

Prospecção de microrganismos bioindicadores de qualidade e saúde ambiental

Gustavo Augusto Lacorte ¹
Amanda Soriano Araújo Barezani ²
Marcos de Paula Júnior ³
Thiago Silva ³

Ecologia Ambiental

Resumo

O presente trabalho busca encontrar alternativas através da prospecção de microrganismos bioindicadores para uma nova abordagem em análise de água. Foram encontrados grupos microbianos distintos nos ambientes amostrados do alto São Francisco em Minas Gerais. Existem filos que se encontram em todos os ambientes, como as *Proteobacterias*, e outros que são encontrados com mais abundância em ambientes impactos levemente, como *Cyanobacterias*, e as *Actineobacterias* que foram encontradas em ambientes com alto impacto. Também foram encontrados famílias e gêneros com potencial para serem bioindicadores. Os resultados desse estudo ajudam a entender a ecologia microbiana em locais com impactos antrópicos e serve de base para um novo modelo de análise de qualidade ambiental de ambientes aquáticos.

Palavras chave: microbiologia; análise de água; ecologia de microrganismos

INTRODUÇÃO

Os ecossistemas de água doce sustentam uma enorme biodiversidade e fornecem bens e serviços ambientais de importância para as populações humanas. Nas últimas décadas, a saúde destes ecossistemas está sendo gravemente ameaçada por atividades humanas. O desafio de aliar as necessidades humanas à um mínimo impacto para ecossistemas de água doce requer a adoção de estratégias sustentáveis de gestão da água,

Orientação: Inserir aqui: 1°- vínculo Institucional; 2°- departamento e 3°- contato eletrônico. (Regra: Times New Roman, itálico, 10).

¹ Prof. Dr. Gustavo Augusto Lacorte, Instituto Federal Minas Gerais - Campus Bambuí Depto. de Ciências e Linguagens, gustavo.lacorte@ifmg.edu.br

² Prof. Dr. Amanda Soriano Araújo Barezani, Instituto Federal Minas Gerais - Campus Bambuí Depto. de Ciências e Linguagens, amanda.barezani@ifmg.edu.br.

³ Alunos do Mestrado Profissional em Sustentabilidade e Tecnologia Ambiental do Instituto Federal Minas Gerais - Campus Bambuí .

sendo que a avaliação e monitoramento da sua qualidade constituem uma das etapas de seu gerenciamento. As abordagens de avaliação e monitoramento atuais são baseadas em análises de indicadores ecológicos (físicos, químicos e biológicos) desenvolvidos para detectar e medir mudanças nas condições ecológicas da água doce.

Por serem altamente sensíveis a estressores ambientais, os indicadores biológicos têm sido cada vez mais utilizados nos programas de gestão. Os grupos taxonômicos clássicos utilizados como bioindicadores são macrorganismos como macro invertebrados aquáticos, peixes, aves aquáticas e plantas. Devido à dificuldade de isolamento e identificação por cultura pelos métodos de microbiologia clássica, microrganismos não eram utilizados como bioindicadores de água doce. Seu uso seria vantajoso uma vez que a maioria da biomassa aquática é formada por grupos microbianos, além deles serem altamente sensíveis a distúrbios físicos, químicos e bióticos no ambiente.

Com a consolidação de métodos moleculares independentes de cultura para identificação microbiana foi possível identificar os grupos microbianos de maneira rápida, tornando o uso de microrganismos como bioindicadores uma alternativa atraente e viável. Nesse contexto, o uso do sequenciamento massivo de fragmentos amplificados de DNA (genes ribossômicos considerados marcadores taxonômicos) derivados de amostras de ambientes fluviais poderiam ser usados para determinar a diversidade taxonômica e composição das comunidades microbianas destes ambientes.

Sedimentos são altamente sensíveis a mudanças nas condições ambientais, tanto oriundas de atividades antropogênicas, quanto por desastres naturais (Wang et al., 2018). Como componentes importantes da migração e transformação de elementos na água do rio, os sedimentos servem como fonte em ciclos de nutrientes nos ecossistemas aquáticos que são metabolizados pelos microrganismos da comunidade do sedimento (Tao et al., 2019). Evidências recentes (Tao et al., 2019, Wang et al., 2018) revelaram que, durante a intensificação do processo de uso da terra, contaminantes são absorvidos pelas finas partículas de sedimentos e interagem com as bactérias microbianas locais causando impactos a longo prazo sobre a organização biológica das comunidades.

Microrganismos de sedimentos podem indicar a saúde dos ecossistemas das bacias hidrográficas devido aos seus papéis vitais na conversão de energia, degradação de

poluentes, ciclagem biogeoquímica de nutrientes e transformação e migração de elementos (Tao et al 2019). As características dos sedimentos refletem não apenas a qualidade da água, mas também o status trófico e a função ecológica dos rios, porque os sedimentos contêm milhares de microrganismos, que interagem com a matéria orgânica e afetam diretamente os ecossistemas (Wang et al., 2018). Uma mudança na comunidade microbiana pode ser uma resposta rápida às mudanças ambientais e esta alteração de diversidade taxonômica e composição das comunidades microbianas é um indicador adequado de perturbações dentro de um ecossistema, sugerindo que as comunidades microbianas são bons indicadores ambientais (Xie et al., 2016).

METODOLOGIA

Foram coletadas amostras de sedimento do leito do rio São Francisco em 3 áreas distintas: área controle, na nascente do rio (20°14'35.27"S 46°26'47.44"O), área de baixo impacto antrópico (20°19'52.95"S 46°21'56.53"O) e área de alto impacto antrópico (20°10'19.33"S 45°42'57.98"O). As amostras foram coletadas utilizando um tubo de 50 ml estéril e levadas ao laboratório para extração de DNA, que foi extraído utilizando o Kit comercial DNeasy PowerSoil Kit (Qiagen), seguindo as instruções do fabricante.

A caracterização das comunidades procarióticas típicas de cada amostra foi realizada através do sequenciamento da região hipervariável V4 do gene ribossomal rDNA 16S, utilizando a plataforma Illumina MiSeq (GILBERT; JANSSON; KNIGHT, 2014).

Os dados gerados foram submetidos à plataforma bioinformática de análise de dados de microbiomas QIIME2™ (BOLYEN et al, 2018) e seguindo os parâmetros sugeridos pelo The Earth Microbiome Project (GILBERT; JANSSON; KNIGHT, 2014). Ao final desta análise foi gerada uma tabela contendo a lista de OTUs presentes em cada amostra e seu grupo procariótico classificado de Domínio à até o nível taxonômico mais refinado possível.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira análise foi feita considerando a prevalência de filos bacterianos, que

evidencia a abundância relativa de filos bacterianos nas áreas amostradas, bem como a porcentagem de cada filo em relação ao ambiente. Percebe-se que bactérias pertencentes ao filo *Cyanobacteria*, por exemplo, estão presentes em maior quantidade em ambientes sem impacto e com pouco impacto antrópico e, de comportamento oposto, as bactérias do filo *Actinobacteria* estão presentes em abundância em ambientes com alto impacto antrópico.

Alterações ambientais geradas pela ação do homem parecem favorecer o crescimento de bactérias pertencentes aos filos *Cloriflexi* e *Actinobacteria*, já que eles aparecem em uma porcentagem consideravelmente mais alta nestes ambientes que em ambientes com baixo ou nenhum impacto antrópico. Assim, os dois filos poderiam ser utilizados como bioindicadores de ambientes com alto grau de impacto antrópico. De maneira oposta, bactérias pertencentes aos filos *Cyanobacteria* e *Verrucomicrobia* aparecem em uma porcentagem bem mais baixa em ambientes com alto impacto antrópico em relação aos ambientes onde a ação do homem não causou ou causou mínimo impacto. Como a porcentagem de bactérias pertencentes ao filo *Acidobacteria* no ambiente controle prevaleceu sobre sua porcentagem nos dois outros ambientes amostrados, este filo poderia ser um bioindicador para ambientes sem impacto antrópico.

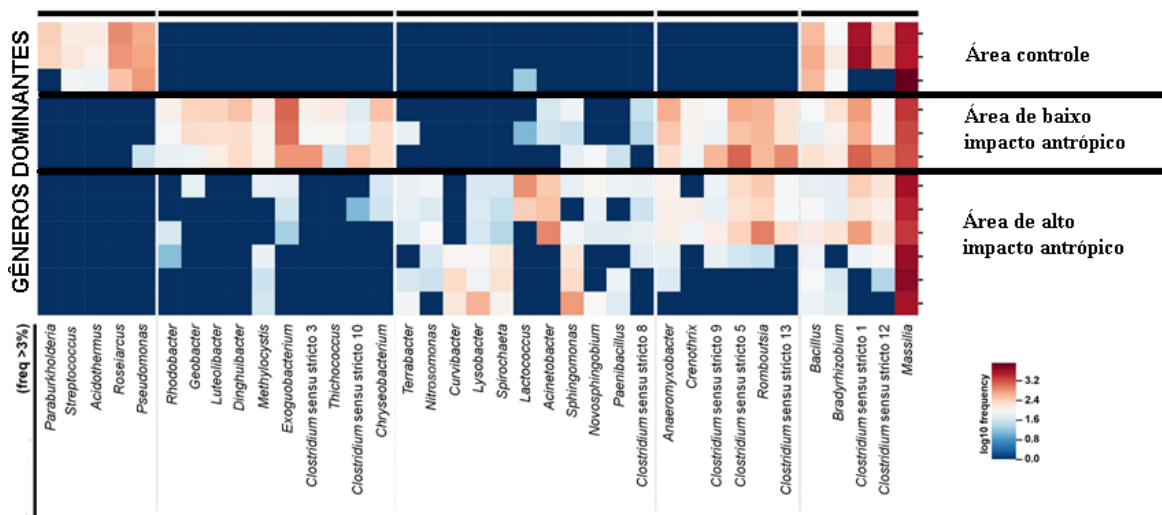
Famílias, como *Micrococcaceae* e *Anaerolinaeaceae*, estão presentes em maior frequência em ambientes de alto impacto antrópico e a família *Bacillales* em ambientes de baixo impacto antrópico. Já no ambiente controle, as famílias *Pseudomonadaceae* e *Acidobacteriales* surgem em uma frequência bem maior que nos demais ambientes. Famílias como *Burkholderiaceae* e *Xanthobacteriaceae* parecem não ter predileção por nenhum dos ambientes amostrados, estando presente em todos eles, refletindo sua ampla capacidade adaptativa. Alguns grupos são abundantes em certos pontos amostrais, não aparecendo em outros, sugerindo que, naquele ponto, possa estar ocorrendo uma pressão seletiva que os favorece em relação aos demais, descartando-os como possíveis bioindicadores.

Na análise de composição de gênero (figura 1), observou-se que em cada ambiente amostrado, haviam bons candidatos a organismos bioindicadores de qualidade ambiental. No ambiente controle, por exemplo, foi identificado cinco gêneros bacterianos dominantes (*Paraburkholderia*, *Streptococcus*, *Acidothermus*, *Reseiarcus* e *Pseudomonas*), enquanto

quatro gêneros (*Anaeromyxobacter*, *Crenothrix*, *Rombustia* e *Clostridium*) estavam praticamente ausentes nas amostras de sedimentos deste ambiente. Também se observou os dez gêneros dominantes (*Paraburkholderia*, *Streptococcus*, *Acidothermus*, *Roseiarcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Clostridium sensu stricto 1*, *Clostridium sensu stricto 12* e *Massilia*) que eram mais abundantes nas amostras de ambiente com leve impacto ambiental e outros 11 gêneros dominantes (*Curvibacter*, *Lysobacter*, *Spirochaeta*, *Sphingomonas*, *Clostridium sensu stricto 9*, *Clostridium sensu stricto 5*, *Romboutsia*, *Clostridium sensu stricto 13*, *Clostridium sensu stricto 1*, *Clostridium sensu stricto 12* e *Massilia*) cuja distribuição foi associada às amostras de ambientes de alto impacto ambiental.

Figura 1 - Análise de mapa de calor de gêneros dominantes encontrados em amostras de sedimentos.

Em síntese, foram observadas diferenças significantes nas comunidades das três áreas amostradas, cujo potencial de bioindicação de vários grupos bacterianos foram



encontrados, tanto em relação ao filo, quanto à família e ao gênero.

CONCLUSÕES

Os resultados apresentados nesse estudo são importantes para a compreensão da ecologia e funcionalidade das comunidades microbianas nos ambientes amostrados, assim como são importantes para determinar quais microrganismos ou grupos de microrganismos podem ser utilizados como bioindicadores de qualidade de água da nascente e cabeceira do rio São Francisco e podem ser aplicadas em programas de monitoramento, uma vez que a

variação da estrutura da comunidade microbiana e a frequência de alguns microrganismos bioindicadores presentes em amostras do sedimento do leito do rio podem ser utilizadas como ferramentas de monitoramento da qualidade de ecossistemas aquáticos com melhor eficiência do que os parâmetros clássicos.

REFERÊNCIAS

- BOLYEN, Evan et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. **Nature biotechnology**, v. 37, n. 8, p. 852-857, 2019.
- Gilbert, J. A., Jansson, J. K., & Knight, R. (2014). The Earth Microbiome project: successes and aspirations. **BMC biology**, 12, 69.
- GUO, Jianguo et al. Bacterial communities in water and sediment shaped by paper mill pollution and indicated bacterial taxa in sediment in Daling River. **Ecological Indicators**, v. 60, p. 766-773, 2016.
- HUANG, Wei et al. Characterization of sediment bacterial communities in plain lakes with different trophic statuses. **MicrobiologyOpen**, v. 6, n. 5, p. e00503, 2017.
- HUANG, Wei et al. Comparison among the microbial communities in the lake, lake wetland, and estuary sediments of a plain river network. **Microbiologyopen**, v. 8, n. 2, p. e00644, 2019.
- INSTITUTO MINEIRO DE GESTÃO DAS ÁGUAS. Monitoramento da Qualidade das Águas Superficiais no Estado de Minas Gerais - Relatório Trimestral - 4º Trimestre de 2017. Belo Horizonte: Igam, 2017
- LOPES, J. E. G.; BARROS, M. T. L.; BRANDÃO, J. L. B. **Projeto de gerenciamento integrado das atividades desenvolvidas em terra na bacia do São Francisco-subprojeto 4.4: determinação de subsídios para procedimentos operacionais dos principais reservatórios da bacia do São Francisco. Brasília: ANA. GEF/PNUMA/OEA, 2002.**
- NIU, Lihua et al. Development of a microbial community-based index of biotic integrity (MC-IBI) for the assessment of ecological status of rivers in the Taihu Basin, China. **Ecological Indicators**, v. 85, p. 204-213, 2018.
- QUAST, Christian et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. **Nucleic acids research**, v. 41, n. D1, p. D590-D596, 2012.
- STAEBE, K. et al. Microbial community diversity as a potential bioindicator of AMD and steel plant effluent in a channelled valley bottom wetland. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 229, n. 12, p. 397, 2018.
- TAO, Ke et al. Patterns of bacterial and archaeal communities in sediments in response to dam construction and sewage discharge in Lhasa River. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 178, p. 195-201, 2019.
- WANG, Lan et al. Shift in the microbial community composition of surface water and sediment along an urban river. **Science of the Total Environment**, v. 627, p. 600-612, 2018.
- WEI, Jing et al. Differences in soil microbial response to anthropogenic disturbances in Sanjiang and Momoge Wetlands, China. **FEMS microbiology ecology**, v. 95, n. 8, p. fiz110, 2019.
- XIE, Yuwei et al. Using in situ bacterial communities to monitor contaminants in river sediments. **Environmental Pollution**, v. 212, p. 348-357, 2016.
- ZHANG, Lei et al. Bacterial community composition in aquatic and sediment samples with spatiotemporal dynamics in large, shallow, eutrophic Lake Chaohu, China. **Journal of Freshwater Ecology**, v. 34, n. 1, p. 575-589, 2019.