

IDENTIFICAÇÃO POR METAGENÔMICA DE CIANOBACTÉRIAS DA LAGOA SALGADA, REGIÃO NORTE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Thiago Corrêa de Almeida¹

Priscila Gonçalves Moura²

Elvira Carvajal³

Rodrigo Jardim Monteiro da Fonseca⁴

Adriana Sotero-Martins⁵

Ecologia Ambiental

Resumo

A Lagoa Salgada é um corpo aquático hipersalino costeiro, localizada no norte do Estado do Rio de Janeiro. É reconhecida internacionalmente pela presença de estromatólitos em seu ecossistema. Os estromatólitos são referências para estudos sobre origem da vida primitiva e variações das condições ambientais pretéritas. As cianobactérias são os principais produtores primários em lagoas hipersalinas costeiras, apresentando uma ampla variedade de organismos adaptados à alta salinidade. Atualmente, a Lagoa Salgada sofre significativa pressão antrópica, com atividades agropecuárias e industriais sendo desenvolvidas em sua região. Esse estudo objetiva identificar as cianobactérias presentes na Lagoa Salgadas através da análise metagenômica. O material genético obtido da amostra de água coletada foi submetido ao sequenciamento pelo método *shotgun*. O gênero *Synechococcus* foi responsável por 64% das cianobactérias identificadas, seguidos por *Synechocystis* (23%), *Geminocystis* (2%), *Calothrix* (1%). As cepas com maiores números de sequências foram *Synechococcus* sp. RS9909 (46%), *Synechocystis* sp. PCC 6714 (16%), *Synechococcus* sp. WH 8101 (9%), *Synechocystis* sp. CACIAM 05 (4%). A Lagoa Salgada apresenta uma ampla variedade cianobactérias em seu ecossistema aquático, fundamentando a necessidade de proteção integral do ambiente lagunar.

Palavras-chave: DNA; Ecossistema costeiro; Hipersalino; Estromatólitos; Microrganismos

¹Doutorando do Programa de Saúde Pública e Meio Ambiente – ENSP/FIOCRUZ, almeida.thiago.bio@gmail.com

² Prof. Dra. em Saúde Pública e Meio Ambiente - Fundação Oswaldo Cruz. - FIOCRUZ, priscila.moura.gema@gmail.com

³ Prof. Dra. Pesquisadora do Departamento de Biologia Celular DBCEL/UERJ, elvira.dbiocol@gmail.com

⁴ Prof. Dr. Pesquisador do Laboratório de Biologia Computacional e Sistemas do Instituto Oswaldo Cruz - IOC/FIOCRUZ, jardim.rodrigo@gmail.com

⁵ Prof. Dra. Pesquisadora do Departamento de Saneamento e Saúde Ambiental - DSSA/ENSP/FIOCRUZ, adrianasotero@ensp.fiocruz.br



INTRODUÇÃO

A Lagoa Salgada é um corpo aquático hipersalino de restinga, patrimônio geopaleontológico da humanidade (devido a presença de estruturas estromatolíticas), localizada na região norte do estado do Rio de Janeiro. Os estromatólitos são estruturas biogênicas formadas pela união e aprisionamento de sedimentos, através da precipitação do carbonato de cálcio, por atividade de cianobactérias, que são referências para estudos sobre origem da vida primitiva e variações das condições ambientais pretéritas (VISSCHER & STOLZ, 2005). Possuem importância geológica e paleontológica devido a ocorrência em poucas regiões do mundo (ALLWOOD et al. 2007). A Lagoa Salgada está localizada em uma região que apresenta atividade industrial, agropecuária significativa expansão urbana.

As cianobactérias são os principais produtores primários em lagos hipersalinos interiores, lagoas hipersalinas costeiras, lagoas de evaporação salina para a produção de sal da água do mar, nascentes salinas e outros ambientes com concentrações de sal superiores à da água do mar (OREN, 2015). Diversas espécies foram identificadas habitando ambientes com altas salinidades, incluindo tipos unicelulares, assim como espécies filamentosas não-heterocitadas. Sendo assim, esse estudo objetiva identificar as cianobactérias presentes na Lagoa Salgadas através da ferramenta da metagenômica.

METODOLOGIA

Foram coletados 20 litros de água da Lagoa Salgada em galões esterilizados. A amostra foi submetida ao processo de filtração por bomba à vácuo, utilizando 3 tipos membranas Millipore - 0,8 μm , 0,45 μm , 0,22 μm . O processo de extração do DNA foi realizado seguindo o protocolo estabelecido pelo kit DNeasy Power Water, no Laboratório BIOTECISA-DCB-UERJ, submetido ao sequenciamento pelo método *shotgun* - sequenciador HiSeq 2500 da Illumina, na Plataforma de Sequenciamento do SENAI-CETIQT.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grupo das cianobactérias compôs um total de 141.964.138 sequências. Evidenciou-se o gênero *Synechococcus* como o de maior abundância, com 64% das cianobactérias identificadas na amostra. O gênero *Synechocystis* apareceu em seguida, com 23%. Os demais gêneros identificados foram: *Geminocystis* (2%), *Calothrix* (1%), *Nostoc* (0,9%), *Microcystis* (0,5%), *Candidatus Atelocyanobacterium* (0,3%), *Gloeothece* (0,2%), *Halothece* (0,2%), *Rippkaea* (0,2%), *Arthrospira* (0,2%), *Planktothrix* (0,2%), *Oxynema* (0,2%), *Moorea* (0,1%), *Oscillatoria* (0,1%), *Crocospaera* (0,1%), *Crocospaera* (0,1%), *Cyanothece* (0,1%), *Fischerella* (0,1%), *Geitlerinema* (0,09%), *Microcoleus* (0,09%), *Geitlerinema* (0,09%), *Scytonema* (0,08%), *Chondrocystis* (0,07%), *Raphidiopsis* (0,07%), *Gloeocapsa* (0,06%), *Nodularia* (0,05%), *Sphaerospermopsis* (0,04%), *Anabaena* (0,04%), e as cianobactérias não identificadas ficaram em 3%.

Quanto ao número de sequências, foi evidenciado que as cepas *Synechococcus* sp. RS9909 (46%), *Synechocystis* sp. PCC 6714 (16%), *Synechococcus* sp. WH 8101 (9%), *Synechocystis* sp. CACIAM 05 (4%), *Synechococcus* sp. BMK-MC-1 (1%), *Geminocystis* sp. NIES-3708 (0,9%) e *Calothrix* sp. PCC 6303 (0,8%) foram as que apresentaram maiores porcentagens dentro da amostra (Figura 1). Os valores referentes ao número de sequências das cepas estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Cianobactérias com maiores números de sequências na amostra.

Cianobactérias	Número de sequências
<i>Synechococcus</i> sp. RS9909	65.756.909
<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6714	23.379.164
<i>Synechococcus</i> sp. WH 8101	13.318.747
<i>Synechocystis</i> sp. CACIAM 05	4.985.028
<i>Synechococcus</i> sp. BMK-MC-1	1.530.004
<i>Geminocystis</i> sp. NIES-3708	1.230.249
<i>Calothrix</i> sp. PCC 6303	1.100.406

Segundo Sohm et al (2016), o gênero *Synechococcus* possui ampla distribuição global podendo ser encontradas em oceanos tropicais, ecossistemas marinhos costeiros e de água doce, esteiras microbianas de fontes termais e águas polares ricas em nutrientes. Essa abrangência de ambientes possibilita uma grande diversidade fisiológica dentro de seu



grupo taxonômico. Em ecossistemas hipersalinos, Burns et al. (2004), identificou cianobactérias do gênero *Synechococcus* compondo a diversidade microbiana dos estromatólitos existentes no ambiente marinho hipersalino da baía de Shark Bay, Austrália. Clementino et al. (2008), em estudo sobre diversidade procariótica de áreas hipersalinas da Lagoa de Araruama (Rio de Janeiro), detectou amostras dominadas por filótipos de *Synechococcus*. Walsby et al. (1983) identificou a presença de *Synechococcus* em esteiras bentônicas no pequeno lago heliotérmico de Solar Lake (Sinai, Egito), na costa do Golfo de Aqaba, Mar Vermelho.

O gênero *Synechocystis* definido morfológicamente como organismos esféricos cocóides, com tilacóides parietais, com capacidade de habitar variados ambientes (KORELUSOVÁ et al., 2009). Oren (2015), evidenciou que cepas de *Synechocystis* podem apresentar capacidade halotolerantes, podendo ser isoladas em ambientes de água doce, quanto apresentar elevado crescimento em ambientes com concentrações de sal até 3 vezes mais altas que a água do mar. São utilizados em estudos ecofisiológicos e bioquímicos relacionados a regulação metabólica das cianobactérias. (KORELUSOVÁ et al., 2009; OREN 2015). Fourçans et al (2004), identificaram cepas de *Synechocystis* em um grande lago raso na salina de Salins-de-Giraud, perto da barreira de areia e a costa marítima de Camargue, França. Kawaguchi et al. (2002), isolaram espécies de cianobactérias, dentre elas *Synechocystis sp.*, presentes em estromatólitos marinhos em Highbome Cay, Bahamas para estudo sobre a caracterização bioquímica das mesmas.

O gênero *Geminocystis* foi proposto e descrito por Korelusova et al. (2009), em seu estudo de revisão do gênero cianobacteriano *Synechocystis*. Os autores classificaram *Geminocystis* como sendo um táxon irmão do gênero *Cyanobacterium*, devido a diferenças relacionadas a posição genética e tipo diferente de divisão celular. Andreote et al (2014), identificou cepas pertencentes ao gênero *Geminocystis* em lagoas salino-alcálinas localizadas Nhecolândia, uma sub-região do Complexo do Pantanal. Ramos et al (2017) identificou a ocorrência de *Geminocystis sp.* em lagoas hipersalinas do complexo lagunar de Araruama.

O gênero *Calothrix* é uma cianobactéria filamentosa, bentônica, com alto nível de diversidade genética. Apresenta uma ampla distribuição global, sendo encontrado em

habitats marinhos, de água doce e terrestres, tais como: esteiras cianobacterianas, recifes tropicais, ambientes endolíticos e fontes termais (SIHVONEN et al., 2007). Paerl et al. (2004) identificou a presença de *Calothrix* sp. em camadas de formação dos estromatólitos de Highborne Cay, Ilha de Exumas, Bahamas.

CONCLUSÕES

A Lagoa Salgada apresenta uma ampla variedade cianobactérias em seu ecossistema aquático. Cepas pertencentes aos gêneros *Synechococcus* e *Synechocystis* apresentaram-se com maior número de sequência, sendo também encontrados em ambientes semelhantes ao redor do mundo. Por fim, a grande diversidade microbiológica encontrada na Lagoa Salgada fundamenta a necessidade de proteção integral do ambiente lagunar, contribuindo para a preservação das riquezas biológicas existentes.

REFERÊNCIAS

- ALLWOOD, A. C., WALTER, M. R., BURCH, IAN W., KAMBER, B. S. 3.43 billion-year-old stromatolite reef from the Pilbara Craton of Western Australia: Ecosystem-scale insights to early life on Earth. **Precambrian Research**, v 158: 3-4, , p 198-227, 2007 <https://doi.org/10.1016/j.precamres.2007.04.013>
- ANDREOTE, A. P., VAZ, M. G., GENUÁRIO, D. B., BARBIERO, L., REZENDE-FILHO, A. T., FIORE, M. F. Nonheterocytous cyanobacteria from Brazilian saline-alkaline lakes. **Journal of Phycology**; 50(4):675-84. 2014 <https://doi.org/10.1111/jpy.12192>
- BURNS, B. P., GOH, F., ALLEN, M., & NEILAN, B. A. Microbial diversity of extant stromatolites in the hypersaline marine environment of Shark Bay, Australia. **Environmental Microbiology**, 6(10), 1096-1101. 2004 <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2004.00651.x>
- CLEMENTINO et al. (2008), disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00792-008-0162-x>
- FOURÇANS et al. (2004), disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2004.07.012>
- KAWAGUCHI et al. (2002), disponível em: <https://doi.org/10.1081/PB-120013161>
- KORELUSOVÁ et al. (2009), disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2009.00701.x>
- OREN A. (2015), disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10531-015-0882-z>
- PAERL et al. (2001), disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2001.00168.x>
- RAMOS et al. (2017), disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01233>
- LEHTIMÄKI et al. (2007), disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00321.x>
- SOHM et al. (2016), disponível em: <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.115>
- VISSCHER, P. T. & STOLZ, J. F. (2005), disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52019-7.50009-7>
- WALSBY et al. (1983), disponível em: <https://doi.org/10.1098/rspb.1983.0019>