomycota	Eurotiomycetes	Verrucariales	Verrucariaceae	Verrucaria	
ASV301	Fungi	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Dermateaceae		
ASV207	Fungi	Mortierellomycota	Mortierellomycetes	Mortierellales	Mortierellaceae	Mortierella	fimbricystis
ASV169	Fungi	Basidiomycota					
ASV322	Fungi						
ASV89	Fungi	Rozellomycota					

ASV245	Fungi						
ASV319	Fungi						
ASV152	Fungi						
ASV43	Fungi	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Nectriaceae	Lasionectria	oenthicola
ASV149	Fungi						
ASV269	Fungi						
ASV330	Fungi	Ascomycota	Pezizomycetes	Pezizales	Pyronemataceae	Cheilymenia	
ASV329	Fungi	Mortierellomycota	Mortierellomycetes	Mortierellales	Mortierellaceae	Mortierella	
ASV324	Fungi	Basidiomycota	Tremellomycetes				
ASV175	Fungi	Basidiomycota	Microbotryomycetes	Kriegeriales	Camptobasidiaceae	Glaciozyma	watsonii
ASV419	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Polyporaceae		
ASV511	Fungi						
ASV919	Fungi	Ascomycota	Sordariomycetes	Xylariales	Diatrypaceae	Peroneutypa	scoparia
ASV138	Fungi	Basidiomycota	Microbotryomycetes	Kriegeriales	Camptobasidiaceae	Glaciozyma	
ASV541	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Peniophoraceae	Peniophora	parvocystidiata
ASV195	Fungi	Ascomycota					
ASV480	Fungi						
ASV129	Fungi						
ASV180	Fungi						
ASV669	Fungi	Ascomycota					
ASV109	Fungi	Basidiomycota					
ASV179	Fungi	Chytridiomycota					
ASV247	Fungi	Ascomycota	Leotiomyces	Helotiales	Leotiaceae	Gorgomyces	
ASV387	Fungi	Ascomycota	Leotiomyces	Helotiales	Dermateaceae	Pseudofabraea	citricarpa
ASV347	Fungi						
ASV621	Fungi	Basidiomycota	Tremellomycetes	Cystofilobasidiales	Mrakiaceae	Mrakia	frigida
ASV295	Fungi	Ascomycota	Eurotiomyces	Verrucariales	Verrucariaceae	Verrucaria	
ASV213	Fungi						
ASV607	Fungi	Chytridiomycota					
ASV463	Fungi						
ASV203	Fungi						
ASV317	Fungi	Chytridiomycota	Lobulomyces	Lobulomycetales			
ASV107	Fungi	Monoblepharomycota	Sanchytriomyces	Sanchytriales	Sanchytriaceae	Sanchytrium	
ASV680	Fungi						
ASV294	Fungi	Ascomycota	Leotiomyces	Helotiales			
ASV1006	Fungi						

ASV130	Fungi						
ASV62	Fungi	Ascomycota					
ASV80	Fungi						
ASV667	Fungi						
ASV190	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Peniophoraceae	Peniophora	
ASV502	Fungi						
ASV321	Fungi	Ascomycota	Eurotiomycetes	Verrucariales	Verrucariaceae	Verrucaria	humida
ASV53	Fungi	Basidiomycota	Microbotryomycetes				
ASV226	Fungi						
ASV284	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Russulales	Peniophoraceae	Peniophora	laxitexta
ASV42	Fungi						
ASV470	Fungi						
ASV479	Fungi						
ASV650	Fungi						
ASV497	Fungi	Chytridiomycota					
ASV315	Fungi						
ASV505	Fungi	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiaceae	Glearea	
ASV94	Fungi	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiales_fam_Incerta	Coleophoma	
ASV44	Fungi						
ASV547	Fungi						
ASV232	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Ganodermataceae	Ganoderma	
ASV971	Fungi	Ascomycota	Dothideomycetes	Capnodiales	Cladosporiaceae	Cladosporium	halotolerans
ASV78	Fungi	Basidiomycota	Malasseziomycetes	Malasseziales	Malasseziaceae	Malassezia	restricta
ASV663	Fungi	Basidiomycota	Microbotryomycetes	Sporidiobolales	Sporidiobolaceae	Rhodotorula	
ASV832	Fungi						
ASV132	Fungi						
ASV194	Fungi	Chytridiomycota	Chytridiomycetes	Chytridiales			
ASV375	Fungi	Basidiomycota	Malasseziomycetes	Malasseziales			
ASV66	Fungi	Basidiomycota					
ASV984	Fungi						
ASV705	Fungi	Aphelidiomycota					
ASV83	Fungi	Chytridiomycota					
ASV555	Fungi	Basidiomycota					
ASV202	Fungi	Ascomycota	Eurotiomycetes	Verrucariales	Verrucariaceae	Verrucaria	
ASV783	Fungi						
ASV146	Fungi	Basidiomycota	Microbotryomycetes	Sporidiobolales	Sporidiobolaceae	Rhodotorula	mucilaginsa
ASV79	Fungi						

ASV68	Fungi							
ASV135	Fungi	Chytridiomycota						
ASV366	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Fomitopsidaceae	Laetiporus		
ASV248	Fungi	Ascomycota						
ASV1008	Fungi							
ASV99	Fungi							
ASV378	Fungi							
ASV846	Fungi							
ASV85	Fungi	Ascomycota						
ASV588	Fungi							
ASV128	Fungi	Chytridiomycota						
ASV536	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Fomitopsidaceae	Laetiporus		
ASV549	Fungi	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Didymosphaeriaceae	Paraphaeosphaeria	michotii	
ASV231	Fungi							
ASV224	Fungi							
ASV156	Fungi							
ASV331	Fungi							
ASV400	Fungi	Ascomycota						
ASV384	Fungi	Ascomycota						
ASV393	Fungi							
ASV953	Fungi	Chytridiomycota	Rhizophydiomycetes	Rhizophydiales				
ASV116	Fungi	Basidiomycota	Malasseziomycetes	Malasseziales				
ASV721	Fungi	Monoblepharomycota	Sanchytriomycetes	Sanchytriales	Sanchytriaceae	Sanchytrium		
ASV389	Fungi							
ASV119	Fungi							
ASV396	Fungi	Ascomycota						
ASV372	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Fomitopsidaceae	Laetiporus		
ASV805	Fungi							
ASV742	Fungi	Chytridiomycota						
ASV23	Fungi							
ASV592	Fungi	Ascomycota						
ASV691	Fungi	Chytridiomycota						
ASV761	Fungi	Ascomycota	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Debaryomycetaceae	Meyerozyma	neustonensis	
ASV97	Fungi							

Anexo 5. Espécies Indicadoras provenientes das amostras de solo do recuo da geleira Collins

ASV	Reino	Filo	Classe	Ordem	Família	Gênero	Espécie
ASV60	Fungi	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	Helotiaceae	Glarea	
ASV427	Fungi	Ascomycota	Eurotiomycetes	Verrucariales	Verrucariaceae	Verrucaria	margacea
ASV272	Fungi	Ascomycota	Leotiomycetes	Thelebolales	Pseudeurotiaceae	Pseudogymnoascus	destructans
ASV63	Fungi	Rozellomycota					
ASV735	Fungi	Ascomycota	Eurotiomycetes	Verrucariales	Verrucariaceae	Verrucaria	margacea
ASV525	Fungi	Ascomycota	Eurotiomycetes	Verrucariales	Verrucariaceae	Verrucaria	margacea
ASV51	Fungi						
ASV111	Fungi	Ascomycota	Leotiomycetes	Thelebolales	Pseudeurotiaceae	Pseudogymnoascus	destructans
ASV530	Fungi	Ascomycota	Eurotiomycetes				
ASV589	Fungi	Chytridiomycota					
ASV256	Fungi						
ASV59	Fungi	Mortierellomycota	Mortierellomycetes	Mortierellales	Mortierellaceae	Mortierella	antarctica
ASV442	Fungi						
ASV69	Fungi						
ASV177	Fungi	Ascomycota					
ASV171	Fungi	Basidiomycota					
ASV495	Fungi						
ASV287	Fungi	Ascomycota	Sordariomycetes	Microascales	Microascaceae	Petriella	sordida

DISCUSSÃO INTEGRADA

Os ecossistemas de geleiras são particularmente vulneráveis a mudanças de temperaturas forçando seu rápido recuo e podendo resultar no desaparecimento iminente. Essa questão provoca uma grave preocupação ecológica, dado o nosso conhecimento extremamente limitado da biodiversidade nesses ambientes, incluindo de muitos taxa endêmicos (UETAKE et al., 2014). O gelo e as geleiras abrigam uma biodiversidade significativa, apesar da baixa temperatura, pouca água disponível para processos celulares (principalmente sazonalmente) e baixa disponibilidade de nutrientes (HODSON et al., 2008; ANESIO; LAYBOURN-PARRY, 2012; BOETIUS et al., 2015). O recuo de geleiras e a diminuição do manto de gelo são capazes de promover mudanças na biodiversidade associada a esses ambientes (STIBAL et al., 2019).

Embora as comunidades fúngicas da Antártica possuam uma longa história de descrição por meio do isolamento e da estruturação de coleções de culturas, o conhecimento é amplamente limitado aos fungos que produzem corpos de frutificação ou são facilmente cultiváveis (BRIDGE; SPOONER, 2012). Nesses estudos utilizamos duas abordagens distintas para acessar a diversidade fúngica dos recuos de geleiras antárticas, o método tradicional dependente de cultivo e o método independente de cultivo, por meio de sequenciamento de nova geração Illumina Miseq utilizando a abordagem *metabarcoding*.

O método dependente de cultivo revelou um total de 309 fungos nas onze amostras (0, 3, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400 e 800 metros) do solo da frente da geleira Collins, os quais estão distribuídos em 19 gêneros. Os dados revelaram também a presença de fungos filamentosos ainda não relatados ao ambiente antártico.

O sequenciamento de nova geração, por meio da abordagem de *metabarcoding* da região ITS resultou em um total de 3025 ASVs (análogo de OTU) a partir das amostras de solo ao longo da transecto das geleiras Baranowski e Collins (0, 50, 100, 200, 300 e 400 m). Sendo o total de 1.382 ASVs oriundo das amostras da Baranowski e 2.316 ASVs pertencente a Collins.

Em contraste com os dados obtidos pelo método dependente de cultivo, a análise de *metabarcoding* das amostras de solo da geleira Collins, apresentou um

total de 1.343.162 *reads*, sendo 1.377 ASVs classificadas ao nível de gênero, representando 161 táxons.

Com relação às duas abordagens aplicadas para acessar a comunidade fúngica do solo da geleira Collins, o método *metabarcoding* permitiu o acesso a uma diversidade não encontrada no método dependente de cultivo. Os Filos Ascomycota, Mortierellomycota, Basidiomycota foram encontrados nas duas metodologias utilizadas. Com dominância de Ascomycota em ambos os métodos. Esses dados são consistentes com estudos anteriores baseados em abordagens independentes e dependentes de cultivo (ARENZ et al., 2006; DREESENS et al., 2014; PUDASAINI et al., 2017; DUARTE et al., 2018; WENTZEL et al., 2019; CANINI et al., 2020). No entanto, os Filos Chytridiomycota, Aphelidiomycota, Monoblepharomycota, Rozellomycota e Glomeromycota foram encontrados apenas quando a abordagem *metabarcoding* foi utilizada. Esses resultados demonstram que a análise de *metabarcoding* de DNA ambiental é uma opção valiosa para descrever a composição e distribuição da microbiota terrestre em ambientes extremos como a Antártica (CZECHOWSKI et al., 2017). Essa abordagem é capaz de produzir grandes quantidades de dados em detalhes, com fluxos de trabalho de laboratório relativamente simples e com eficiência de tempo.

O gênero *Mortierella* (Mortierellomycota) apresentou uma alta prevalência e abundância tanto no método dependente de cultivo (7%) como no *metabarcoding* (38%, 86 ASVs). De acordo com estudos anteriores, o gênero é descrito como prevalentes e diversos nos ambientes da Antártica (TOSI et al., 2002 ; ADAMS et al., 2006; ARENZ et al., 2006 , 2011; BRIDGE; NEWSHAM, 2009; GONÇALVES et al., 2012, 2015; GODINHO et al., 2013; ZHANG et al., 2013a; FURBINO et al., 2014).

O gênero *Pseudogymnoascus* (Ascomycota) foi relatado anteriormente como gênero predominante na Antártica (ARENZ et al., 2006; DING et al., 2016; WENTZEL et al., 2019). No entanto, o presente trabalho demonstrou que esse gênero apresenta uma alta abundância em relação a outros táxons pelo método dependente de cultivo. Contudo, os dados obtidos pelo método de *metabarcoding* avaliando os solos da mesma geleira demonstraram que este não representa o táxon mais abundante no transecto. na abordagem dependente de cultivo o gênero foi dominante e prevalente em todas as amostras, representando 65% dos isolados, enquanto no método

independente de cultivo, o gênero foi representado por 4 ASVs correspondentes a 4.823 *reads*, representando 0,53% da abundância relativa. Os fungos pertencentes ao gênero *Pseudogymnoascus* são conhecidos por serem psicrófilicos com uma faixa térmica ótima conhecida para crescimento entre 12 e 15° C, com interrupção do crescimento a 20 °C (VERANT et al. 2012). Representantes desse gênero são capazes de crescer em uma ampla variedade de substratos (REYNOLDS; BARTON 2014a). Provavelmente essas características citadas beneficiam a recuperação desses isolados presentes nos ambientes antárticos.

Os gêneros reportados como mais abundantes nas amostras da geleira Collins pela abordagem *metabarcoding* foram *Mortierella* (38%, 86 ASVs), *Peniophora* (21%, 63 ASVs) e *Verrucaria* (16%, 137 ASVs). Tanto *Peniophora* como *Verrucaria* não foram obtidos quando o método dependente de cultivo foi aplicado.

Com a abordagem dependente de cultivo foi possível isolar fungos filamentosos pertencentes ao Filo Basidiomycota (dois gêneros das ordens Agaricales e Russulales), os quais são raramente reportados na Antártica por métodos de isolamento e cultivo. Grande parte dos representantes do Filo Basidiomycota relatados no ambiente antártico utilizando abordagens de cultivo está relacionada com os fungos leveduriformes (DUARTE et al., 2018; WENTZEL et al., 2019; ARENZ et al., 2009). A abordagem de *metabarcoding* comprovou que os fungos filamentosos pertencentes ao Filo Basidiomycota são altamente abundantes no recuo da geleira Collins, embora sejam pouco documentados por métodos de cultivo. O Filo Basidiomycota nesse ambiente foi representado por 8 Classes, 22 Ordens, 49 Família e 66 gêneros. A ordem Russulales (14% da abundância relativa) foi a segunda ordem mais abundante encontrada da geleira, sendo representado por 65 ASVs, enquanto Agaricales, apresentou um total de 306.735 *reads*, representando 3,15% da abundância relativa do total de taxa (60 ASVs).

Com relação aos parâmetros ambientais, a análise dos modelos lineares generalizados revelou que a distância da geleira Collins, bem como o Fósforo e a Argila foram capazes de modificar a distribuição das espécies de fungos cultivados. A distância da geleira (em metros) e Fósforo demonstraram influenciar também a composição da comunidade fúngica independente de cultivo, observada na análise de Mantel, com a correlação de Person. As variações ambientais demonstraram ter

influenciado os gêneros *Pseudogymnoascus* e *Pseudeutorium*. Nos dados obtidos pelo método *metabarcoding*, o gênero *Pseudogymnoascus* apresentou associação positiva com Magnésio e negativa com Potássio.

A abordagem de *metabarcoding* utilizada para avaliar os solos das geleiras Collins e Baranowski demonstrou diferenças significativas entre a comunidade fúngica presente nos solos de recuo dessas geleiras. A geleira Collins vem recuando lentamente, a área de solo exposto de frente da geleira vem mantendo uma posição próxima a atual por cerca de 5000 anos (MÄUSBACHER et al., 1989). No entanto, de acordo com Simões et al., (2015) houve uma aceleração do recuo nos últimos anos devido ao aquecimento ambiental. Em contrapartida, a geleira Baranowski vem recuando rapidamente, apresentando mudanças significativas nos últimos 60 anos (SZIŁO et al., 2018). A composição da comunidade fúngica da geleira Collins demonstrou ser mais heterogênea entre as amostras no transecto, apresentando poucas espécies indicadoras e um core microbiano limitado. A geleira Baranowski demonstrou ter uma comunidade fúngica mais homogênea entre o transecto, com um número maior de espécies indicadoras e uma maior representatividade de taxas compondo o core do microbioma. Possivelmente a composição da comunidade fúngica desses ambientes refletem ao tempo de recuo e exposição as condições de estresse do ambiente.

Os dados revelaram uma alta abundância e prevalência da Classe Agaricomycetes, principalmente nas amostras da geleira Baranowski. Essa classe é reconhecida por possuir representantes predominantes em ambientes temperados (TEDERSOO et al., 2014) e apresentar baixa abundância em ambiente antártico (COX et al., 2016). Esse resultado, indica que isso possa ser um sinal das alterações ocorridas no ambiente pelo aumento da temperatura ambiental.

A mudança climática é um dos problemas mais importantes que preocupam a sociedade moderna. Todos os cenários climáticos projetam um aumento significativo de temperatura até o final do século XXI na região da Península Antártica, o que levará a um aumento na extensão de ambientes sem a presença de gelo. Nesse contexto, uma caracterização precisa da resposta de ambientes recentemente deglaciados após o recuo glacial é fundamental para antecipar as futuras respostas ambientais neste cenário climático altamente sensível.

Contudo, são escassos os dados disponíveis para avaliar o impacto ambiental nos organismos vivos devido às mudanças climáticas (GARCÍA-DESCALZO et al., 2013), sendo necessário desenvolver uma investigação rigorosa antes de realizar qualquer intervenção. Desta forma, os dados são preciosamente necessários para inferir possíveis respostas de organismos vivos às mudanças climáticas. É importante saber como os padrões microbianos estão sendo alterados e como essas mudanças estão afetando o clima, pois esses micro-organismos são componentes essenciais das redes alimentares e são frequentemente os principais produtores dominantes. Embora toda a gama de implicações ecológicas permaneça pouco compreendida, as mudanças na base das redes alimentares implicam necessariamente consequências para níveis tróficos mais altos (HOBBS et al., 2010). No entanto, a avaliação do efeito do aquecimento global na comunidade microbiana é uma tarefa difícil devido às muitas variáveis de resposta mutuamente dependentes e respostas não lineares.

A análise *metabarcoding* revelou uma diversidade de fungos maior do que a encontrada pelo método dependente de cultivo, ampliando o conhecimento sobre biodiversidade em recuos de geleiras. Contudo, um total de 16% dos *reads* obtidos foram classificados apenas a nível de Reino. Com base nisso, reforçamos a importância da utilização tanto de abordagem dependente quanto independente de cultivo para acessar a microbiota. Embora o sequenciamento de amostras ambientais possa detectar rapidamente a diversidade e elucidar os padrões ecológicos, essa abordagem depende de bancos de dados de sequências informativas para a identificação (COSTELLO et al., 2013; YAHR et al., 2016). Compilar e validar sequências ambientais de alta qualidade requer o uso de métodos taxonômicos "tradicionais", os quais devem ser considerados complementares às abordagens de "nova geração" (TRUONG et al., 2017). Desta forma, a identificação de fungos por métodos tradicionais é de fundamental importância para alimentar os bancos de dados. Devido à falta de conhecimento atual, grande parte das sequências ambientais não pode ser identificada em um nível taxonômico significativo (NILSSON et al., 2016). Espécimes cultiváveis e bem documentados são essenciais para reconstruir filogenias robustas, vincular dados de sequência a morfologia e fornecer dados ecológicos sobre associações de hospedeiros e substratos (PEAY, 2014). GenBank e UNITE são os principais repositórios de dados de sequência de fungos usados para classificação de

sequências. O banco de dados UNITE (<https://unite.ut.ee>) representa um repositório de sequências de ITS completo, com curadoria e sem sequências ambíguas (NILSSON et al., 2014). No entanto, a problemática dos 'táxons escuros' (*dark taxa*) representados por sequências sem binômios formais está crescendo constantemente (PAGE, 2013; 2016), além de 'sequências sem nomes' e de 'nomes sem sequências'. De um período de 10 anos até 2009, mais de 70% das novas espécies de fungos descritas não tiveram sequência ITS depositada (HIBBETT et al., 2011). A aplicação da abordagem *metabarcoding* está resultando em um número cada vez maior de sequências ITS não identificadas (FEDERHEN, 2012), as quais limitam o sistema de classificação para os dados de sequenciamento de nova geração.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

- Nossos resultados mostraram que os solos presentes no recuo de geleiras Antárticas, mesmo sujeitos às condições extremas do ambiente, demonstraram ser uma rica fonte para o isolamento e obtenção de dados relacionados às comunidades fúngicas.
- O método dependente de cultivo revelou uma diversidade representada principalmente por Ascomycota e fungos cosmopolitas. Representantes dos gêneros *Pseudogymnoascus* e *Pseudeutorium* responderam às variações ambientais correspondentes à distância da geleira, fósforo e argila.
- O gênero *Pseudogymnoascus* apresentou maior predominância nos dados obtidos com o método dependente de cultivo. No entanto, a análise *metabarcoding* revelou este não representa o gênero mais abundante no recuo da geleira Collins.
- O isolamento de fungos representantes do Filo Basidiomycota, e alta taxa de recuperação de DNA ambiental de Agaricomycetes (Basidiomycota) no solo dos recuos, sugerem que esses ambientes estão sofrendo modificações na estrutura da comunidade devido ao aquecimento ambiental.
- A metodologia *metabarcoding* revelou diferenças significativas na composição fúngica das geleiras Baranowski e Collins. Sugerindo que o tempo de recuo pode ter selecionado algumas espécies nesses ambientes.

- Os estudos de *metabarcoding* e metagenômica baseados em HTS podem agregar valor na avaliação da integridade ecológica e da saúde dos ecossistemas antárticos. Quando aplicados a grandes números de amostras, em grandes escalas espaciais e em várias biotas, essas abordagens podem ampliar nossa compreensão sobre a biodiversidade antártica em escala continental.
- O conhecimento da microbiota em solos expostos pelo recuo das geleiras dependerá da maior disponibilidade de dados gerados tanto por métodos de isolamento e cultivo quanto por abordagens independentes de cultivo, bem como de esforços para avaliar quantitativamente a influência de vários processos ambientais na composição da microbiota. Isso permitirá tomar decisões preditivas, colaborando com uma melhor compreensão dos processos subjacentes que impulsionam o desenvolvimento da comunidade microbiana em solos expostos, tanto para sistemas de geleiras de pequena escala quanto para recuo de calotas de gelo em larga escala.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, B. J.; BARDGETT, R. D.; AYRES, E.; WALL, D. H.; AISLABIE, J.; BAMFORTH, S. et al. Diversity and distribution of Victoria Land biota. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 38, n. 10, p. 3003-3018, 2006.
- ALCAZAR, A.; GARCIA-DESCALZO, L.; CID, C. Microbial evolution and adaptation in icy worlds. *Astrobiology: Physical Origin, Biological Evolution and Spatial Distribution*, p. 81-95, 2010.
- ANESIO, A. M.; LUTZ, S.; CHRISMAS, N. A. M.; BENNING, L. G. The microbiome of glaciers and ice sheets. *Biofilms Microbiomes*, v.3, n.1, p. 1-11, 2017.
- ANESIO, A. M.; LAYBOURN-PARRY, J. Glaciers and ice sheets as a biome. *Trends in Ecology Evolution*, v.27, n.4, p.219–225, 2012.
- ARENZ, B.E.; HELD, B.H.; JURGENS, J.A.; FARRELL, R.L.; BLANCHETTE, R.A. Fungal diversity in soils and historic wood from the Ross Sea Region of Antarctica. *Soil Biology & Biochemistry*, Elmsford, v. 38, n. 10, p. 3057-3064, 2006.
- ARENZ, B. E.; BLANCHETTE, R. A. Distribution and abundance of soil fungi in Antarctica at sites on the Peninsula, Ross Sea Region and McMurdo Dry Valleys. *Soil Biology & Biochemistry*, Elmsford, v. 43, p. 308-315, 2011.
- ANTARCTIC TREATY SECRETARIAT. Parties, 2011. Disponível em <www.ats.aq/devAS/ats_parties.aspx?lang=e>.
- BARGAGLI, R. Antarctic ecosystems: environmental contamination, climate change, and human impact. Springer Science & Business Media, v.175, 2006.
- BARRAND, N. E.; VAUGHAN, D. G.; STEINER, N.; TEDESCO, M.; KUIPERS MUNNEKE, P.; VAN DEN BROEKE, M. R.; HOSKING, J. S. Trends in Antarctic Peninsula surface melting conditions from observations and regional climate modeling. *Journal of Geophysical Research: Earth Surface*, v.118, n.1, p. 315-330, 2013.
- BATISTA, T. M.; HILARIO, H. O.; DE BRITO, G. A. M.; MOREIRA, R. G.; FURTADO, C.; DE MENEZES, G. C. A. et al. Whole-genome sequencing of the endemic Antarctic fungus *Antarctomyces pellizariae* reveals an ice-binding protein, a scarce set of secondary metabolites gene clusters and provides insights on Thelebolales phylogeny. *Genomics*, 2020.
- BENN, D. I.; EVANS, D. J. A. *Glaciers and Glaciation*. Londres: Arnold, p.734 2010.
- BIASI, C.; RUSALIMOVA, O.; MEYER, H.; KAISER, C.; WANER, W.; BARSUKOV, P.; JUNGER, H.; RICHTER, A. Temperature-dependent shift from labile to recalcitrant carbon sources of arctic heterotrophs. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, v.19, p.1401-1408, 2005.
- BIRKENMAJER, K. Retreat of Ecology Glacier, Admiralty Bay, King George Island (South Shetland Islands, West Antarctica). 1956-2001. *Bulletin of Polish Academy of Sciences: Earth Sciences*, v. 50, n.1, p 5-19. 2002.
- BLAALID, R.; CARLSEN, T. O. R.; KUMAR, S.; HALVORSEN, R.; UGLAND, K. I.; FONTANA, G.; KAUSERUD, H. Changes in the root-associated fungal communities along a primary succession gradient analysed by 454 pyrosequencing. *Molecular ecology*, v.21, n.8, p. 1897-1908, 2012.
- BOCKHEIM, J. G. Soil-Forming Factors in Antarctica . In: *The soils of Antarctica*, Springer International Publishing Switzerland, p. 5-20, 2015.

- BOETIUS, A.; ANESIO, A. M.; DEMING, J. W.; MIKUCKI, J. A.; RAPP, J. Z. Microbial ecology of the cryosphere: sea ice and glacial habitats. *Nature Reviews Microbiology*, v.13, n.11, p. 677-690, 2015.
- BOKHORST, S.; METCALFE, D.B.; WARDLE, D.A. Reduction in snow depth negatively affects decomposers but impact on decomposition rates is substrate dependent. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 62, p. 157-164, 2013.
- BOLCH, T.; KAMP, U. Glacier mapping in high mountains using DEMs, Landsat and ASTER data. *Grazer Schriften der Geographie und Raumforschung*, n. 41, p. 37- 48, 2006.
- BORE, E.K.; HALICKI, S.; KUZYAKOV, Y.; DIPPOLD, M.A. Structural and physiological adaptations of soil microorganisms to freezing revealed by position-specific labeling and compound-specific ¹³C analysis. *Biogeochemistry*, v.143, p.207–219, 2019.
- BOTTOS, E. M.; SCARROW, J. W.; ARCHER, S. D.; MCDONALD, I. R.; CARY, S. C.; BOTTOS, E. M. et al. Bacterial community structures of Antarctic soils. In: *Antarctic terrestrial microbiology*. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 9-33, 2014.
- BRADLEY, J. A.; SINGARAYER, JOY S.; ANESIO, ALEXANDRE M. Microbial community dynamics in the forefield of glaciers. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, v. 281, n. 1795, p. 20140882, 2014.
- BRAUN, M.; GOSSMANN, H. Glacial changes in the area of Admiralty Bay and Potter Cove, King George Island, Antarctica. In: BEYER, L.; BÖLTER, M. *Geocology of Terrestrial Antarctic Oasis*. Berlin-Heidelberg:Springer Verlag, p. 75–89,2002.
- BRAUN, M.; HOCK, R. Spatially distributed surface energy balance and ablation modelling on the ice cap of King George Island (Antarctica). *Global and Planetary Change*, v. 42, n. 1, p. 45–58, 2004.
- BREMER, U. F. Morfologia e bacias de drenagem na cobertura de gelo da ilha Rei George, Antártica. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Centro Estadual de Pesquisas em Sensoriamento Remoto e Meteorologia, Curso de Pós-Graduação em Sensoriamento Remoto. Porto Alegre, 135 p., 1998.
- BRIDGE, P.D.; NEWSHAM, K.K. Soil fungal community composition at Mars Oasis, a southern maritime Antarctic site, assessed by PCR amplification and cloning. *Fungal Ecol.*, v.2, p.66–74, 2009.
- BRIDGE, P.; SPOONER, B. Non-lichenized Antarctic fungi: transient visitors or members of a cryptic ecosystem? *Fungal Ecol.*, v.5, p.381–394, 2012.
- BROWN, S. P.; JUMPPONEN A. Contrasting primary successional trajectories of fungi and bacteria in retreating glacier soils. *Molecular Ecology*, v.23 p.481-497, 2014.
- BUÉE, M.; REICH, M.; MURAT, C.; MORIN, E.; NILSSON, R. H.; UROZ, S.; MARTIN, F. 454 Pyrosequencing analyses of forest soils reveal an unexpectedly high fungal diversity. *New phytologist*, v.184, n.2, p.449-456, 2009.
- BURLANDO, P.; PELLICCIOTTI, F.; STRASSER, U. Modelling mountainous water systems between learning and speculating looking for challenges. *Hidrology Research*, n. 33, n. 1, p. 47–74, 2002.
- BURROWS, S. M.; ELBERT, W.; LAWRENCE, M. G.; PÖSCHL, U. Bacteria in the global atmosphere—part 1: review and synthesis of literature data for different ecosystems. *Atmos. Chem. Phys.*, v.9, p.9263–9280, 2009.

BURTON-JOHNSON, A.; BLACK, M.; FRETWELL, P.; KALUZA-GILBERT, J. An automated methodology for differentiating rock from snow, clouds and sea in Antarctica from Landsat 8 imagery: a new rock outcrop map and area estimation for the entire Antarctic continent. *The Cryosphere*, v. 10, p. 1665-1677, 2016.

CANINI, F.; GEML, J.; D'ACQUI, L. P.; SELBMANN, L.; ONOFRI, S.; VENTURA, S.; ZUCCONI, L. Exchangeable cations and pH drive diversity and functionality of fungal communities in biological soil crusts from coastal sites of Victoria Land, Antarctica. *Fungal Ecology*, v.45, p.100923, 2020.

CAPORASO, J. G.; KUCZYNSKI, J.; STOMBAUGH, J.; BITTINGER, K.; BUSHMAN, F. D.; COSTELLO, E. K.; FIERER, N.; PENA, A. G.; GOODRICH, J. K.; GORDON, J. I.; HUTTLEY, G. A.; KELLEY, S. T.; KNIGHTS, D.; KOENIG, J. E.; LEY, R. E.; LOZUPONE, C. A.; MCDONALD, D.; MUEGGE, B. D.; PIRRUNG, M.; REEDER, J.; SEVINSKY, J. R.; TURNBAUGH, P. J.; WALTERS, W. A.; WIDMANN, J.; YATSUNENKO, T.; ZANEVELD, J.; KNIGHT, R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature methods*, v. 7, n. 5, p. 335, 2010.

CAVICCHIOLI, R.; SIDDIQUI, K.S.; ANDREWS, D.; SOWERS, K.R. Low-temperature extremophiles and their applications. *Curr. Opin. Biotechnol.*, v.13, p.253–261, 2002.

CHOWN, S. L. Antarctic marine biodiversity and deep-sea hydrothermal vents. *PLoS Biol*, v. 10, n. 1, p. e1001232, 2012.

CHOWN, S. L.; CLARKE, A.; FRASER, C. I.; CARY, S. C.; MOON, K. L.; MCGEOCH, M. A. The changing form of Antarctic biodiversity. *Nature*, v.522, n.7557, p.431-438, 2015.

Christner BC, Priscu JC. Earth's icy biosphere. In *Third International Conference on Mars Polar Science and Exploration 2003*.

CLARKE, A. Evolution, adaptation and diversity: global ecology in an Antarctic context. In: HUISKES, A. H. L.; GIESKES, W. W. C.; ROZEMA, J.; SCHORNO, R. M. L.; VAN DER VIES, S. M.; WOLFF, W. J. (Ed.). *Antarctic Biology in a Global Context*, Leiden: Backhuys Publishers, p.3-17, 2003.

COLLINS, T.; MARGESIN, R. Psychrophilic lifestyles: Mechanisms of adaptation and biotechnological tools. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v.103, p.2857–2871, 2019.

COOK, A. J.; FOX, A. J.; VAUGHAN, D. G.; FERRIGNO, J. G. Retreating glacier fronts on the Antarctic Peninsula over the past half-century. *Science*, v. 308, p. 541–544, 2005.

CORINALDESI, C.; BEOLCHINI, F.; DELL'ANNO, A. Damage and degradation rates of extracellular DNA in marine sediments: implications for the preservation of gene sequences. *Molecular Ecology*, v. 17, n. 17, p. 3939-3951, 2008.

COSTELLO, M. J.; MAY, R. M.; STORK, N. E. Can we name earth's species before they go extinct?. *Science*, v. 339, p.413-416, 2013.

COWAN, D. A.; TOW, L. A. Endangered Antarctic environments. *Ann.Rev.Micro*, p.649-681, 2004.

COX, F.; NEWSHAM, K. K.; BOL, R.; DUNGAIT, J. A. J.; ROBINSON, C. H. Not poles apart: Antarctic soil fungal communities show similarities to those of the distant Arctic. *Ecol. Lett.*, v.19, p.528–536, 2016.

COX, F.; NEWSHAM, K. K.; ROBINSON, C. H. Endemic and cosmopolitan fungal taxa exhibit differential abundances in total and active communities of Antarctic soils. *Environmental Microbiology*, v. 21, n.5, p.1586–1596, 2019.

- CUFFEY, K. M.; PATERSON, W. S. B. *The Physics of Glaciers*. Oxford: Pergamon/Elsevier Science, p.380, 2014.
- CZECHOWSKI, P.; CLARKE, L. J.; COOPER, A.; STEVENS, M. I. A primer to metabarcoding surveys of Antarctic terrestrial biodiversity. *Antarctic Science*, v. 29, n. 1, p. 3-15, 2017
- DĄBSKI, M.; ZMARZ, A.; RODZEWICZ, M.; KORCZAK-ABSHIRE, M.; KARSZNIA, I.; LACH, K. M. et al. Mapping Glacier Forelands Based on UAV BVLOS Operation in Antarctica. *Remote Sensing*, v.12, n.4, p.630, 2020.
- DE MENEZES, G. C. A.; PORTO, B. A.; AMORIM, S. S.; ZANI, C. L.; DE ALMEIDA ALVES, T. M.; JUNIOR, P. A. S.; et al. Fungi in glacial ice of Antarctica: diversity, distribution and bioprospecting of bioactive compounds. *Extremophiles*, p. 1-10, 2020.
- DE SOUSA, J. R.; GONÇALVES, V. N.; DE HOLANDA, R. A.; SANTOS, D. A.; BUELONI, C. F.; COSTA, A. O. et al. Pathogenic potential of environmental resident fungi from ornithogenic soils of Antarctica. *Fungal biology*, v. 121, n. 12, p. 991-1000, 2017.
- DEINER, K.; BIK, H.; MÄCHLER, E.; SEYMOUR, M.; LACOURSIÈRE-ROUSSEL, A.; ALTERMATT, F. et al. Environmental DNA metabarcoding: Transforming how we survey animal and plant communities. *Molecular Ecology*, v.26, p.5872–5895, 2017.
- DELL'ANNO, A.; DANOVARO, R. Extracellular DNA plays a key role in deep-sea ecosystem functioning. *Science*, v. 309, n. 5744, p. 2179-2179, 2005.
- DEMING, J. W. Psychrophiles and Polar Regions. *Curr Opin Microbiol.*, v.5, p.301–309, 2002.
- DEONALLI, D.; SHARMA, R.; JANGID, K. Microbial Community Dynamics During Soil Ecosystem Development. In *Mining of Microbial Wealth and MetaGenomics*, p. 57-82, 2017
- DHAKAR, K.; PANDEY, A. Microbial Ecology from the Himalayan Cryosphere Perspective. *Microorganisms*, v.8, n.2, p. 257, 2020.
- DING, Z.; LI, L.; CHE, Q.; LI, D.; GU, Q.; ZHU, T. Richness and bioactivity of culturable soil fungi from the Fildes Peninsula, Antarctica. *Extremophiles*, v. 20, n. 4, p. 425-435, 2016.
- DINI-ANDREOTE F.; PYLRO V. S.; BALDRIAN P.; VAN ELSAS J. D.; SALLES J. F. Ecological succession reveals potential signatures of marine-terrestrial transition in salt marsh fungal communities. *The ISME journal*, v. 10, n. 8, p. 1984-1997, 2016.
- DREESENS, L. L.; LEE, C. K.; CARY, S. C. The distribution and identity of edaphic fungi in the McMurdo Dry Valleys. *Biology*, v.3, n.3, p.466-483, 2014.
- DRESCH, P.; FALBESONER, J.; ENNEMOSER, C.; HITTORF, M.; KUHNERT, R.; PEINTNER, U. Emerging from the ice-fungal communities are diverse and dynamic in earliest soil developmental stages of a receding glacier. *Environmental microbiology*, v.21, n.5, p. 1864-1880, 2019.
- DUARTE, A. W. F.; BARATO, M. B.; NOBRE, F.S; POLEZEL, D. A.; DE OLIVEIRA, T. B.; DOS SANTOS, J. A; RODRIGUES, A.; SETTE, L. D. Production of cold-adapted enzymes by filamentous fungi from King George Island, Antarctica. *Polar Biology*, v.41, p. 2511-2521, 2018.
- DUARTE, A. W. F.; DAYO-OWOYEMI, I.; NOBRE, F.S.; PAGNOCCA, F. C.; CHAUD, L. S. C.; PESSOA JR, A.; FELIPE, M. G. A.; SETTE, L. D.; Taxonomic assessment and enzymes production by yeasts isolated from marine and terrestrial Antarctic samples. *Extremophiles*, v. 17, n. 6, p.1023-1035, 2013.

DUARTE, A. W. F.; PASSARINI, M. R. Z.; DELFORNO, T. P.; PELLIZZARI, F. M.; CIPRO, C. V. Z.; MONTONE, R. C.; PETRY, M. V.; PUTZKE, J.; ROSA, L. H.; SETTE, L. D. Yeasts from macroalgae and lichens that inhabit the South Shetland Islands, Antarctica. *Environmental Microbiology Reports*, v. 8, n. 5, p. 874-885, 2016.

DUARTE, A. W. F.; PASSARINI, M. R. Z.; DELFORNO, T. P.; PELLIZZARI, F. M.; CIPRO, C. V. Z.; MONTONE, R. C.; PETRY, M. V.; PUTZKE, J.; ROSA, L. H.; SETTE, L. D. Yeasts from macroalgae and lichens that inhabit the South Shetland Islands, Antarctica. *Environmental Microbiology Reports*, v. 8, n. 5, p. 874-885, 2016.

DYURGEROV, M. B.; MEIER M. F. Glaciers and the changing Earth system: a 2004 snapshot, *INSTAAR Occasional Paper*, v. 58, 2005.

EDWARDS, A.; IRVINE-FYNN, T.; MITCHELL, A. C.; RASSNER, S. M. E. A germ theory for glacial systems? *Wiley Interdiscip Rev Water*, v.1, p. 331–340, 2014.

FASTIE, C. L. Causes and ecosystem consequences of multiple pathways of primary succession at Glacier Bay, Alaska. *Ecology*, v.76, p.1899–1916, 1995.

FEDERHEN, S. The NCBI taxonomy database. *Nucleic acids research*, v. 40, n. D1, p. D136-D143, 2012.

FIERER, N.; NEMERGUT, D.; KNIGHT, R.; CRAINE, J. M. Changes through time: integrating microorganisms into the study of succession. *Res Microbiol.*, v. 61, p.635–642, 2010.

FRASER, C. I.; TERAUDS, A.; SMELLIE, J.; CONVEY, P.; CHOWN, S. L. Geothermal activity helps life survive glacial cycles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 111, n. 15, p. 5634-5639, 2014.

FREEDMAN, Z.; ZAK, D.R. Soil bacterial communities are shaped by temporal and environmental filtering: Evidence from a long-term chronosequence. *Env. Microbiol.*, v.17, p.3208–3218, 2015.

FRENOT, Y.; GLOAGUEN, J.; CANNAVACCIUOLO, M.; BELLIDO, A. Primary succession on glacier forelands in the subantarctic Kerguelen Islands. *Journal of Vegetation Science*, v. 9, n. 1, p. 75-84, 1998.

FREY, B.; RIEDER, S. R.; BRUNNER, I.; PLÖTZE, M.; KOETZSCH, S.; LAPANJE, A. et al. Weathering-associated bacteria from the Damma Glacier forefield: physiological capabilities and impact on granite dissolution. *Appl Environ Microbiol.*, v.76, p. 4788–4796, 2010.

FURBINO, L. E.; GODINHO, V. M.; SANTIAGO, I. F.; PELLIZZARI, F. M.; ALVES, T. M. A.; ZANI, C. L.; JUNIOR, P. A. S.; ROMANHA, A. J.; CARVALHO, A. G. O.; GIL, L. H. V. G.; ROSA, C. A.; MINNIS, A. M.; ROSA, L. H. Diversity patterns, ecology and biological activities of fungal communities associated with the endemic macroalgae across the Antarctic Peninsula. *Microbial Ecology*, v. 67, p. 775-787, 2014.

GARCÍA-DESCALZO, L.; GARCÍA-LÓPEZ, E.; POSTIGO, M.; BAQUERO, F.; ALCAZAR, A.; CID, C. Eukaryotic microorganisms in cold environments: examples from Pyrenean glaciers. *Frontiers in Microbiology*, v. 4, p. 55, 2013.

GARCÍA-LÓPEZ, E.; ALCÁZAR, P.; POSTIGO, M.; CID, C. The effect of climate change on microbial communities from glaciers. *Glaciers: Formation, Climate Change and Their Effects*, ed. N. Doyle (New York, NY: Nova Science Publishers, Inc.), p. 71-88, 2016.

GODINHO, V. M.; FURBINO, L. E.; SANTIAGO, I. F.; PELLIZZARI, F. M.; YOKOYA, N. S.; PUPO, D.; ALVES, T. M. A.; JUNIOR, P. A. S.; ROMANHA, A. J.; ZANI, C. L.; CANTRELL, C. L.; ROSA, C. A.; ROSA, L. H. Diversity and bioprospecting of fungal communities associated

with endemic and cold adapted macroalgae in Antarctica. *The ISME Journal*, v. 7, n. 7, p. 1434-1451, 2013.

GODINHO, V. M.; GONÇALVES, V. N.; SANTIAGO, I. F.; FIGUEREDO, H. M.; VITORELI, G. A.; SCHAEFER, C. E. G. R.; BARBOSA, E. C.; OLIVEIRA, J. G.; ALVES, T. M. A.; ZANI, C. L.; JUNIOR, P. A. S.; MURTA, S. M. F.; ROMANHA, A. J.; KROON, E. G.; CANTRELL, C. L.; WEDGE, D. E.; DUKE, S. O.; ALI, A.; ROSA, C. A.; ROSA, L. H. Diversity and bioprospection of fungal community present in oligotrophic soil of continental Antarctica. *Extremophiles*, v. 19, n. 3, p. 585-596, 2015.

GONÇALVES, V. N.; CARVALHO, C. R.; JOHANN, S.; MENDES, G.; ALVES, T. M. A.; ZANI, C. L.; JUNIOR, P. A. S.; MURTA, S. M. F.; ROMANHA, A. J.; CANTRELL, C. L.; ROSA, C. A.; ROSA, L. H. Antibacterial, antifungal and antiprotozoal activities of fungal communities present in different substrates from Antarctica. *Polar Biology*, v. 38, n. 8, p. 1143-1152, 2015.

GONÇALVES, V. N.; VAZ, A. B. M.; ROSA, C. A.; ROSA, L. H. Diversity and distribution of fungal communities in lakes of Antarctica. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 82, n. 2, p. 459-471, 2012.

GORDON, J. E.; HAYNES, V. M.; HUBBARD, Alun. Recent glacier changes and climate trends on South Georgia. *Global and Planetary Change*, v. 60, n. 1-2, p. 72-84, 2008.

GOSTINČAR, C.; MUGGIA, L.; GRUBE, M. Polyextremotolerant black fungi: oligotrophism, adaptive potential, and a link to lichen symbioses. *Frontiers in Microbiology*, v. 3, p. 390, 2012.

HANDELSMAN, J. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, v. 69, n. 1, p. 195-195, 2004.

HANSON, C. A.; FUHRMAN, J. A.; HORNER-DEVINE, M. C.; MARTINY, J. B.; H. Beyond biogeographic patterns: processes shaping the microbial landscape. *Nat. Rev. Microbiol.*, v.10, p.497–506, 2012.

HAWKSWORTH, D. L. & LÜCKING, R. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. *Microbiol. Spectr.*, v.5, p. 79-95, 2017.

HIBBETT, D.; ABARENKOV, K.; KÖLJALG, U.; ÖPIK, M.; CHAI, B.; COLE, J. Sequence-based classification and identification of Fungi. *Mycologia*, v. 108, n. 6, p. 1049-1068, 2016.

HIBBETT, D.S.; OHMAN, A.; GLOTZER, D.; NUHN, M.; KIRK, P.; NILSSON, R. H. Progress in molecular and morphological taxon discovery in Fungi and options for formal classification of environmental sequences. *Fungal Biol. Rev.*, v.25, p. 38–47, 2011.

HIBBETT, D. S.; OHMAN, A.; KIRK, P. M.; Fungal ecology catches fire. *New Phytol.*, v.184, p.279–282, 2009.

HOBBS, W. O.; TELFORD, R. J.; BIRKS, H. J. B.; SAROS, J. E.; HAZEWINKEL, R. R.; PERREN, B. B. et al. Quantifying recent ecological changes in remote lakes of North America and Greenland using sediment diatom assemblages. *PloS one*, v. 5, n. 4, p. e10026, 2010.

HODKINSON, I. D.; COULSON, S.J.; WEBB, N.R. Community assembly along proglacial chronosequences in the high Arctic: vegetation and soil development in north-west Svalbard. *J. Ecol.*, v.914, p.651–663, 2003.

HODSON, A.; ANESIO, A. M.; TRANTER, M.; FOUNTAIN, A.; OSBORN, M.; PRISCU, J. et al. Glacial ecosystems. *Ecological monographs*, v. 78, n. 1, p. 41-67, 2008.

HOEGH-GULDBERG, O.; JACOB, D.; BINDI, M.; BROWN, S.; CAMILLONI, I.; DIEDHIU, A. et al. Impacts of 1.5 C global warming on natural and human systems. Global warming of 1.5° C. An IPCC Special Report, 2018.

HOTALING, S.; HOOD, E.; HAMILTON, T. L. Microbial ecology of mountain glacier ecosystems: biodiversity, ecological connections and implications of a warming climate. *Environ. Microbiol.*, v.19, p.2935–2948, 2017.

JENNY, H. Arrangement of soil series and types according to functions of soil-forming factors. *Soil Science*, v.61, n.5, p. 375-392, 1946.

JIAHONG, W.; JIANCHENG K.; ZICHU X.; JIANKANG, H.; LLUBERAS, A.; Climate, Mass Balance and Glacial Changes on Small Dome of Collins Ice Cap. King George Island, Antarctica. *Antarctic Research*, v.1, p.52-61, 1994.

JONES, P. D. Antarctic temperatures over the present century—a study of the early expedition record. *Journal of Climate*, v.3, n.11, p.1193-1203, 1990.

JONES, P. D.; MARSH, R.; WIGLEY, T. M. L.; PEEL, D. A. Decadal timescale links between Antarctic Peninsula ice-core oxygen-18, deuterium and temperature. *The Holocene*, v.3, n.1, p.14-26, 1993.

JUMPPONEN, A., JONES, K. L. Massively parallel 454 sequencing indicates hyperdiverse fungal communities in temperate *Quercus macrocarpa* phyllosphere. *New Phytologist*, v.184, n.2, p. 438-448, 2009.

KARSCH-MIZRACHI, I.; TAKAGI, T.; COCHRANE, G.; INTERNATIONAL NUCLEOTIDE SEQUENCE DATABASE COLLABORATION. The international nucleotide sequence database collaboration. *Nucleic Acids Research*, v. 46, n. D1, p. D48-D51, 2018.

KAŠTOVSKÁ, K.; STIBAL, M.; ŠABACKÁ, M.; ČERNÁ, B.; ŠANTRŮČKOVÁ, H.; ELSTER, J. Microbial community structure and ecology of subglacial sediments in two polythermal Svalbard glaciers characterized by epifluorescence microscopy and PLFA. *Polar Biology*, v.30, n.3, p.277-287, 2007.

KENNICUTT, M. C.; CHOWN, S. L.; CASSANO, J. J.; LIGGETT, D.; PECK, L. S.; MASSOM, R. et al. A roadmap for Antarctic and Southern Ocean science for the next two decades and beyond. *Antarctic Science*, v. 27, n. 1, p. 3-18, 2015.

KLEINTEICH, J.; HILDEBRAND, F.; BAHRAM, M.; VOIGT, A. Y.; WOOD, S. A.; JUNGBLUT, A. D. et al. Pole-to-pole connections: similarities between Arctic and Antarctic microbiomes and their vulnerability to environmental change. *Frontiers in Ecology and Evolution*, v. 5, p. 137, 2017.

KNAP, W.H.; OERLEMANS, J.; CADÉE, M. Climate Sensitivity of the ice cap of King George Island, South Shetland Islands, Antarctica. *Ann. Glaciol.*, v. 23, p.154–159, 1996.

KONRAD, H.; SHEPHERD, A.; GILBERT, L.; HOGG, A. E.; MCMILLAN, M.; MUIR, A.; SLATER, T. Net retreat of Antarctic glacier grounding lines. *Nature Geoscience*, v. 11, n. 4, p. 258-262, 2018.

KOSTRZEWSKI, A.; RACHLEWICZ, G.; ZWOLINSKI, Z. Geomorphological map of the western coast of Admiralty Bay, King George Island. In *Relief, Quaternary Paleogeography and Changes of the Polar Environment*; Maria Curie-Skłodowska University Press: Lublin, Poland, p. 71–77, 1998.

KOSTRZEWSKI, A.; RACHLEWICZ, G.; ZWOLINSKI, Z. The relief of the Western coast of Admiralty Bay, King George Island, South Shetlands. *Quaest. Geogr.*, v.22, p.43–58, 2002.

LEE, J. R.; RAYMOND, B.; BRACEGIRDLE, T. J.; CHADÈS, I.; FULLER, R. A.; SHAW, J. D.; TERAUDS, A. Climate change drives expansion of Antarctic ice-free habitat. *Nature*, v. 547, n. 7661, p. 49-54, 2017.

LIGHTHART, B.; SHAFFER, B.T. Airborne bacteria in the atmospheric surface layer: temporal distribution above a grass seed field. *Applied and Environmental Microbiology*, v.61, p.1492-1496, 1995.

LINDAHL, B. D.; NILSSON, R. H.; TEDERSOO, L.; ABARENKOV, K.; CARLSEN, T.; KJØLLER, R. et al. Fungal community analysis by high-throughput sequencing of amplified markers—a user's guide. *New phytologist*, v. 199, n. 1, p. 288-299, 2013.

LIPSON, D.A.; SCHMIDT, S.K. Seasonal changes in an alpine soil bacterial community in the Colorado Rocky Mountains. *Appl. Environ. Microb.* v.70, p.2867-2879, 2004.

LÓPEZ-BUENO, A.; TAMAMES, J.; VELÁZQUEZ, D.; MOYA, A.; QUESADA, A.; ALCAMÍ, A. High diversity of the viral community from an Antarctic lake. *Science*, v. 326, n. 5954, p. 858-861, 2009.

MA, L. J.; ROGERS, S. O.; CATRANIS, C. M.; STARMER, W. T. Detection and characterization of ancient fungi entrapped in glacial ice. *Mycologia*, v.92, p.286–295 2000.

MAKHALANYANE, T. P.; VALVERDE, A.; BIRKELAND, N. K.; CARY, S. C.; TUFFIN, I. M.; COWAN, D. A. Evidence for successional development in Antarctic hypolithic bacterial communities. *The ISME journal*, v. 7, n. 11, p. 2080-2090, 2013.

MARCO, M.; BROCCA, S.; ORLANDO, M.; LOTT, M. The “cold revolution”. Present and future applications of cold-active enzymes and ice-binding proteins. *New Biotechnol.*, v.55, p.5–11. 2019.

MARGESIN, R.; MITEVA, V. Diversity and ecology of psychrophilic microorganisms. *Res Microbiol.*, v.162, n.3, p.346–361, 2011.

MARIZCURRENA, J. J.; CERDÁ, M. F.; ALEM, D.; CASTRO-SOWINSKI, S. Living with Pigments: The Colour Palette of Antarctic Life. In *The Ecological Role of Micro-organisms in the Antarctic Environment*; Castro-Sowinski, S., Ed.; Springer Polar Sciences p. 65–82, 2019.

MARSHALL, W.A. Biological particles over Antarctica. *Nature*, v.383, p.680, 1996.

MARSHALL, W.A.; Chalmers, M.O. Airborne dispersal of Antarctic algae and cyanobacteria. *Ecography*, v.20, p.585-594, 1997.

MARSHALL, W. A. Aerial transport of keratinaceous substrate and distribution of the fungus *Geomyces pannorum* in Antarctic soils. *Microbial Ecology*, v. 36, n. 2, p. 212-219, 1998.

MARSTON, R. A. Geomorphology and vegetation on hillslopes: interactions, dependencies and feedback loops. *Geomorphology*, v.116, n. 3, p. 206–217, 2010.

MARTINY, J. B. H.; BOHANNAN, B. J. M.; BROWN, J. H.; COLWELL, R. K.; FUHRMAN, J. A.; GREEN, J. L. et al. Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. *Nat Rev Microbiol.*, v.4, p.102–112, 2006.

MÄUSBACHER, R.; MULLER, J.; MUNNICH, M.; SCHMIDT, R. Evolution of postglacial sedimentation in Antarctic lakes (King George Island). *Zeitschrift für Geomorphologie*, v. 33, p. 219–234, 1989.

MCGEOCH, M. A.; SHAW, J. D.; TERAUDS, A.; LEE, J. E.; CHOWN, S. L. Monitoring biological invasion across the broader Antarctic: a baseline and indicator framework. *Global Environmental Change*, v. 32, p. 108-125, 2015.

MENEZES, G. C.; AMORIM, S. S.; GONÇALVES, V. N.; GODINHO, V. M.; SIMÕES, J. C.; ROSA, C. A.; ROSA, L. H. Diversity, Distribution, and Ecology of Fungi in the Seasonal Snow of Antarctica. *Microorganisms*, v.7, n.10, p. 445, 2019.

MERBOLD L.; ROGIERS, N.; EUGSTER, W. Winter CO₂ fluxes in a sub-alpine grassland in relation to snow cover, radiation and temperature. *Biogeochemistry*, v.111, p.287-302, 2012.

MILNER, A. M.; FASTIE, C. L.; CHAPIN, F. S.; ENGSTROM, D. R.; SHARMAN, L.C. Interactions and linkages among ecosystems during landscape evolution. *BioScience*, v. 57, n. 3, p. 237–247, 2007.

MÖLLER, C.; DREYFUSS, M. M. Microfungi from Antarctic lichens, mosses and vascular plants. *Mycologia*, v.88, p.922-933, 1996.

MONASTERSKY, R. Biodiversity: Life—a status report. *Nature News*, v. 516, n. 7530, p. 158, 2014.

MOREAU, M.; MERCIER, D.; LAFFLY, D.; ROUSSEL, E. Impacts of recent paraglacial dynamics on plant colonization: A case study on Midtre Lovénbreen foreland, Spitsbergen (79 N). *Geomorphology*, v. 95, n. 1-2, p. 48-60, 2008.

MURRAY, A. E.; WU, K. Y.; MOYER, C. L.; KARL, D. M.; DELONG, E. F. Evidence for circumpolar distribution of planktonic Archaea in the Southern Ocean. *Aquatic Microbial Ecology*, v.18, p. 263-273, 1999.

NEWSHAM, K.; HOPKINS, D.; CARVALHAIS, L. et al. Relationship between soil fungal diversity and temperature in the maritime Antarctic. *Nature Clim Change*, v.6, p.182–186, 2016.

NGUYEN, N. H.; SMITH, D.; PEAY, K.; KENNEDY, P. Parsing ecological signal from noise in next generation amplicon sequencing. *New Phytologist*, v. 205, n. 4, p. 1389-1393, 2015.

NIEDERBERGER, T.; BOTTOS, E. M.; SOHM, J. A.; GUNDERSON, T. E.; PARKER, A. E.; COYNE, K. J.; CARY, S. C. Rapid microbial dynamics in response to an induced wetting event in antarctic dry valley soils. *Frontiers in microbiology*, v.10, p. 621, 2019.

NIEDERBERGER, T. D.; SOHM, J. A.; GUNDERSON, T. E.; PARKER, A. E.; TIRINDELLI, J.; CAPONE, D. G.; CARY, S. C. Microbial community composition of transiently wetted Antarctic Dry Valley soils. *Frontiers in Microbiology*, v. 6, p. 9, 2015.

NILSSON, R. H.; ANSLAN, S.; BAHRAM, M.; WURZBACHER, C.; BALDRIAN, P.; TEDERSOO, L. Mycobiome diversity: high-throughput sequencing and identification of fungi. *Nature Reviews Microbiology*, v. 17, n. 2, p. 95-109, 2019.

NILSSON, R. H.; HYDE, K. D.; PAWŁOWSKA, J.; RYBERG, M.; TEDERSOO, L.; AAS, A. B.; et al. Improving ITS sequence data for identification of plant pathogenic fungi. *Fungal Diversity*, v. 67, n. 1, p. 11-19, 2014.

NILSSON, R. H.; ABARENKOV, K.; KÖLJALG, U. Molecular techniques in mycological studies and sequence data curating: quality control and challenges. In: *Biology of microfungi.*, p. 47-64. 2016.

- O'BRIEN, H. E.; PARRENT, J. L.; JACKSON, J. A.; MONCALVO, J. M.; VILGALYS, R. Fungal community analysis by large-scale sequencing of environmental samples. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.71, p.5544–5550, 2005.
- ONOFRI, S.; SELBMAN, L.; HOOG, G. S. et al. Evolution and adaptation of fungi at boundaries of life. *Adv Space Res.*, v.40, p.1657–1664, 2007.
- PACHAURI, R. K.; ALLEN, M. R.; BARROS, V. R.; BROOME, J.; CRAMER, W.; CHRIST, R. et al. Climate change 2014: synthesis report. Contribution of Working Groups I, II and III to the fifth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. *Ipcc*, p. 151, 2014.
- PAGE, R. D. BioNames: linking taxonomy, texts, and trees. *PeerJ*, v. 1, p. e190, 2013.
- PAGE, R. D. DNA barcoding and taxonomy: dark taxa and dark texts. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 371, n. 1702, p. 20150334, 2016.
- PARK, B. K.; CHANG, S. K.; YOON, H. I.; CHUNG, H. Recent retreat of ice cliffs, King George Island, South Shetland Islands, Antarctic Peninsula. *Annals of Glaciology*, v. 27, p. 633–635, 1998.
- PAUL, F.; KÄÄB, A.; MAISCH, M.; KELLENBERGER, T. W.; HAEBERLI, W. Rapid disintegration of Alpine glaciers observed with satellite data. *Geophysical Research Letters*, v. 31, 2004.
- PEARCE, D. A.; BRIDGE, P. D.; HUGHES, K.A.; SATTLER, B.; PSENNER, R.; RUSSELL, N. J. Microorganisms in the atmosphere over Antarctica. *FEMS Microbiology Ecology*, v.69, n.2, p. 143-157, 2009.
- PEARCE, D. A.; NEWSHAM, K.; THORNE, M.; CALVO-BADO, L.; KRSEK, M.; LASKARIS, P. et al. Metagenomic analysis of a southern maritime Antarctic soil. *Frontiers in Microbiology*, v. 3, p. 403, 2012.
- PEAY, K. G. Back to the future: natural history and the way forward in modern fungal ecology. *Fungal Ecology*, v.12, p. 4-9, 2014.
- PEGLER, D. N.; SPOONER, B.; SMITH, R.L. Higher fungi of Antarctica, the subantarctic zone and Falkland Islands. *Kew. Bull.*, v.35, p.499–562, 1980.
- PERINI, L.; GOSTINČAR, C.; GUNDE-CIMERMAN, N. Fungal and bacterial diversity of Svalbard subglacial ice. *Scientific reports*, v.9, n. 1, p. 1-15, 2019.
- PERONDI, C. Análise da evolução do ambiente proglacial das geleiras Ecology, Spinks, Baranowski, Tower e Windy, Ilha Rei George, Antártica, 2018.
- PESCIAROLI, C.; CUPINI, F.; SELBMANN, L. et al. Temperature preferences of bacteria isolated from seawater collected in Kandalaksha Bay, White Sea, Russia. *Polar Biol.*, v.35, p. 435-445, 2012.
- PESSI, I. S.; PUSHKAREVA, E.; LARA, Y.; BORDERIE, F.; WILMOTTE, A.; ELSTER, J. Marked succession of cyanobacterial communities following glacier retreat in the high Arctic. *Microbial ecology*, v. 77, n. 1, p. 136-147, 2019.
- PETSCH, C.; KUNST, A. V.; COSTA, R. M.; DA ROSA, K. K.; SIMÕES, J. C. Proposta de zoneamento para proteção de áreas sujeitas a intervenções antrópicas na Península Fildes, Antártica. *Revista Tocantinense De Geografia*, v.7, n.13, p.31-52, 2018.
- POINTING, S. B.; CHAN, Y.; LACAP, D. C.; LAU, M. C.; JURGENS, J. A.; FARRELL, R. L. Highly specialized microbial diversity in hyper-arid polar desert. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 106, n. 47, p. 19964-19969, 2009.

- PRICE, P. B. Microbial genesis, life and death in glacial ice. *Can. J. Microbiol.*, v.55, p.1–11, 2009.
- PUDASAINI, S.; WILSON, J.; JI, M.; VAN DORST, J.; SNAPE, I.; PALMER, A. S.; BURNS, B. P.; FERRARI, B. C. Microbial diversity of Browning Peninsula, Eastern Antarctica revealed using molecular and cultivation methods. *Frontiers in microbiology*, v. 8, p. 591, 2017.
- PUDEŁKO, R.; ANGIEL, P.J.; POTOCKI, M.; JEĐREJEK, A.J.; KOZAK, M. Fluctuation of Glacial Retreat Rates in the Eastern Part of Warszawa Icefield, King George Island, Antarctica, 1979–2018. *Remote Sensing*, v. 10, n. 6, p. 892, 2018.
- PUTZKE, J., PEREIRA, A. B. The Antarctic mosses with special reference to the South Shetland Islands. *Canoas*: Ed. ULBRA, 2001.
- RACHLEWICZ, G. Glacial relief and deposits of the western coast of Admiralty Bay, King George Island, South Shetlands Islands. *Polish Polar Research*, v. 20, n. 2, p. 89 – 130. 1999.
- REYNOLDS, H. T.; BARTON, H. A. Comparison of the white-nose syndrome agent *Pseudogymnoascus destructans* to cave-dwelling relatives suggests reduced saprotrophic enzyme activity. *PLoS One*, v. 9, n. 1, p. e86437, 2014.
- ROSA, L.H.; VAZ, A. B. M.; CALIGIORNE, R. B.; CAMPOLINA, S.; ROSA, C. A. Endophytic fungi associated with the Antarctic Grass *Deschampsia antarctica* Desv. (Poaceae). *Polar Biol.*, v. 20, n.32, p.161-167, 2009.
- ROSA, K. K.; PETSCH, C.; CAMPANA, A. S.; SIMÕES, C. L.; GONÇALVES, M. A.; VIEL, J. A. Evolução de Ambientes Proglaciais em Resposta às mudanças climáticas. In: *Anais XI Simpósio Nacional de Geomorfologia*. Maringá. UGB, 2016.
- ROSA, L. H.; ZANI, C. L.; CANTRELL, C. L.; DUKE, S. O.; DIJCK, P. V.; DESIDERI, A.; ROSA, C. A. Fungi in Antarctica: diversity, ecology, effects of climate change, and bioprospection for bioactive compounds. In: Rosa LH (eds) *Fungi of Antarctica*, Springer, Cham, p. 1-17, 2019.
- RÜCKAMP, M.; BRAUN, M.; SUCKRO, S.; BLINDOW, N. Observed glacial changes on the King George Island ice cap, Antarctica, in the last decade. *Global and Planetary Change*, v.79, p. 99-109, 2011.
- RUISI, S.; BARRECA, D.; SELBMANN, L.; ZUCCONI, L.; ONOFRI, S. Fungi in Antarctica. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, v.6, p.27-141, 2007.
- SANTOS, J. A.; MEYER, E.; SETTE, L. D. Fungal Community in Antarctic Soil Along the Retreating Collins Glacier (Fildes Peninsula, King George Island). *Microorganisms*, v. 8, n. 8, p. 1145, 2020.
- SCHADT, C.W.; MARTIN, A.P.; LIPSON, D.A.; SCHMIDT, S.K. Seasonal dynamics of previously unknown fungal lineages in tundra soils. *Science*, v.301, p.1359-1361, 2003.
- SCHLICHTING, H. M.; SPEZIALE, B. J.; ZINK, R. M. Dispersal of algae and protozoa by Antarctic flying birds. *Antarctic Journal*, v.13, p.147-149, 1978.
- SCHMIDT, S. K.; REED, S. C.; NEMERGUT, D. R.; STUART GRANDY, A.; CLEVELAND, C.C.; WEINTRAUB, M.N. et al. The earliest stages of ecosystem succession in high-elevation (5000 metres above sea level), recently deglaciated soils. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 275, n. 1653, p. 2793-2802, 2008.
- SCHOCH, C.L.; SEIFERT, K. A.; HUHDORF, C.; ROBERT, V.; SPOUGE, J. L.; LEVESQUE, C. A.; CHEN, W.; Fungal Barcoding Consortium. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer

(ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proc. Natl Acad. Sci.*, v.109, p. 6241–6246, 2012.

SERRANO, E.; LOPEZ-MARTINEZ, J. Rock glaciers in the South Shetland Islands, Western Antarctica. *Geomorphology*, v. 35, n. 1–2, p. 145–162, 2000.

SIERAKOWSKI, K.; KORCZAK-ABSHIRE, M.; JADWISZCZAK, P. Changes in bird communities of Admiralty Bay, King George Island (West Antarctica): Insights from monitoring data (1977–1996). *Pol. Polar Res.*, v.38, p.229–260, 2017.

SIGLER, W. V.; ZEYER, J. Microbial diversity and activity along the forefields of two receding glaciers. *Microb. Ecol.*, v.43, p.397–407, 2002.

SIMAS, F., C.; SCHAEFER, M. F. F; DACOSTA, I. Genesis, properties and classification of cryosols from admiralty Bay, Maritime Antarctica. *Geoderma*, v. 144, n. 1–2, p. 116–122, 2008.

SIMÕES, J. C.; BREMER, U. F.; AQUINO, F. E.; FERRON, F. E. Morphology and variations of glacial drainage basins in King George Island ice field, Antarctica. *Annals of Glaciology*, v. 29, p. 220–224, 1999.

SIMÕES, J. C.; BREMER, U. F. Investigation of King George Island ice cover using ERS1 SAR and SPOT imagery. *Selper*, v. 11, p. 56–60, 1995.

SIMÕES, C. L.; ROSA, K. K. D.; CZAPELA, F. F.; VIEIRA, R.; SIMOES, J. C. Collins Glacier Retreat Process and Regional Climatic Variations, King George Island, Antarctica. *Geographical Review*, v.105, p.462–471, 2015.

SINGH, P.; HANADA, Y.; SINGH, S. M.; TSUDA, S. Antifreeze protein activity in Arctic cryoconite bacteria. *Fems Microbiol. Lett.*, v.351, p.14–22, 2011.

SMITTENBERG, R. H.; GIERGA, M.; GÖRANSSON, H.; CHRISTL, I.; FARINOTTI, D.; BERNASCONI, S. M.; Climate-sensitive ecosystem carbon dynamics along the soil chronosequence of the Damma glacier forefield, Switzerland. *Glob Chang Biol.*, v.18 p.1941–1955, 2012.

STIBAL, M.; BRADLEY, J. A.; EDWARDS, A. et al. Ecossistemas glaciais são essenciais para compreender as respostas da biodiversidade ao recuo das geleiras. *Nat Ecol Evol.* v. 4, p. 686–687, 2020.

STOCKER, T. F.; QIN, D.; PLATTNER, G. K.; TIGNOR, M.; ALLEN, S. K.; BOSCHUNG, J. et al. The physical science basis. Contribution of working group I to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change, v. 1535, 2013.

STRAUSS, S. L.; RUHLAND, C. T.; DAY, T. A. Trends in soil characteristics along a recently deglaciated foreland on Anvers Island, Antarctic Peninsula. *Polar Biol.*, v.32, p.1779–1788, 2009.

SZIŁO, J.; BIALIK, R. J. Bedload transport in two creeks at the ice-free area of the Baranowski Glacier, King George Island, West Antarctica. *Polish Polar Research*, v. 38, n. 1, p. 21–39, 2017.

SZIŁO, J.; BIALIK, R. J. Recession and ice surface elevation changes of Baranowski Glacier and its impact on proglacial relief (King George Island, West Antarctica). *Geosciences*, v. 8, n. 10, p. 355, 2018.

TABERLET, P.; COISSAC, E.; POMPANON, F.; BROCHMANN, C.; WILLERSLEV, E. Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. *Molecular ecology*, v.21, n.8, p. 2045–2050, 2012.

- TEDERSOO, L.; BAHRAM, M.; PÖLME, S.; KÕLJALG, U.; YOROU, N. S.; WIJESUNDERA, R. et al. Global diversity and geography of soil fungi. *science*, v. 346, n. 6213, 2014.
- TEDERSOO, L.; BAHRAM, M.; TOOTS, M.; DIÉDHIYOU, A. G.; HENKEL, T. W.; KJØLLER, R.; et al. Towards global patterns in the diversity and community structure of ectomycorrhizal fungi. *Mol Ecol.*, v.21, p. 4160–4170, 2012.
- TEDERSOO, L.; LINDAHL, B. Fungal identification biases in microbiome projects. *Environmental Microbiology Reports*, v. 8, n. 5, p. 774-779, 2016.
- TEIXEIRA, L. C.; PEIXOTO, R. S.; CURY, J. C.; SUL, W. J.; PELLIZARI, V. H.; TIEDJE, J.; ROSADO, A. S. Bacterial diversity in rhizosphere soil from Antarctic vascular plants of Admiralty Bay, maritime Antarctica. *The ISME journal*, v.4, n.8, p.989-1001, 2010.
- THOMAZINI, A.; MENDONÇA, E. S.; TEIXEIRA, D. B., ALMEIDA, I. C. C.; LA SCALA JR, N.; CANELLAS, L. P. et al. CO₂ and N₂O emissions in a soil chronosequence at a glacier retreat zone in Maritime Antarctica. *Science of the Total Environment*, v.521, p.336-345, 2015.
- TIMLING, I.; WALKER, D.; NUSBAUM, C.; LENNON, N.; TAYLOR, D.; Rich and cold: diversity, distribution and drivers of fungal communities in patterned-ground ecosystems of the North American Arctic. *Mol. Ecol.*, v.23, p.3258-3272, 2014.
- TOSI, S.; CASADO, B.; GERDOL, R.; CARETTA, G. Fungi isolated from Antarctic mosses. *Polar Biology*, v. 25, n. 4, p. 262-268, 2002
- TRUONG, D. T.; TETT, A.; PASOLLI, E.; HUTTENHOWER, C.; SEGATA, N. Microbial strain-level population structure and genetic diversity from metagenomes. *Genome research*, v. 27, n. 4, p. 626-638, 2017.
- TURNER, J.; BINDSCHADLER, R.; CONVEY, P.; DI PRISCO, G.; FAHRBACH, E.; GUTT, J.; HODGSON, D.; MAYEWSKI, P.; SUMMERHAYES, C. Antarctic climate change and the environment. 2009.
- TURNER, J.; BARRAND, N. E.; BRACEGIRDLE, T. J.; CONVEY, P.; HODGSON, D. A.; JARVIS, M. et al. Antarctic climate change and the environment: an update. 2013.
- TURNER, J.; MARSHALL, G. J. Climate change in the polar regions. Cambridge University Press, 2011.
- UETAKE, J.; TANAKA, S.; HARA, K.; TANABE, Y.; SAMYN, D.; MOTOYAMA, H.; IMURA, S.; KOHSHIMA, S. Novel biogenic aggregation of moss gemmae on a disappearing African glacier. *PloS one*, v.9, n.11, p.e112510, 2014.
- VERANT, M. L.; METEYER, C. U.; SPEAKMAN, J. R.; CRYAN, P. M.; LORCH, J. M.; BLEHERT, D. S. White-nose syndrome initiates a cascade of physiologic disturbances in the hibernating bat host. *BMC Physiol.*, v.14, p.10, 2014.
- VISHNIAC, H. S. Biodiversity of yeasts and filamentous microfungi in terrestrial Antarctic ecosystems. *Biodiversity and Conservation*, v. 5, n. 11, p. 1365-1378, 1996.
- WALKER, L. R.; DEL MORAL, R. Primary succession and ecosystem rehabilitation. Cambridge: Cambridge University Press, p.456, 2003.
- WENTZEL, L. C. P.; INFORSATO, F. J.; MONTROYA, Q. V.; ROSSIN, B. G.; NASCIMENTO, N. R.; RODRIGUES, A.; SETTE, L. D. Fungi from Admiralty Bay (King George Island, Antarctica) soils and marine sediments. *Microbial Ecology*, v.77, p.12-24, 2019
- WILLERSLEV, E.; HANSEN, A. J.; POINAR, H. N. Isolation of nucleic acids and cultures from fossil ice and permafrost. *Trends in Ecology & Evolution*, v. 19, n. 3, p. 141-147, 2004.

WOUTERS, B.; MARTIN-ESPAÑOL, A.; HELM, V.; FLAMENT, T.; VAN WESSEM, J. M.; LIGTENBERG, S. R.; BAMBER, J. L. Dynamic thinning of glaciers on the Southern Antarctic Peninsula. *Science*, v. 348, n. 6237, p. 899-903, 2015.

WRIGHT, K. E.; WILLIAMSON, C.; GRASBY, S. E.; SPEAR, J. R.; TEMPLETON, A. S. Metagenomic evidence for sulfur lithotrophy by Epsilonproteobacteria as the major energy source for primary productivity in a sub-aerial arctic glacial deposit, Borup Fiord Pass. *Frontiers in microbiology*, v. 4, p. 63, 2013.

WUTKOWSKA, M.; VADER, A.; MUNDRA, S.; COOPER, E. J.; EIDENSEN, P. B. Dead or alive; or does it really matter? Level of congruency between trophic modes in total and active fungal communities in high arctic soil. *Frontiers in microbiology*, v. 9, p. 3243, 2019.

YAHR, R.; SCHOCH, C. L.; DENTINGER, B. T. M. Scaling up discovery of hidden diversity in fungi: impacts of barcoding approaches. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 371, n. 1702, p. 20150336, 2016.

ZHANG, X.; ZHANG, Y.; XU, X.; QI, S. Diverse deep-sea fungi from the South China sea and their antimicrobial activity. *Current Microbiology*, v.67, p.525–530, 2013.

ZHU, R.; BAO, T.; WANG, Q.; XU, H.; LIU, Y. Summertime CO₂ fluxes and ecosystem respiration from marine animal colony tundra in maritime Antarctica. *Atmospheric Environment*, v.98, p.190-201, 2014.

ZINGER, L.; SHAHNAVAZ, B.; BAPTIST F.; GEREMIA, R. A.; CHOLER, P. Microbial diversity in alpine tundra soils correlates with snow cover dynamics. *Isme J.* v.3, p.850-859, 2009.