

RELATÓRIO TÉCNICO ITV DS

DESCRIÇÃO DE MICROBIOTA ASSOCIADA A PLANTAS DE *Isoetes cangae* TRANSLOCADAS EM COMPARAÇÃO COM AS PLANTAS PRESENTES NO HABITAT NATURAL, POR ANÁLISE DE METAGENÔMICA

RELATÓRIO PARCIAL OU FINAL DO PROJETO

José Augusto Pires Bitencourt
Gisele Lopes Nunes
Vitória Catarina Cardoso Martins
Rafael Borges da Silva Valadares
Cecílio Frois Caldeira Júnior
Éder Soares Pires
Guilherme Oliveira
Santelmo Vasconcelos

Belém / PA
Dezembro / 2020

Título: Descrição de microbiota associada a plantas de <i>Isoetes cangae</i> translocadas em comparação com as plantas presentes no habitat natural, por análise de metagenômica.	
PROD. TEC. ITV DS N063/2020	Revisão
Classificação: () Confidencial () Restrita (x) Uso Interno () Pública	00

Informações Confidenciais - Informações estratégicas para o Instituto e sua Mantenedora. Seu manuseio é restrito a usuários previamente autorizados pelo Gestor da Informação.

Informações Restritas - Informação cujo conhecimento, manuseio e controle de acesso devem estar limitados a um grupo restrito de empregados que necessitam utilizá-la para exercer suas atividades profissionais.

Informações de Uso Interno - São informações destinadas à utilização interna por empregados e prestadores de serviço

Informações Públicas - Informações que podem ser distribuídas ao público externo, o que, usualmente, é feito através dos canais corporativos apropriados

Citar como BITENCOURT, J. A. P. *et al.* Descrição de microbiota associada a plantas de *Isoetes cangae* translocadas em comparação com as plantas presentes no habitat natural, por análise de metagenômica. Belém: ITV, 2020. (Relatório Técnico – N063/2020)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

B624 Bitencourt, José Augusto Pires.

Descrição de microbiota associada a plantas de *Isoetes cangae* translocadas em comparação com as plantas presentes no habitat natural, por análise de metagenômica / José Augusto Pires Bitencourt ... [et al]. - Belém: ITV, 2020.

27 p. : il.

Relatório Técnico (Instituto Tecnológico Vale) – 2020

PROD.TEC.ITV.DS – N063/2020

DOI 10.29223/PROD.TEC.ITV.DS.2020.63.Bitencourt

1. Microbiota. 2. Colonização. 3. Metagenômica - Análise. 4. Limnologia. I. Nunes, Gisele Lopes. II. Martins, Vitória Catarina Cardoso. III. Pires, Éder Soares. IV. Oliveira, Guilherme. V. Vasconcelos, Santelmo. VI. Título

CDD 23. ed. 504.43

Bibliotecária responsável: Nisa Gonçalves / CRB 2 – 525

RESUMO EXECUTIVO

A Serra dos Carajás é uma área protegida por lei devido às suas características particulares e importância econômica. Nesta região encontramos a *Isoetes cangae*, uma planta criticamente ameaçada e presente somente no Lago do Amendoim. São desconhecidas as especificidades para sua colonização, mas estudos do microbioma podem auxiliar em processos de transposição para outros lagos semelhantes. Desta forma, analisamos o microbioma circundante de *I. cangae* durante o processo de adaptação, geração de matrizes e implantação em nova área da Serra de Carajás, incluindo em seu habitat natural, o Lago do Amendoim, procurando saber a composição da microbiota, suas modificações durante o processo e indicar possíveis microrganismos chave para auxiliar na colonização de novas áreas. Foram sequenciadas a microbiota da água, do sedimento circundante, raízes e rizosfera por meio da metodologia 16S da Illumina, sendo identificados 6768 táxons. É possível observar uma maior diversidade nas rizosferas, com população formada por uma mistura de microrganismos ligados ao sedimento e à raiz, apresentando um compartilhamento de 40% dos táxons. Embora tenha sido visto uma abundância de bactérias metanotróficas *Methylocystis* sp., de fixadoras de nitrogênio *Bradyrhizobium* sp., de bactérias não cultiváveis (relacionados às cianobactérias Nostocales) e de oxidantes de ferro *Sideroxydans* sp. durante o processo de transplante, bactérias fixadoras de nitrogênio cosmopolitas, como *Bradyrhizobium* sp. e cianobactérias tendem a ter importância mais elevada. Os integrantes microbianos associados a *I. cangae* são semelhantes quando comparados os indivíduos introduzidos, nativos, em aclimação ou matrizes, mesmo com uma flutuação significativa das populações ($p < 0,05$). Quanto à fisiologia, não foram percebidas modificações relevantes entre as áreas nativas e plantas translocadas, levando em consideração os principais serviços ambientais prestados pela microbiota como fornecimento de nitrogênio, carbono, enxofre, ferro e manganês. Adicionalmente, deve-se destacar a maior diversificação das vias metabólicas potenciais detectada nas amostras de rizosferas, principalmente a metanotrofia e a diversidade das vias de produção de nitrito e nitrato. Dessa forma, a partir das análises metagenômicas da microbiota associadas a *I. cangae*, pôde-se perceber o potencial sucesso inicial da translocação e colonização de indivíduos de *I. cangae* em outras áreas da Serra de Carajás fora do Lago do Amendoim.

RESUMO

A Serra dos Carajás é uma área protegida por lei devido às suas características particulares e importância econômica. Essa região alberga lagos com diferentes espécies endêmicas, como a *Isoetes cangae*, uma planta criticamente ameaçada e presente somente no Lago do Amendoim. São desconhecidas as especificidades para sua colonização, mas estudos do microbioma podem auxiliar em processos de transposição para outros lagos semelhantes. Desta forma, analisamos o microbioma circundante de *I. cangae* durante o processo de adaptação, geração de matrizes e implantação em nova área da Serra de Carajás, incluindo em seu habitat natural, o Lago do Amendoim, procurando saber a composição da microbiota, suas modificações durante o processo e indicar possíveis microrganismos chave para auxiliar na colonização de novas áreas. Foram sequenciadas a microbiota da água, do sedimento circundante, raízes e rizosfera por meio da metodologia 16S da Illumina. Foram identificados 6768 táxons, compreendendo 21 filós e 29 gêneros, com a maioria dos táxons sendo classificados como “uncultured” ou agrupados em filós de baixa proporção na população. É possível observar uma maior diversidade nas rizosferas, com população formada por uma mistura de microrganismos ligados ao sedimento e à raiz, apresentando um compartilhamento de 40% dos táxons. Embora tenha sido visto uma abundância de bactérias metanotróficas *Methylocystis* sp., de fixadoras de nitrogênio *Bradyrhizobium* sp., de bactérias não cultiváveis (relacionados às cianobactérias Nostocales) e de oxidantes de ferro *Sideroxydans* sp. durante o processo de transplante, bactérias fixadoras de nitrogênio cosmopolitas, como *Bradyrhizobium* sp. e cianobactérias tendem a ter importância mais elevada. Os integrantes microbianos associados a *I. cangae* são semelhantes quando comparados os indivíduos introduzidos, nativos, em aclimação ou matrizes, mesmo com uma flutuação significativa das populações ($p < 0,05$). Quanto à fisiologia, não foram percebidas modificações relevantes entre as áreas nativas e plantas translocadas, levando em consideração os principais serviços ambientais prestados pela microbiota associada ao sedimento, rizosfera e raiz, como ciclo do nitrogênio, carbono, enxofre, ferro e manganês. Adicionalmente, deve-se destacar a maior diversificação das vias metabólicas potenciais detectada nas amostras de rizosferas, principalmente a metanotrofia e a diversidade das vias de produção de nitrito e nitrato. Dessa forma, a partir das análises metagenômicas da microbiota associadas a *I. cangae*, pôde-se perceber o potencial sucesso inicial da translocação e colonização de indivíduos de *I. cangae* em outras áreas da Serra de Carajás fora do Lago do Amendoim.

Palavras-chave: Aclimação. RNAr 16S. Limnologia. Microbioma. Translocação.

ABSTRACT

Serra dos Carajás is an area protected by law due to its particular characteristics and economic importance. This region is home to lakes with different endemic species, such as *Isoetes cangae*, a critically endangered plant present only in Amendoim lake. The environmental specificities for its colonization are unknown, but studies of the microbiome can help in their transposition processes to other similar lakes. Thus, we analyzed the surrounding microbiome of *I. cangae* during the process of their acclimation, generation of new matrices, and introduction in a new area of Serra de Carajás, including in its natural habitat, Lago do Amendoim, seeking to know the composition of their microbiota, its modifications during the process and indicate possible key microorganisms to help colonize new areas. The microbiota of water, surrounding sediment, roots, and rhizosphere were sequenced using Illumina's 16S methodology. A total of 6768 taxa were identified, comprising 21 phyla and 29 genera, with most taxa being classified as "uncultured" or grouped into phyla of low proportion in the population. It is possible to observe a greater diversity in the rhizospheres, with a population formed by a mixture of microorganisms linked to sediment and root, sharing 40% of the taxa. Although an abundance of methanotrophic bacteria *Methylocystis* sp., nitrogen-fixing *Bradyrhizobium* sp., non-cultivable bacteria (related to Nostocales cyanobacteria), and iron oxidant *Sideroxydans* sp. during the transplant process, cosmopolitan nitrogen-fixing bacteria such as *Bradyrhizobium* sp. and cyanobacteria tend to be of higher importance. The microbial integrants associated with *I. cangae* are similar to introduced, native, acclimation, or matrix plants, even with a significant population fluctuation ($p < 0.05$). As for physiology, no relevant changes were noticed between native areas and relocated plants, considering the primary environmental services provided by the microbiota associated with sediment, rhizosphere, and roots, such as nitrogen, carbon, sulfur, iron, and manganese cycles. Additionally, the greater diversification of potential metabolic pathways detected in rhizosphere samples should be highlighted, mainly methanotrophy and nitrite and nitrate production pathways. Thus, from the metagenomic analyzes of the microbiota associated with *I. cangae*, it was possible to observe the potential initial success of relocation and colonization of *I. cangae* to another area of Serra de Carajás, outside Amendoim lake.

Key-words: Acclimation. RNAr 16S. Limnology. Microbiome. Relocation.