



**GUSTAVO HENRIQUE PEREIRA LIMA**

**IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DE CIANOBACTÉRIAS  
FILAMENTOSAS EPIFÍTICAS ÀS RAÍZES DE *Salvinia  
auriculata* Aublet (SALVINIACEAE) E *Pistia stratiotes* L.  
(ARACEAE)**

**LAVRAS-MG**

**2023**

**GUSTAVO HENRIQUE PEREIRA LIMA**

**IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DE CIANOBACTÉRIAS  
FILAMENTOSAS EPIFÍTICAS ÀS RAÍZES DE *Salvinia  
auriculata* Aublet (SALVINIACEAE) E *Pistia stratiotes* L.  
(ARACEAE)**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Ciências Biológicas, para a obtenção do título de Licenciado.

**Prof(a). Dr(a). Flavia de Freitas Coelho**

Orientadora

**Dr. Marcelo Gomes Marçal Vieira Vaz**

Coorientador

**LAVRAS-MG**

**2023**



**GUSTAVO HENRIQUE PEREIRA LIMA**

**IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DE CIANOBACTÉRIAS  
FILAMENTOSAS EPIFÍTICAS ÀS RAÍZES DE *Salvinia  
auriculata* Aublet (SALVINIACEAE) E *Pistia stratiotes* L.  
(ARACEAE)**

**MORPHOLOGICAL IDENTIFICATION OF EPIPHYTIC  
FILAMENTOUS CYANOBACTERIA TO THE ROOTS OF  
*Salvinia auriculata* Aublet (SALVINIACEAE) AND *Pistia  
stratiotes* L. (ARACEAE)**

Monografia apresentada à  
Universidade Federal de Lavras, como  
parte das exigências do Curso de  
Ciências Biológicas, para a obtenção  
do título de Licenciado.

APROVADA em 30 de janeiro de 2023.

Ma. Larissa Langsdorff Pimenta UFLA

Ma. Grécia de Andrade Souza UFLA

**Prof(a). Dr(a). Flavia de Freitas Coelho**

Orientadora

**Dr. Marcelo Gomes Marçal Vieira Vaz**

Coorientador

**LAVRAS-MG**

**2023**



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a meus pais, minhas raízes e minha família. Vocês possibilitam e incentivaram meu desenvolvimento, sempre encorajando a estudar, buscar meus sonhos e trilhar meu caminho.

Aos amigos que encontrei na caminhada da vida. Aos do ensino médio: vocês são minha base, o suporte para permanecer de pé. Aos da graduação: vocês viveram comigo momentos inesquecíveis e me apoiaram momentos decisivos. Principalmente Júlia Angeli, por sempre me lembrar dos compromissos, me suportar desse jeitinho voado e puxar minha orelha, e Júlia Brandão. Vocês são tudo.

A minha orientadora Flávia, a melhor possível. Com você aprendi não só ciência, mas também valores humanos, além de ganhar uma amiga para vida toda. Obrigado por todos os momentos de aprendizado, das conversas e dos cafés.

Ao meu coorientador Marcelo, sempre disponível e solícito.

A todos os membros do laboratório, atuais e egressos. Ana e Luís, meus primeiros companheiros de surtos e alegria nesse ambiente, pessoas maravilhosas. Grécia, sempre controlando a nossa quinta série interior, ou se juntando ao movimento, depende. Lara, detentora e produtora das melhores figurinhas. Michel, sempre translúcido. E principalmente Larissa, meu maior presente no laboratório, pelo aprendizado, companheirismo, momentos juntos, horas com o nariz no vidro da capela e sonecas no microscópio. Muito obrigado, vocês têm selo translucidez de amizade.

A minhas amigas da confeitaria, Chica, Gi, Gabi e Jana, sempre cobrando o meu progresso.

Aos professores do curso de Ciências biológicas por todos os ensinamentos.

A Fapemig e CNPq, pelas bolsas de iniciação científica.

A UFLA pelo acolhimento, ensino de qualidade e por ser o palco de uma época tão decisiva de minha vida.

A todos que contribuíram com este trabalho e minha trajetória de vida.

**MUITO OBRIGADO!**

## RESUMO

Cianobactérias são procariotos que realizam fotossíntese oxigênica e pertencem ao grupo das bactérias gram negativas, por sua estrutura e constituição de parede celular. Estão presentes em praticamente todos os ambientes do planeta, inclusive associadas, tanto endofítica quanto epifiticamente, a outros seres vivos, incluindo as macrófitas aquáticas. Devido sua grande diversidade e importância, nesse trabalho objetivamos identificar morfológicamente os tricomas de 21 linhagens previamente isoladas da diversidade cultivável de cianobactérias que vivem associadas de forma epifítica às raízes de *Salvinia auriculata* e *Pistia stratiotes*. Dentre as 21 linhagens analisadas, foram catalogados, mensurados e identificados organismos pertencentes a 3 ordens, 8 Famílias, 11 Gêneros, sendo a ordem Nostocales com maior número de linhagens representantes (16).

**Palavras-chave:** Classificação Morfológica. Associação Epifítica. Procarioto.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	9
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	10
3 OBJETIVOS .....	12
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
5.1. Linhagens isoladas de <i>S. auriculata</i> : .....	16
5.2. Linhagens isoladas de <i>P. stratiotes</i> .....	20
6. CONCLUSÃO.....	26
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	27

## 1 INTRODUÇÃO

Cianobactérias (filo Cyanobacteriota) são procariotos (domínio Bacteria), capazes de realizar fotossíntese oxigênica, cujo envoltório celular se assemelha ao de bactérias gram-negativas (R. Y. STANIER AND G. COHEN-BAZIRE, 1977). Estes micro-organismos estão presentes em praticamente todos os ambientes do planeta, desde aquáticos até terrestres, desertos, fontes termais e zonas geladas, o que pode ser explicado pela pouca exigência nutricional e resistência às condições físico-químicas extremas que alguns táxons apresentam (MEEKS, 1998).

É inegável a importância das cianobactérias em todos os ambientes em que elas ocorrem para a vida no planeta. Apesar de todos os trabalhos publicados focados em cianobactérias, o conhecimento das associações epifíticas em que esses organismos são parte, e de linhagens isoladas dessas associações e conservadas em coleções ainda é escasso.

Desta forma, buscamos identificar, por meio da morfologia dos tricomas, em nível de família ou gênero, linhagens isoladas da diversidade cultivável de cianobactérias que vivem associadas de forma epifítica às raízes de *S. auriculata* e *P. stratiotes*.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

Como organismos autotróficos, na presença de luz as cianobactérias realizam fotossíntese, através de aparato semelhante ao encontrado em plantas e algas (R. Y. STANIER AND G. COHEN-BAZIRE, 1977). Entretanto, a presença do fotossistema duplo constitui uma novidade evolutiva, ou apomorfia, presente, dentre os procariotos, apenas nas cianobactérias (GARRITY; BOONE, DAVID R., CASTENHOLZ, 2010). E ainda, sendo o grupo das cianobactérias extremamente diverso do ponto de vista metabólico, algumas linhagens são capazes de fixar o nitrogênio através do complexo enzimático Nitrogenase, que pode ser inativada por formas de oxigênio. Esses fatos as tornam seres paradoxais e únicos, com potencial para realizar dois processos antagônicos, qual sejam, a fotossíntese oxigênica e a fixação do nitrogênio atmosférico (BERMAN-FRANK; LUNDGREN; FALKOWSKI, 2003; MAZHAR et al., 2019; R. Y. STANIER AND G. COHEN-BAZIRE, 1977).

Para finalidade da FBN alguns táxons possuem uma célula especializada para tal função, o heterócito. Esta é uma célula modificada, facilmente reconhecida sob microscópio de luz por suas diferenças em relação às células vegetativas. Apresentam uma parede celular muito espessa (impedindo a entrada de O<sub>2</sub>), geralmente apresentam cores pálidas e, em cada junção com as células vegetativas, possuem um grânulo visível, chamado nódulo polar, o qual se permite conexão entre elas (R. Y. STANIER AND G. COHEN-BAZIRE, 1977).

O sistema de classificação mais atual de cianobactérias baseia-se em taxonomia polifásica, a qual considera morfologia, genética, bem como aspectos de história de vida e ecologia para formulação de um sistema mais estável. Tal classificação de cianobactérias as divide em oito ordens, das quais quatro (Synechococcales, Oscillatoriales, Spirulinales e Nostocales) abrigam organismos com morfologia filamentosa (KOMÁREK et al., 2014).

Para identificação, tanto morfológica quanto molecular, bem como para a realização de experimentos ecológicos e fisiológicos, uma cultura pura é um pré-requisito essencial à realização de um trabalho bem-sucedido (Stanier e Cohen-Bazire 1977). Portanto, é indispensável o procedimento de isolar as linhagens de estudo. Para isso, é necessário empregar um meio de cultura que atenda à demanda nutricional do organismo, já que cada macro elemento ou elemento traço desempenha uma função estrutural ou fisiológica dentro do ser vivo e, em sua ausência, funções

básicas serão prejudicadas (TEMRALEEVA et al., 2016). Para cianobactérias, o meio BG11 é bastante empregado no isolamento e cultivo das linhagens (TEMRALEEVA et al., 2016) e o BG11<sub>0</sub> é sua variação, na qual as fontes de nitrogênio são retiradas. Este é o meio mais indicado para selecionar, isolar e manter linhagens capazes de fixar nitrogênio através do gás dinitrogênio (N<sub>2</sub>) atmosférico (ALLEN; STANIER, 1968; RIPPKA, 1988). Os métodos mais utilizados e simples são a inoculação de colônias por estrias ou a transferência de uma única célula/filamento isolado com micropipeta sob microscópio em meio fresco.

A temperatura também é um fator importante para a obtenção de um crescimento satisfatório dos microrganismos mantidos em cultura. Conforme registrado no Manual de Bergey de Sistemática Bacteriológica (2010), muitas cianobactérias possuem uma temperatura ótima de crescimento superior à apresentada na maioria das algas eucarióticas. Assim, culturas em meio nutricionalmente não seletivo, quando encubadas à 35°C exibem maior crescimento de cianobactérias e o número de algas eucarióticas é drasticamente reduzido em relação às encubadas à 25°C. Já quando encubadas à mesma temperatura, mas em meio com ausência de nitrogênio, as algas são eliminadas e, apesar de em número reduzido, crescem somente cianobactérias, especialmente as heterocitadas (ALLEN; STANIER, 1968). A seleção por meio de antibióticos e outros compostos inibidores também é possível. Em cultivo de cianobactérias pode-se empregar ampicilina, com ação bactericida sobre alguns grupos de procariotos e cicloheximida, inibidor do fuso mitótico, para eliminação de eucariotos (RIPPKA, 1988).

Cianobactérias são organismos muito versáteis, desenvolvendo associações simbióticas com diversos ramos da árvore da vida. Essas associações estão presentes desde os grupos como microalgas eucarióticas, briófitas, como musgos e antóceros, e até com grupos morfológicamente mais complexos como pteridófitas, gimnospermas e angiospermas e, inclusive com fungos, formando líquens (MEEKS, 1998; FÁVARO). Cianobactérias podem participar dessas interações sendo endofíticas, como nos casos de *Gunnera*, cicas e da samambaia aquática *Azolla*, ou epifíticas, como em *Salvinia auriculata* (PIMENTA et al, 2021).

### **3 OBJETIVOS**

1 – Caracterizar as linhagens de cianobactérias filamentosas isoladas das raízes de *S. auriculata* e *P. stratiotes* previamente coletadas em uma lagoa marginal ao Rio das Mortes;

2 – Identificar as linhagens isoladas em nível de família e, quando possível, em nível genérico;

3 – Cultivar os isolados em meio BG11 e BG11<sub>0</sub> para manutenção do material genético em coleção em laboratório.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Macrófitas aquáticas

*Salvinia auriculata* é samambaia aquática formadora de densos tapetes sobre a água devido a sua rápida expansão clonal (MEDEIROS et al., 2017) que contribui com o funcionamento do ecossistema em que está inserida, como, por exemplo, na estruturação da comunidade e biomassa produtiva (MITCHELL et al. 1980), sendo que o gênero é de ocorrência comum em regiões tropicais e diversas localidades do Brasil (SMITH et al. 2008; MIRANDA, 2017). Em condições favoráveis, pode formar densos “tapetes” na superfície da água e se espalhar a uma taxa impressionante de 400 km<sup>2</sup> por ano (JULIEN et al., 2002). Devido a este crescimento vigoroso pode cobrir totalmente os corpos d’água onde crescem com vários impactos negativos no ecossistema (JAMPEETONG; BRIX, 2009)

A arquitetura de *S. auriculata* é baseada em unidades fisiológicas denominadas rametes. Os rametes são compostos por dois folíolos aéreos, com função de folha e um folíolo submerso, com função de raiz. Este último extremamente ramificado (MIRANDA, 2017).

*Pistia stratiotes* é uma angiosperma pertencente à família Araceae. É também uma macrófita flutuante formadora de densos tapetes na superfície d’água que ocorrem devido ao seu crescimento clonal, ou reprodução vegetativa. (LALLANA, 1989). As plantas de *P. stratiotes* produzem uma roseta de folhas em filotaxia alterna espiralada (LALLANA, 1989) além de raízes extremamente ramificadas, onde, previamente em laboratório, foram observadas cianobactérias associadas, principalmente filamentosas.

O filo Cyanobacteriota engloba organismos de amplo espectro morfológico e amplamente distribuídos, ocorrendo em quase todos os ecossistemas do planeta (DVOŘÁK et al., 2017; KOMÁREK; JOHANSEN, 2015). Seus representantes filamentosos, alguns ramificados, outros não, estão contidos em quatro ordens. Synechococcales (contendo os representantes mais antigos do filo, além de morfologia variada), Oscillatoriales (contendo linhagens homocitadas) Spirulinales (tricomatas espiralados) e Nostocales cujo representantes apresentam a capacidade de formar células diferenciadas e com funções específicas: (1) o heterócito, especializada

em fixar nitrogênio e (2) o acineto, uma célula de resistência formada em condições desfavoráveis; além de possuírem filamentos e ciclos de vida mais complexos (DVOŘÁK et al., 2017).

#### **4.2 Isolamento das linhagens de cianobactérias**

As linhagens de cianobactérias identificadas foram isoladas de associação às raízes de *Salvinia auriculata* e *P. stratiotes* coletadas em uma lagoa marginal ao Rio das Mortes. Para isso o espremido das raízes foi inoculado em placas contendo meio BG11 e BG11<sup>0</sup> e cultivadas em bancada com regime de luz 12h claro e 12h escuro.

Mensalmente ocorria a repicagem, onde uma fração do que se desenvolveu nas placas era transferida para outra placa com um meio fresco. Esse processo se repetiu por cerca de um ano e meio até que cada placa abrigasse somente um morfotipo.

#### **4.3 Manutenção das culturas de cianobactérias e identificação das linhagens**

Após isolamento, as linhagens obtidas passaram a integrar a Coleção de Culturas de Cianobactérias do Laboratório de Ecologia de Cianobiontes da Universidade Federal de Lavras (UFLA). As culturas são mantidas em placas de petri contendo meio sólido BG11 e BG11<sup>0</sup> (para as linhagens heterocitadas), em bancada no laboratório, iluminadas por lâmpadas brancas, em regime de luz 12:12 de claro e escuro. Mensalmente ocorre a repicagem e transferimos um inóculo de cada linhagem para outra placa contendo um novo meio de cultivo para evitar a perda das culturas por envelhecimento.

Identificamos as linhagens isoladas utilizando literatura especializada e seguindo sistema de taxonomia polifásica proposto por Komárek et al (2014). Baseamos as análises morfológicas nos parâmetros de diâmetro e comprimento de células vegetativas, ornamentação dos ápices, constrições e forma das células, bainha e tipo de ramificação. Além de, nas linhagens capazes de diferenciá-los, diâmetro, largura, forma e posição de heterócitos e acinetos (GENUÁRIO, 2010; SANTOS; SANT'ANNA, 2010).

Os acinetos, assim como heterócitos, são morfologicamente distintos entre as linhagens de cianobactéria que os apresentam, portanto, são importantes para a

identificação morfológica. Para obtê-los, submetemos as culturas já crescidas das linhagens heterocitadas ao escuro total para estimular maturação de acinetos, uma vez que seria um tratamento de estresse.

### **4.3 Observação e medidas celulares para identificação**

Observamos e fotografamos as linhagens isoladas sob microscópio óptico equipado com câmera Zeiss AxioCam ERc5s e tomamos as dimensões celulares com a auxílio do programa computacional Image J (Tabela 1). Utilizamos 30 células vegetativas tomadas aleatoriamente de dez fotos de campos de observação de lâminas frescas das linhagens, sendo três células por campo para mensurar largura e comprimento celulares.

Observamos também dez heterócitos e quantos acinetos encontrados nesses campos fotografados e suas características e dimensões foram tomadas. Sendo as medidas utilizadas na Tabela 1 a média simples das medidas obtidas.

Utilizando as fotografias, as observações em microscópio óptico do material vivo e em cultivo, as linhagens foram descritas morfológicamente e identificadas utilizando duas chaves de identificação específicas para cianobactérias e as descrições de gêneros presentes nestas chaves e artigos de diagnose (KOMÁREK; JOHANSEN, 2015; SANT'ANNA et al., 2020). Sendo chave 1= Sant'anna et al. e chave 2= Komárek & Johansen

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao todo 29 linhagens morfológicamente distintas foram isoladas das raízes das macrófitas (Imagens 1 e 2). Todas seguem mantidas e cultivadas no Laboratório de Ecologia de Cianobiontes, no Departamento de Biologia da UFLA. A nomenclatura dada às linhagens deriva da amostra que procede e da ordem de sua catalogação (101 para a primeira, 102 para segunda e assim por diante).

Dessas 29 linhagens, uma pertence a ordem Synechococcales, quatro pertencem a ordem Oscillatoriales e 16 a ordem Nostocales. Os caracteres observados permitiram a identificação de 11 gêneros, distribuídos em 8 famílias, baseados nas duas chaves consultadas.

Abaixo seguem as descrições das linhagens identificadas e seus respectivos gêneros de acordo com a determinação: chave 1= Sant'anna et al. e chave 2= Komárek & Johansen.

### 5.1. Linhagens isoladas de *S. auriculata*:

**S1101** - Filamentos homocitados, isolados, sem bainha aparente, linhas divisórias das células bem demarcadas, comum grande grânulo em cada polo celular. Células cilíndricas (mais compridas que largas), célula apical de cume arredondado.

Chave 1- 1; 47; 48; 49; 54; 56; 58; 59- *Pseudoanabaena*

Chave 2- 1; 2; 3; 4; 5; 7; 12- *Pseudoanabaena*

A linhagem S1101 se enquadra bem da descrição deste gênero, principalmente pela formação de pequenos tapetes e constrição bem demarcada das células do filamento (LAUTERBORN, 1915).

**S1103** e **S4101**- Filamentos homocitados, isolados, sem bainha aparente, linhas divisórias das células bem demarcadas, células cilíndricas (mais compridas que largas), célula apical de cume arredondado. Tricomas com movimento de pêndulo.

Chave 2- 1; 2; 3; 4; 5; 7; 8- *Geitlerinema/Anagnostidinema*

Apesar de se adequar à descrição de *Geitlerinema* (STRUNECKÝ et al. 2017), essas linhagens não possuem a caliptra nas extremidades do tricoma como as demais desse gênero. Então, podem pertencer ao gênero *Anagnostidinema*, composto por espécies derivadas de *Geitlerinema*.

**S3102-** Filamentos homocitados e isolados, possível bainha fina, presença de caliptra, células achatadas como moedas empilhadas, medidas 4,2µm x11,5µm, presença de aerótopos.

Chave 1- 1; 47; 48; 61; 62; 63- *Limnoraphis*

Chave 2- 1; 2; 24; 27; 46; 47; 48; 49; 50- *Limnoraphis*

Todos os caracteres se enquadram na diagnose do gênero *Limnoraphis* (KOMÁREK et al. 2013), porém a amostra apresenta caliptra o que não está descrito para o gênero.

**S4102-** Filamentos heterocitados e isolados, ramificações duplas falsas scytonematóides (em V), células com ampla variação de cor e formato no mesmo filamento.

Chave 1- 1; 47; 76; 77; 78; 79- *Scytonema*

Chave 2- 1; 53; 54; 55; 56; 57; 58- *Scytonema*

**S4104-** filamentos heterocitados isoplolares, sem ramificações, células tipo barril, heterócitos intercalares e terminais. Produção de muita mucilagem.

Chave 1- 1; 47; 76; 77; 80; 81; - - -

Chave 2- 1; 53; 54; 73; 75; 84; 85; 86; 91; 92; 93- *Desmonostoc*

A identificação pela chave um não foi concluída pois no passo onde foi interrompida são necessárias informações sobre acineto, que ainda não foi observado nessa linhagem.

**S4106**- Filamentos heterocitados, heteropolares, agrupados, heterócitos terminais e intercalares, cor amarronzada, poucas ramificações falsas. Agrupadas em 8-12 filamentos heteropolares curtos na amostra natural. Heterócitos intercalares quadráticos ou subquadráticos.

Chave 1- 1; 47; 76; 92; 93- *Tolypothrix*

Chave 2- 1; 53; 54; 55; 59; 60; 62; 63; 65; 66- *Tolypothrix*

A identificação ficou entre este gênero e o gênero *Hassallia*, porém este último possui necrídios e heterócitos intercalares discoides (KOMÁREK, 1992).



Figura 1- linhagens isoladas de *S. auriculata*. A letra S é referente a planta e a numeração à amostra da qual a linhagem foi isolada.

## 5.2. Linhagens isoladas de *P. striatotes*

**P1101** - Filamentos logos homocitados, isolados, sem bainha aparente, linhas divisórias das células dificilmente distintas. Células quadráticas, célula apical afinada de cume arredondado em uma das extremidades e reta na extremidade oposta.

Chave 1- 1; 47; 48; 61; 65; 67; 68; 70; 71; 72; 75- *Microcoleus*

Chave 2- 1; 2; 24; 27; 28; 29; 30; 32; 40; 41; 43; 44; 45- *Microcoleus*

O agrupamento dos tricomas seguem a morfologia característica do gênero, além de células apicais afuniladas (KOMÁREK; JOHANSEN, 2015).

**P2103** - Filamentos heterocitados levemente afilados ao longo e raras falsas ramificações, isolados, sem bainha aparente, linhas divisórias das células bem demarcadas, células em média quadráticas (mais compridas que largas), célula apical de cume arredondado. Heterócitos terminais predominantes, raramente intercalares. Coloração marrom característica.

Chave 1- 1; 47; 76; 92; 94- *Calothrix*

Chave 2- 1; 53; 54; 55; 59; 67; 68- *Calothrix*

**P2105-** Filamentos heterocitados, não ramificados, levemente curvados e emaranhados dentro de mucilagem, células esféricas, heterócitos intercalares e terminais.

Chave 1- 1; 47; 76; 77; 80; 81; 84; 85- *Nostoc*

Chave 2- 1; 53; 54; 73; 75; 84; 85; 86; 91- *Nostoc*

**P2106** - Filamentos heterocitados levemente afilados ao longo e raras falsas ramificações, isolados, sem bainha aparente, linhas divisórias das células bem demarcadas, células em média quadráticas (mais compridas que largas), célula apical de cume arredondado. Heterócitos terminais predominantes, raramente intercalares. Coloração marrom característica.

Chave 1- 1; 47; 76; 92; 94- *Calothrix*

Chave 2- 1; 53; 54; 55; 59; 67; 68- *Calothrix*

**P3101-** Filamentos heterocitados e isolados, com bainha, que também contém os hormogônios, ramificações duplas falsas scytonematóides (em V), células com ampla variação de cor (predominante acinzentada) e formato no mesmo filamento. Estruturas semelhantes a bolhas no interior das células.

Chave 1- 1; 47; 76; 77; 78; 79- *Scytonema*

Chave 2- 1; 53; 54; 55; 56; 57; 58- *Brasilonema*

A chave 1 não possui o gênero *Brasilonema*, descrito por Fiore et al. em 2007, mas já nos leva à família Scytonemataceae. Portanto, levando em consideração a descrição do gênero e espécie tipo, nossa concordância se mantém com a chave 2. Principalmente pela presença das estruturas que se assemelham à vacúolos presentes no interior das células.

**P5101-** Filamentos heterocitados, não ramificados, levemente curvados e emaranhados dentro de mucilagem, células esféricas, heterócitos intercalares e terminais.

Chave 1- 1; 47; 76; 77; 80; 81; 84; 85- *Nostoc*

Chave 2- 1; 53; 54; 73; 75; 84; 85; 86; 91- *Nostoc*

**P5102-** Filamentos heterocitados, não ramificados, levemente curvados e mais emaranhados e retorcidos dentro de mucilagem que a linhagem P5101. Células esféricas, heterócitos intercalares e terminais.

Chave 1- 1; 47; 76; 77; 80; 81; 84; 85- *Nostoc*

Chave 2- 1; 53; 54; 73; 75; 84; 85; 86; 91- *Nostoc*

**P5103-** Filamentos heterocitados, levemente afilados ao longo e raras falsas ramificações, isolados, com bainha aparente, linhas divisórias das células bem demarcadas, células em média quadráticas (mais compridas que largas), célula apical de cume arredondado. Heterócitos terminais predominantes e as vezes com uma célula maior que as demais logo em seguida ou acineto, raramente intercalares. Coloração marrom.

Chave 1- 1; 47; 76; 92; 93- *Tolypothrix*

Chave 2- 1; 53; 54; 55; 59; 60; 62; 63; 65; 66- *Tolypothrix*

**P6101-** Filamentos heterocitados levemente afilados ao longo e raras falsas ramificações, isolados, sem bainha aparente, linhas divisórias das células bem demarcadas, células em média quadráticas (mais compridas que largas), célula apical de cume arredondado. Heterócitos terminais predominantes, raramente intercalares. Coloração marrom característica.

Chave 1- 1; 47; 76; 92; 94- *Calothrix*

Chave 2- 1; 53; 54; 55; 59; 67; 68- *Calothrix*

**P6108-** Filamentos heterocitados levemente afilados ao longo e raras falsas ramificações, isolados, sem bainha aparente, linhas divisórias das células bem demarcadas, células em média quadráticas (mais compridas que largas), célula apical de cume arredondado. Heterócitos terminais predominantes, raramente intercalares. Coloração marrom característica.

Chave 1- 1; 47; 76; 92; 94- *Calothrix*

Chave 2- 1; 53; 54; 55; 59; 67; 68- *Calothrix*

**P6109-** Filamentos heterocitados terminalmente, isolados, sem bainha aparente, curtos e não ramificados, linhas divisórias das células bem demarcadas, Células em média quadráticas, célula apical de cume arredondado. Heterócitos terminais predominantes, raramente intercalares. Coloração verde brilhante característica.

Chave 1- 1; 47; 76; 77; 80; 81; 82; 83- *Cylindrospermum*

Chave 2- 1; 53; 54; 73; 75; 84; 85- *Cylindrospermum*

Recentemente alguns gêneros estão sendo derivados de *Anabaena* e *Nostoc*, como *Cylindrospermum*, ao qual as chaves levaram essa linhagem, e *Cronbergia*, ao qual, pela morfologia característica dos tricomas e descrição do gênero, interpretamos que essa linhagem se enquadra (GENUÁRIO et al, 2018; KOMÁREK et al, 2010). Porém este, ainda não é contemplado nessas chaves.

**P6110-** Filamentos heterocitados levemente afilados ao longo e raras falsas ramificações, isolados, sem bainha aparente, linhas divisórias das células bem demarcadas, células em média quadráticas (mais compridas que largas), célula apical

de cume arredondado. Heterócitos terminais predominantes, raramente intercalares. Coloração verde amarronzada.

Chave 1- 1; 47; 76; 92; 94- *Calothrix*

Chave 2- 1; 53; 54; 55; 59; 67; 68- *Calothrix*

P6111- Filamentos heterocitados curtos, não ramificados, isolados, sem bainha aparente, linhas divisórias das células bem demarcadas, Células isodiamétricas, célula apical de cume arredondado. Coloração verde característica.

Chave 1- 1; 47; 76; 77; 80; 81; 84; 85- *Nostoc*

Chave 2- 1; 53; 54; 73; 75; 84; 85; 86; 91- *Nostoc*

P6112- Filamentos heterocitados levemente afilados ao longo e raras falsas ramificações, isolados, com bainha aparente, linhas divisórias das células bem demarcadas, células em média quadráticas (mais compridas que largas), célula apical de cume arredondado. Heterócitos terminais predominantes, raramente intercalares. Coloração marrom característica.

Chave 1- 1; 47; 76; 92; 94- *Calothrix*

Chave 2- 1; 53; 54; 55; 59; 67; 68- *Calothrix*

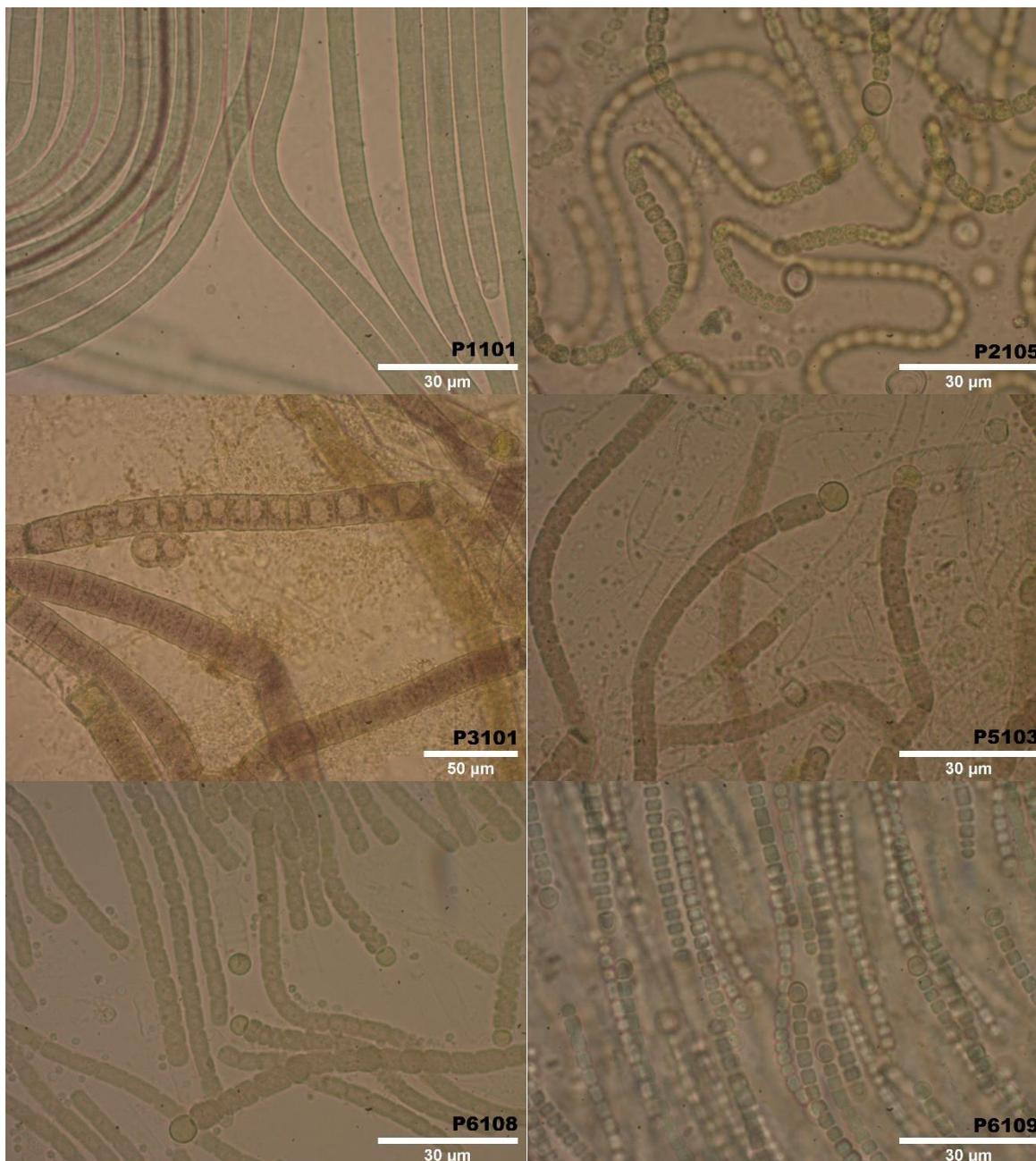


Figura 2- linhagens isoladas de *P. striatotes*. A letra P é referente a planta e a numeração à amostra da qual a linhagem foi isolada.

A tabela 1 mostra sete linhagens, isoladas tanto de *S. auriculata* quanto de *P. striatotes* identificadas com morfotipo de Nostocaceae, ou seja, filamentosas formadoras de células especializadas, tal qual heterócitos e acinetos. A seguir: S4104; P2105; P5101; P5102; P6107; P6109; P6111.

Destas linhagens, foram feitas 10 fotos em microscópio óptico, e das fotos 30 células foram medidas. As medidas na tabela são médias retiradas das trinta células vegetativas de cada linhagem, do comprimento e largura dos heterócitos e acinetos.

Tabela 1- Medidas celulares das linhagens obtidas pela média das mensurações (V= medida de Célula vegetativa)

Medidas	V Comprimento	V Largura	Heterócito	Acineto
S4104	4,62	3,3	7,37 x 5,7	-
P2105	3,88	3,99	7,17 x 6,48	7,29 x 6,69
P5101	4,2	4,57	7,47 x 6,39	-
P5102	3,53	3,45	5,2 x 5,41	6,98 x 6,68
P6107	4,49	5,84	3,19 x 4,42	6,27 x 6,33
P6109	3,08	5,69	4,43 x 4,06	-
P6111	3,34	2,84	—	4,14 x 3,38

## **6. CONCLUSÃO**

As cianobactérias são organismos fantásticos e quase onipresentes na superfície terrestre. Iniciamos aqui um trabalho de sistematizar uma fração dessa diversidade. Identificamos morfologicamente 21 linhagens com grande diversidade morfológica pertencentes a 3 ordens, 8 Famílias, 11 Gêneros que vivem epifiticamente a macrófitas aquáticas e as cultivamos montando uma coleção.

A morfologia é a primeira identificação, necessária, mas não suficiente sozinha. Esse trabalho é o primeiro para muitos. Os organismos isolados servirão a estudos posteriores e a identificação morfológica se somará a outros fatores para uma estável identificação por taxonomia polifásica dessas linhagens.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, D. G.; DUGGAN, P. S. Tansley Review No. 107. Heterocyst and akinete differentiation in cyanobacteria. **New Phytologist**, v. 144, n. 1, p. 3–33, 1999.

ALLEN, M. M.; STANIER, R. Y. Selective Isolation of Blue-green Algae from Water and Soil. **Journal of General Microbiology**, v. 51, n. 2, p. 203–209, 1968.

BERMAN-FRANK, I.; LUNDGREN, P.; FALKOWSKI, P. Nitrogen fixation and photosynthetic oxygen evolution in cyanobacteria. **Research in Microbiology**, v. 154, n. 3, p. 157–164, 2003.

DVOŘÁK, P. et al. Diversity of the Cyanobacteria. **Modern Topics in the Phototrophic Prokaryotes: Environmental and Applied Aspects**, n. April, p. 1–492, 2017.

GARRITY, G.; BOONE, DAVID R., CASTENHOLZ, R. W. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume 1.**

GENUÁRIO, D. B. **Cianobactérias em ecossistemas de manguezais: isolamento, morfologia e diversidade genética.** Dissertação de mestrado; Centro de Energia Nuclear na agricultura, Universidade de São Paulo. Piracicaba; p. 1-96; 2010.

GENUÁRIO, Diego Bonaldo; SANT'ANNA, Celia Leite; MELO, Itamar Soares. **Elucidating the Cronbergia (Cyanobacteria) dilemma with the description of Cronbergia amazonensis sp. nov. isolated from Solimões river (Amazonia, Brazil).** Algal research, v. 29, p. 233-241, 2018

JAMPEETONG, A.; BRIX, H. **Nitrogen nutrition of Salvinia natans: Effects of inorganic nitrogen form of growth, morphology, nitrate reductase activity and uptake kinetics of ammonium and nitrate.** Aquatic Botany, vol. 90, pp. 67-73, 2009.

JULIEN, M. H.; CENTER, T. D.; TIPPING, P. W. **Floating Fern (Salvinia).** em Biological control of invasive plants in the eastern United States. USDA Forest Service, Publication, v. 4, p. 17-32, 2002.

KOMÁREK, Jiří; ZAPOMELOVA, Eliska; HINDAK, Frantisek. **Cronbergia gen. nov., a new cyanobacterial genus (Cyanophyta) with a special strategy of heterocyte formation.** Cryptogamie, Algologie, v. 31, n. 3, p. 321-341, 2010.

KOMÁREK, J. et al. Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. **Preslia**, v. 86, n. 4, p. 295–335, 2014.

KOMÁREK, J.; JOHANSEN, J. R. Filamentous Cyanobacteria. In: **Freshwater Algae of North America: Ecology and Classification.** p. 135–235.

KOMÁREK, J., ZAPOMĚLOVÁ, E., ŠMARDA, J., KOPECKÝ, J., REJMÁNKOVÁ, E., WOODHOUSE, J., NEILAN, B.A. & KOMÁRKOVÁ, J. (2013): **Polyphasic evaluation**

of *Limnographis robusta*, a water-bloom forming cyanobacterium from Lake Atitlán, Guatemala, with a description of *Limnographis* gen. nov.. *Fottea* 13(1): 39–52, 2013

KREITLOW, S.; MUNDT, S.; LINDEQUIST, U. Cyanobacteria - a potential source of new biologically active substances. **Progress in Industrial Microbiology**, v. 35, n. C, p. 61–63, 1999.

LAUTERBORN, 1915. **Verh. Naturhist.-Med. Vereins Heidelberg**, ser. 2, 13: 437.  
MAZHAR, S. et al. Novel Approach for the Determination of Nitrogen Fixation in Cyanobacteria. **Journal of the Chemical Society of Pakistan**, v. 41, n. 01, p. 105–112, 2019.

MEDEIROS, J. C. C.; SILVA, J. C. F.; TEODORO, G. S.; COELHO, F.F. **Effects of shade on individual ramet growth and on clonal growth of the aquatic fern *Salvinia auriculata* (Salviniaceae)**. *American fern journal*, v. 107, n. 1, p. 21-30, 2017.

MEEKS, J. C.; CAMPBELL, E. L.; SUMMERS, M. L.; WONG, F. C. **Cellular differentiation em the cyanobacterium *Nostoc punctiforme***. *Archives of Microbiology*, v. 178, n. 6, p. 395- 403, 2002.

MEEKS, J. Symbiosis between Nitrogen-Fixing Cyanobacteria and Plants. **BioScience**, v. 48, n. 4, p. 266–276, 1998.

MIRANDA, C. V.; SCHWARTSBURD, P. B. *Salvinia* (Salviniaceae) in southern and southeastern Brazil—including new taxa, new distribution records, and new morphological characters. **Brazilian Journal of Botany**, v. 42, n. 1, p. 171-188, 2019.

MITCHELL, D., Petr, T., & Viner, A. (1980). The Water-fern *Salvinia molesta* in the Sepik River, Papua New Guinea. *Environmental Conservation*, 7(2), 115-122.

Pimenta, L. L.; Lima, G. P.; Biondi, M., Vaz, M. G. M. V.; Coelho, F. F. 2021. Epiphytic cyanobacterial strains in the roots of *Salvinia auriculata* and the effect of light and nutrientes on the production of heterocyst, akinete and hormogonia. *Aquatic Ecology*, 55

R. Y. STANIER AND G. COHEN-BAZIRE. Phototrophyc Prokaryotes: The Cyanobacteria. **Annual Reviews**, p. 50, 1977.

RIPPKA, R. Isolation and Purification of Cyanobacteria. **Methods in enzymology**, v. 167, p. 3–27, 1988.

SANT'ANNA, C.L et al. Cap.4 Cyanobacteria. em: **Gêneros de Algas de Águas Continentais no Brasil: Chave para identificação e descrição**, p. 33-41, 2020.

SANTOS, K. R. DE S.; SANT'ANNA, C. L. Cianobactérias de diferentes tipos de lagoas (“salina”, “salitrada” e “baía”) representativas do Pantanal da Nhecolândia, MS, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 33, n. 1, p. 61–83, 2010.

SMITH, A.R., Pryer, K.M., Schuettpelz, E., Korall, P., Schneider, H., Wolf, P.G. (2008) Fern classification. In *Biology and evolution of ferns and lycophytes* (TA Ranker, CH Haufler, eds.). Cambridge, Cambridge University Press, p. 417–467.

STRUNECKÝ, O., BOHUNICKÁ, M., JOHANSEN, J.R., ČAPKOVÁ, K., RAABOVÁ, L., DVOŘÁK, P. & KOMÁREK, J. (2017): **A revision of the genus *Geitlerinema* and a description of the genus *Anagnostidinema* gen. nov. (Oscillatoriophyceae, Cyanobacteria)**. *Fottea*, 17(1): 114–126

TEMRALEEVA, A. D. et al. Modern methods for isolation, purification, and cultivation of soil cyanobacteria. ***Microbiology***, v. 85, n. 4, p. 389–399, 2016.

THOMPSON, A. W.; ZEHR, J. P. Cellular interactions: Lessons from the nitrogen-fixing cyanobacteria. ***Journal of Phycology***, v. 49, n. 6, p. 1024–1035, 2013.