



GABRIELA COSTA RODRIGUES

**PLASTICIDADE MORFOLÓGICA DE *Cronbergia amazonensis*
(NOSTOCALES): RESPOSTAS À ADIÇÃO DE CARBONO E
INTERAÇÃO COM MACRÓFITAS E *Desmonostoc* sp.
(NOSTOCALES)**

**LAVRAS – MG
2025**

GABRIELA COSTA RODRIGUES

**PLASTICIDADE MORFOLÓGICA DE *Cronbergia amazonensis* (NOSTOCALES):
RESPOSTAS À ADIÇÃO DE CARBONO E INTERAÇÃO COM MACRÓFITAS E
Desmonostoc sp. (NOSTOCALES)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, área de concentração em Botânica Aplicada, para obtenção do título de Doutor

Prof^ª. Dr^ª. Flávia de Freitas Coelho
Orientadora

**LAVRAS – MG
2025**

**Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração
de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com
dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Rodrigues, Gabriela Costa.

Plasticidade morfológica de *Cronbergia amazonensis* (Nostocales) : respostas à
adição e carbono e interação com macrófitas e *Desmonostoc* sp. (Nostocales) /
Gabriela Costa Rodrigues. - 2025.

58 p. : il.

Orientadora: Flávia de Freitas Coelho

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras,
2025. Bibliografia.

1. Cianobactérias filamentosas. 2. Heterócitos. 3. Razão C-N. 4.
Interações ecológicas. 5. Fixação biológica de nitrogênio. I. Coelho,
Flávia de Freitas. II. Universidade Federal de Lavras. III. Título.


GABRIELA COSTA RODRIGUES

PLASTICIDADE MORFOLÓGICA DE *Cronbergia amazonensis* (NOSTOCALES):
RESPOSTAS À ADIÇÃO DE CARBONO E INTERAÇÃO COM MACRÓFITAS E
Desmonostoc sp. (NOSTOCALES)

MORPHOLOGICAL PLASTICITY OF *Cronbergia amazonensis* (NOSTOCALES):
RESPONSES TO CARBON ADDITION AND INTERACTION WITH MACROPHYTES
AND *Desmonostoc* sp. (NOSTOCALES)

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, área de concentração em Botânica Aplicada, para obtenção do título de Doutor

APROVADA em 28 de março de 2025.
Dr^a. Grazielle Sales Teodoro - UFPA
Dr^a. Grécia de Andrade Souza - UFLA
Dr^a. Marinês Ferreira Pires Lira - UFLA
Dr. Michel Biondi - UFLA

Documento assinado digitalmente
 FLAVIA DE FREITAS COELHO
Data: 05/06/2025 09:31:21-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Flávia de Freitas Coelho
Orientadora

LAVRAS – MG
2025

AGRADECIMENTOS

Ao Maxwell, que foi fundamental em toda a minha trajetória acadêmica. Agradeço por todos esses anos, pelo companheirismo e sonhos compartilhados.

Aos meus pais, Maria Aparecida e Silvio, pelo apoio e incentivo aos estudos.

Às minhas irmãs, Ana Clara e Leila, pelo apoio e amizade ao longo dos anos.

À minha orientadora, Dra. Flávia de Freitas Coelho, pela oportunidade, pela generosidade, pelos ensinamentos, pela paciência e por compartilhar seu tempo e sabedoria durante o doutorado.

Ao Dr. Marcelo Gomes Marçal Vieira Vaz, pelas contribuições com o presente trabalho.

Ao pessoal do Laboratório de Ecologia de Macrófitas Aquáticas e Cianobiontes (LEMAC) e do Laboratório de Anatomia Vegetal do Instituto de Ciências Naturais da Universidade Federal de Lavras (UFLA), pela parceria ao longo do doutorado.

Aos membros da banca, por aceitarem o convite para enriquecer o presente trabalho.

Ao corpo docente do Programa de Pós-graduação em Botânica Aplicada, pelas grandes contribuições com a minha formação.

Ao Programa de Pós-graduação em Botânica Aplicada, pela oportunidade e pela estrutura.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo financiamento do projeto de pesquisa associado ao presente trabalho (Processo FAPEMIG – APQ01347-22).

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade e pela estrutura.

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

RESUMO GERAL

As cianobactérias foram os primeiros organismos a realizarem a fotossíntese oxigênica e, por isso, contribuíram para o grande evento de oxigenação da atmosfera. Elas possuem grande plasticidade morfológica e ecológica, sendo encontradas em todo o planeta. Dentre as cianobactérias, destacamos as filamentosas heterocitadas, com a capacidade de diferenciar células especializadas que aumentam sua plasticidade adaptativa, como acinetos (células que atuam como esporo de resistência) e heterócitos. Os heterócitos são células capazes de realizar a fixação biológica de nitrogênio (FBN) em situações de pouca disponibilidade de nitrogênio no ambiente ou de desequilíbrio da razão carbono-nitrogênio (C-N). Cianobactérias filamentosas heterocitadas podem estabelecer relações com macrófitas, como as cianobactérias epifíticas, que se aderem às raízes dessas plantas e fornecem nitrogênio fixado formando, junto a outras cianobactérias e microalgas, parte do perifíton. O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da adição de carbono ao meio, e da interação com diferentes espécies de macrófitas (*Pistia stratiotes* e *Salvinia auriculata*), além da presença no meio de outra cianobactéria filamentosa heterocitada, *Desmonostoc* sp., na plasticidade morfológica de *Cronbergia amazonensis*. A adição de carbono em duas concentrações (1% de glicose e 3% de glicose) não aumentou o número de heterócitos produzidos em relação ao controle, causou o desprendimento dos heterócitos (não-funcionais) e diminuiu o número de heterócitos aderidos ao filamento, além de ter sido observado a produção de acinetos, indicativo de que *C. amazonensis* foi submetida a estresse. No entanto, embora as cianobactérias no tratamento com 3% de glicose tenham morrido após 10 dias, no tratamento com 1% de glicose, *C. amazonensis* voltou a crescer cerca de 45 dias após o fim do experimento, produzindo novos filamentos e evidenciando sua plasticidade adaptativa. Em consórcio com *Desmonostoc* sp., inoculada no meio contendo rametes de *S. auriculata*, *C. amazonensis* apresentou filamentos menores. Já no consórcio entre *Desmonostoc* sp. e *C. amazonensis* inoculados em meio com *P. stratiotes*, tanto o número de heterócitos quanto a razão entre heterócitos e células vegetativas aumentaram. Além disso, *C. amazonensis* apresentou heterócitos maiores em interação com *P. stratiotes*, independentemente da presença ou não de outra cianobactéria. *C. amazonensis* apresentou plasticidade morfológica tanto com a adição de carbono no meio quanto na interação com diferentes macrófitas e com outra cianobactéria, demonstrando a sua capacidade adaptativa frente às diferentes mudanças ambientais.

Palavras-chave: cianobactérias filamentosas; heterócitos; razão C-N; interações ecológicas; fixação biológica de nitrogênio; macrófita.

GENERAL ABSTRACT

Cyanobacteria were the first organisms to perform oxygenic photosynthesis and, therefore, contributed to the great event of atmospheric oxygenation. They have great morphological and ecological plasticity and are found everywhere on the planet. Among the cyanobacteria, we highlight the heterocytous filamentous ones, with the ability to differentiate specialized cells that increase their adaptive plasticity, such as akinetes (cells that act as resistance spores) and heterocysts. Heterocysts are cells capable of performing biological nitrogen fixation (BNF) in situations of low nitrogen availability in the environment or imbalance in the carbon-nitrogen (C-N) ratio. Heterocytous filamentous cyanobacteria can establish relationships with macrophytes, such as epiphytic cyanobacteria, which adhere to the roots of these plants and provide fixed nitrogen, forming, together with other cyanobacteria and microalgae, part of the periphyton. The present study aimed to evaluate the effects of carbon addition to the medium and the interaction with different species of macrophytes (*Pistia stratiotes* and *Salvinia auriculata*), in addition to the presence of another heterocytous filamentous cyanobacteria, *Desmonostoc* sp., on the morphological plasticity of *Cronbergia amazonensis*. The addition of carbon in two concentrations (1% glucose and 3% glucose) did not increase the number of heterocysts produced in relation to the control, caused the detachment of heterocysts (non-functional) and decreased the number of heterocysts adhered to the filament, in addition to the production of akinetes, indicating that *C. amazonensis* was subjected to stress. However, although the cyanobacteria in the treatment with 3% glucose died after 10 days, in the treatment with 1% glucose, *C. amazonensis* grew again approximately 45 days after the end of the experiment, producing new filaments and evidencing its adaptive plasticity. In consortium with *Desmonostoc* sp., inoculated in the medium containing ramets of *S. auriculata*, *C. amazonensis* presented smaller filaments. In the consortium between *Desmonostoc* sp. and *C. amazonensis* inoculated in medium with *P. stratiotes*, both the number of heterocysts and the ratio between heterocysts and vegetative cells increased. In addition, *C. amazonensis* presented larger heterocysts in interaction with *P. stratiotes*, regardless of the presence or absence of another cyanobacteria. *C. amazonensis* presented morphological plasticity both with the addition of carbon in the medium and in the interaction with different macrophytes and with another cyanobacteria, demonstrating its adaptive capacity in the face of different environmental changes.

Keywords: filamentous cyanobacteria; heterocysts; C-N ratio; ecological interactions; biological nitrogen fixation; macrophyte.

INDICADORES DE IMPACTOS

Os resultados desse estudo indicam que a cianobactéria *Cronbergia amazonensis* apresenta plasticidade morfológica que pode ser moldada pela interação entre espécies ou por mudanças no meio, como a concentração de carbono e alinha-se ao objetivo 15 (Vida Terrestre) dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável da ONU(ODS). Além disso, com as mudanças climáticas, o aumento das concentrações de carbono nos corpos d'água pode afetar a comunidade aquática, nesse sentido, o trabalho contribui para entender as possíveis respostas que cianobactérias podem exibir diante desse aumento e se relaciona com o ODS 13 (Ação Contra a Mudança Global do Clima). A pesquisa evidencia a notável resiliência e adaptabilidade de *C. amazonensis*, o que pode inspirar o desenvolvimento de biotecnologias aplicadas, como biofertilizantes e sistemas de tratamento de águas residuais. Tais aplicações têm potencial para melhorar a eficiência agrícola e a qualidade da água, alinhando-se ao ODS 6 (Água Potável e Saneamento) e ao ODS 2 (Fome Zero e Agricultura Sustentável). Em adição, ao tentar compreender a dinâmica de interação entre cianobactérias e macrófitas aquáticas, que possuem potencial invasivo, os resultados podem contribuir para o manejo de ecossistemas aquáticos e na recuperação de áreas impactadas e alinha-se ao ODS 14 (Vida na Água).

IMPACT INDICATORS

The results of this study indicate that the cyanobacterium *Cronbergia amazonensis* presents morphological plasticity that can be shaped by interactions between species or by changes in the environment, such as carbon concentration, and is in line with goal 15 (Life on Land) of the United Nations Sustainable Development Goals (SDGs). In addition, with climate change, the increase in carbon concentrations in water bodies can affect the aquatic community. In this sense, the work contributes to understanding the possible responses that cyanobacteria can exhibit in the face of this increase and is related to SDG 13 (Climate Action). The research highlights the remarkable resilience and adaptability of *C. amazonensis*, which can inspire the development of applied biotechnologies, such as biofertilizers and wastewater treatment systems. Such applications have the potential to improve agricultural efficiency and water quality, in line with SDG 6 (Clean Water and Sanitation) and SDG 2 (Zero Hunger and Sustainable Agriculture). In addition, by trying to understand the dynamics of interaction between cyanobacteria and aquatic macrophytes, which have invasive potential, the results can contribute to the management of aquatic ecosystems and the recovery of impacted areas and align with SDG 14 (Life Below Water).

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	10
1 INTRODUÇÃO GERAL	11
REFERÊNCIAS	14
SEGUNDA PARTE - ARTIGOS	18
ARTIGO 1 Efeito da adição de carbono na produção de heterócitos de <i>Cronbergia amazonensis</i> (Nostocales).....	19
1 INTRODUÇÃO	22
2 MATERIAIS E MÉTODOS	23
2.1 Linhagem <i>Cronbergia amazonensis</i> UFLA01	23
2.2 Preparo do inóculo.....	24
2.3 Delineamento experimental	24
2.4 Coleta de dados	25
2.5 Análises de dados	26
3 RESULTADOS	27
4 DISCUSSÃO	32
REFERÊNCIAS	35
ARTIGO 2 Efeitos da interação com diferentes espécies de macrófitas e com <i>Desmonosctoc</i> sp. (Nostocales) na plasticidade morfológica de <i>Cronbergia amazonensis</i> (Nostocales).....	38
1 INTRODUÇÃO	41
2 MATERIAIS E MÉTODOS	43
2.1 Linhagens de cianobactérias heterocitadas	43
2.2 Obtenção do inóculo	43
2.3 Experimento em casa de vegetação.....	44
2.4 Coleta de dados	46
2.5 Análises estatísticas.....	46
3 RESULTADOS	47
4 DISCUSSÃO	50
REFERÊNCIAS	54
TERCEIRA PARTE	57
1 CONSIDERAÇÕES FINAIS	58

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO GERAL

A plasticidade fenotípica é um mecanismo adaptativo em que um genótipo, em interação com o ambiente, é capaz de produzir diferentes fenótipos (Sultan, 2000; Ganie *et al.*, 2015). A variação nos fenótipos pode ocorrer em relação às diferentes formas e estruturas que os indivíduos apresentam de acordo com o ambiente em que se encontram, o que caracteriza uma plasticidade morfológica (Justice *et al.*, 2008; Ganie *et al.*, 2015). O filo Cyanobacteria é um bom exemplo de como as variações ambientais podem atuar sobre a plasticidade morfológica de um grupo (Soares; Lürling; Huszar, 2012; Xiao; Willis; Burford, 2017).

As cianobactérias são organismos procariontes que surgiram há cerca de 3,5 bilhões de anos, sendo considerados os primeiros organismos a realizar a fotossíntese oxigênica (Schopf; Packer, 1987). Em um planeta que até então os processos metabólicos eram anaeróbicos, há 2,4 bilhões de anos aproximadamente, devido à liberação de oxigênio através da fotossíntese, as cianobactérias foram responsáveis pelo Grande Evento da Oxigenação da atmosfera (GOE). O GOE mudou drasticamente a vida na Terra, possibilitando ao modo de vida aeróbico se desenvolver (Fisher; Hemp; Valentine, 2016).

As cianobactérias possuem uma morfologia diversificada, com cianobactérias unicelulares, coloniais e filamentosas (Komárek *et al.*, 2014). Elas podem ser classificadas como parte do domínio Eubactéria, pertencentes ao filo Cyanobacteria e das classes Cyanophyceae e Vampirovibriophyceae (Guiry, 2024). Na classe Cyanophyceae, podemos encontrar cerca de 20 ordens, a qual se destaca a ordem Nostocales, que contém famílias com cianobactérias filamentosas heterocitadas (Strunecký; Ivanova; Mares, 2023).

As cianobactérias filamentosas heterocitadas são caracterizadas por apresentarem células especializadas, heterócitos e acinetos, que auxiliam na adaptação aos mais variados ambientes (Strunecký; Ivanova; Mares, 2023). Os heterócitos são células capazes de realizar a fixação biológica de nitrogênio (FBN) devido a presença da enzima nitrogenase, que é sensível ao oxigênio. Em razão disso, os heterócitos possuem uma dupla membrana, para tornar o ambiente intracelular livre de oxigênio e permitir a constante atividade da nitrogenase (Bustos-Díaz; Barona-Gómez; Cibrián-Jaramillo, 2019).

A produção de heterócitos é desencadeada pela diminuição de nitrogênio no ambiente ou pelo desbalanço da razão carbono-nitrogênio (C-N) devido ao excesso de carbono (Zhang *et al.* 2018; Fávoro; Nascimento; Coelho, 2021). O excesso de carbono na forma inorgânica, como o CO₂, ou orgânica, como diferentes açúcares, pode desencadear a formação de

heterócitos (Tyagi; Ahluwalia, 1978; Banerjee; Kumar, 1988; Lindo; Griffith, 2017; Biondi, 2025). Os heterócitos, para se manterem funcionais, devem ficar aderidos ao filamento, uma vez que são dependentes das células vegetativas. As células vegetativas fornecem fotoassimilados aos heterócitos, que, em contrapartida, fornecem nitrogênio fixado para as células vegetativas. Além disso, ocorrem intercâmbios de outras moléculas, como sinalizadores, entre os dois tipos celulares (Meeks; Elhai, 2002; Herrero; Stavans; Flores, 2016).

Já os acinetos são células que atuam como esporos de resistência. A produção de acinetos pode ser desencadeada quando o ambiente se encontra desfavorável para as cianobactérias. Mudanças na temperatura (Sukenik; Rucker; Maldener, 2019), baixa luminosidade (Sukenik; Rucker; Maldener, 2019; Pimenta *et al.*, 2025), ou mudança na disponibilidade de nutrientes, como baixas concentrações de fósforo (Sukenik; Rucker; Maldener, 2019; Souza, 2024) podem desencadear a formação de acinetos. Os acinetos são formados a partir da diferenciação de células vegetativas e são maiores que os outros tipos celulares. Durante a sua formação, os acinetos podem acumular reservas e ácidos nucleicos (Sukenik; Rucker; Maldener, 2019). O acúmulo de material intracelular pode auxiliar os acinetos a passarem pelo período de dormência e germinar quando o ambiente se tornar favorável novamente. Por causa dessas e outras características adaptativas, as cianobactérias podem ocupar os mais variados ambientes (Gaysina; Saraf; Singh, 2019).

As cianobactérias já foram encontradas em ambientes extremos, como regiões polares, na Antártica e no Ártico (Makhalanyane *et al.*, 2015; Pushkareva *et al.*, 2024), em regiões áridas, como deserto do Saara (Mehda *et al.*, 2021), além de fontes termais (Kaštovský *et al.*, 2023). Elas também podem estabelecer relações com diversos organismos, como algas e fungos (Rikkinen, 2013; Fávoro; Nascimento; Coelho, 2021), animais (Erwin; Thacker, 2008) e plantas. No grupo de plantas, existem registros de relações simbióticas com briófitas (Deane-Coe; Sparks, 2016), samambaias, como o gênero *Azolla* Lam. (Salviniaceae) (Bhuvaneshwari; Singh, 2015; Kumar *et al.*, 2019), gimnospermas, como a ordem Cycadales (Chang *et al.*, 2019) e angiospermas, como o gênero *Gunnera* L. (Gunneraceae) (Chiu *et al.*, 2005). Estas relações são estabelecidas principalmente pela capacidade das cianobactérias fixarem nitrogênio, que fica disponível para as plantas.

Destacamos a relação entre cianobactérias e macrófitas, que englobam plantas aquáticas de diferentes grupos. As relações entre macrófitas e cianobactérias podem ser endofíticas, em que as cianobactérias colonizam o interior de tecidos das plantas (Papaefthimiou *et al.*, 2008; Kumar *et al.*, 2019), ou epifíticas, que as cianobactérias

colonizam a superfície de tecidos, como as raízes (Fonseca; Rodrigues, 2005; Pimenta *et al.*, 2021 e Pimenta *et al.*, 2025). Macrófitas e cianobactérias podem estabelecer relações simbióticas, como o gênero *Azolla* (Bhuvaneshwari; Singh, 2015; Kumar *et al.*, 2019), nas quais a cianobactéria fornece nitrogênio fixado e a macrófita fornece abrigo, ou de competição, em que macrófitas e cianobactérias competem por recursos, como luz, nutrientes e espaço (Švanys; Paškauskas; Hilt, 2014; Gao *et al.*, 2015; Wijewardene *et al.*, 2022). Além disso, diversas cianobactérias podem ser encontradas estabelecendo relações epifíticas em uma mesma espécie de macrófita (Pimenta *et al.*, 2021), o que pode gerar competição por espaço e nutrientes entre cianobactérias. Desse modo, mudanças ambientais, como o aumento do carbono dissolvido na água em razão das mudanças climáticas (Li *et al.*, 2016; Yan *et al.*, 2017; Mcdonough *et al.*, 2020) ou alterações nas interações ecológicas, entre outros fatores, podem desencadear respostas adaptativas em cianobactérias, como a variação em sua morfologia.

Os próximos capítulos da presente tese abordam a plasticidade morfológica de uma cianobactéria filamentosa heterocitada, a *Cronbergia amazonensis* (Nostocales). A espécie foi recém descrita e possui apenas dois registros até o momento, um no Rio Solimões, Amazonas, norte do Brasil (Genuário; Sant'Anna; Melo, 2018) e outro em uma usina hidrelétrica entre os municípios de Lavras e Perdões, no sul de Minas Gerais, sudeste do Brasil (Pimenta *et al.*, 2025). *Cronbergia amazonensis* já exibiu plasticidade ecológica, apresentando hábitos planctônicos e epifíticos e plasticidade morfológica, ao produzir heterócitos e acinetos (Genuário; Sant'Anna; Melo, 2018; Pimenta *et al.*, 2021). Apesar de sua relevância ecológica, as respostas ao balanço C:N, interações com macrófitas e competição com outras cianobactérias permanecem pouco compreendidos em *C. amazonensis*. Desse modo, a presente tese teve como objetivos: 1 - Avaliar o efeito da adição de diferentes concentrações de carbono na produção de heterócitos por *C. amazonensis* e 2 - Avaliar o efeito da interação com espécies de macrófitas e com a cianobactéria *Desmonostoc* sp. UFLA 12 na morfologia de *C. amazonensis*.

REFERÊNCIAS

- BANERJEE, M.; KUMAR, H. D. Effect of Carbon Sources on Growth and Nitrogen Fixation of *Aulosira fertilissima* Ghose. **Biochemie und Physiologie der Pflanzen**, v. 183, p. 51-58, 1988. [https://doi.org/10.1016/S0015-3796\(88\)80069-6](https://doi.org/10.1016/S0015-3796(88)80069-6)
- BIONDI, M.; PIMENTA, L. L.; RODRIGUES, G. C.; LIMA, G. P.; VAZ, M. G. M. V.; COELHO, F. D. F. Vegetative and Reproductive Allocation in an Aquatic Macrophyte: The Effects of Light, Nutrients, and Epiphytic Heterocytous Cyanobacteria. **Limnological Review**, v. 25, p. 1-11, 2025. <https://doi.org/10.3390/limnolrev25020022>
- BHUVANESHWARI, K.; SINGH, P. K. Response of nitrogen-fixing water fern *Azolla* biofertilization to rice crop. **3 Biotech**, v. 5, p. 523-529, 2015. <https://doi.org/10.1007/s13205-014-0251-8>
- BUSTOS-DÍAZ, E. D.; BARONA-GÓMEZ, F.; CIBRIÁN-JARAMILLO, A. Cyanobacteria in nitrogen-fixing symbioses. In: MISHRA, A. K.; TIWARI, D. N.; RAI, A. N. (Eds). **Cyanobacteria: From Basic Science to Applications**. London, UK: Academic Press, p. 29-42, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814667-5.00002-7>
- CHANG, A. C. G. *et al.* Perspectives on endosymbiosis in coralloid roots: association of cycads and cyanobacteria. **Frontiers in Microbiology**, v.10, 2019. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01888>
- CHIU, W. *et al.* Nitrogen deprivation stimulates symbiotic gland development in *Gunnera manicata*. **Plant Physiology**, v. 139, p. 224-230, 2005. <https://doi.org/10.1104/pp.105.064931>
- DEANE-COE, K. K.; SPARKS, J. P. Cyanobacteria associations in temperate forest bryophytes revealed by $\delta^{15}\text{N}$ analysis. **The Journal of the Torrey Botanical Society**, v. 143, p. 50-57, 2016. <https://doi.org/10.3159/torrey-d-15-00013>
- ERWIN, P. M.; THACKER, R. Phototrophic nutrition and symbiont diversity of two caribbean sponge–cyanobacteria symbioses. **Marine Ecology Progress Series**, v. 362, p. 139-147, 2008. <https://doi.org/10.3354/meps07464>
- FÁVARO, A.; NASCIMENTO, A. G.; COELHO, F. F. Urban environmental influences on heterocyst investment in *Leptogium cyanecens* (Collemataceae). **Nova Hedwigia**, v. 113, n. 1-2, p. 259-277, 2021. https://doi.org/10.1127/nova_hedwigia/2021/0644
- FONSECA, I. A.; RODRIGUES, L. Cianobactérias perifíticas em dois ambientes lênticos da planície de inundação do alto rio Paraná, PR, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n. 4, p. 821-834, 2005. <https://doi.org/10.1590/s0100-84042005000400016>
- FISCHER, W. W.; HEMP, J.; VALENTINE, J. S. How did life survive earth's great oxygenation?. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 31, p. 166-178, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2016.03.013>

- GANIE, A. H. *et al.* Phenotypic plasticity: cause of the successful spread of the genus *Potamogeton* in the Kashmir Himalaya. **Aquatic Botany**, v. 120, p. 283-289, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2014.09.007>
- GAO, H. *et al.* The possible allelopathic effect of *Hydrilla verticillata* on phytoplankton in nutrient-rich water. **Environmental Earth Sciences**, v. 73, p. 5141-5151, 2015. <https://doi.org/10.1007/s12665-015-4316-8>
- GAYSINA, L.A.; SARAF, A.; SINGH P. Cyanobacteria in diverse habitats. In: MISHRA, A. K.; TIWARI, D. N.; RAI, A. N. (Eds). **Cyanobacteria: From Basic Science to Applications**. Academic Press, p. 1-28, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814667-5.00001-5>
- GENUÁRIO, D. B.; SANT'ANNA, C. L.; MELO, I. S. 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. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.11.034>
- GUIRY, M. D. How many species of algae are there? a reprise. four kingdoms, 14 phyla, 63 classes and still growing. **Journal of Phycology**, v. 60, n.2, p. 214-228, 2024. <https://doi.org/10.1111/jpy.13431>
- HERRERO, A.; STAVANS, J.; FLORES, E. The multicellular nature of filamentous heterocyst-forming cyanobacteria. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 40, p. 831-854, 2016. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw029>
- JUSTICE, S. *et al.* Morphological plasticity as a bacterial survival strategy. **Nature Reviews Microbiology**, v. 6, p.162–168, 2008. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1820>
- KAŠTOVSKÝ, J. *et al.* Hot is rich—An enormous diversity of simple trichal cyanobacteria from Yellowstone hot springs. **Diversity**, v. 15, n. 9, 975, p. 1-29, 2023. <https://doi.org/10.3390/d15090975>
- KOMÁREK, J. *et al.* Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. **Preslia**, v.86, p. 295-335, 2014.
- KUMAR, U. *et al.* Cyanobiont diversity in six *Azolla* spp. and relation to *Azolla*-nutrient profiling. **Planta**, v. 249, p. 1435-1447, 2019. <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03093-7>
- LINDO, Z.; GRIFFITH, D. A. Elevated atmospheric CO₂ and warming stimulates growth and nitrogen fixation in a common forest floor cyanobacterium under axenic conditions. **Forests**, v. 8, n. 3, 73, 2017. <https://doi.org/10.3390/f8030073>
- LI, W. *et al.* Response of microalgae to elevated CO₂ and temperature: impact of climate change on freshwater ecosystems. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 19847–19860, 2016. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7180-5>.
- MAKHALANYANE, T.P. *et al.* Ecology and biogeochemistry of cyanobacteria in soils, permafrost, aquatic and cryptic polar habitats. **Biodivers Conserv**, v. 24, p. 819-840, 2015. <https://doi.org/10.1007/s10531-015-0902-z>

- MEEKS, J. C.; ELHAI, J. Regulation of cellular differentiation in filamentous cyanobacteria in free-living and plant-associated symbiotic growth states. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 66, p. 94-121, 2002. <https://doi.org/10.1128/mnbr.66.1.94-121.2002>
- MEHDA, S. *et al.* Microenvironmental conditions drive the differential cyanobacterial community composition of biocrusts from the Sahara desert. **Microorganisms**, v. 9, n. 3, 487, p. 1-27, 2021. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030487>
- MCDONOUGH, L.K. *et al.* Changes in global groundwater organic carbon driven by climate change and urbanization. **Nature Communications**, v. 11, p. 1-10, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14946-1>
- PAPAEFTHIMIOU, D. *et al.* Diversity and host specificity of *Azolla* cyanobionts. **Journal of Phycology**, v. 44, p. 60-70, 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2007.00448.x>
- PIMENTA, L. L. *et al.* Epiphytic cyanobacterial strains in the roots of *Salvinia auriculata* and the effect of light and nutrients on the production of heterocyte, akinete and hormogonia. **Aquatic Ecology**, v. 56, p. 543-553, 2021. <https://doi.org/10.1007/s10452-021-09922-w>
- PIMENTA, L. L. *et al.* First report of *Cronbergia amazonensis* (nostocales, cyanobacteriota), epiphytic on the roots of *Pistia stratiotes*. **Algal Research**, v. 85, 103883, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2024.103883>
- PUSHKAREVA, E. *et al.* Microbial community composition of terrestrial habitats in east antarctica with a focus on microphototrophs. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1-10, 2024. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1323148>
- RIKKINEN, J. Molecular studies on cyanobacterial diversity in lichen symbioses. **MycoKeys**, v. 6, p. 3-32, 2013. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.6.3869>
- SCHOPF, J. W.; PACKER, B. Early archean (3.3-billion to 3.5-billion-year-old) microfossils from warrawoona group, australia. **Science**, v. 237(4810), p. 70-73, 1987. <https://doi.org/10.1126/science.11539686>
- SOARES, M. C. S.; LÜRLING, M.; HUSZAR, V. L. M. Growth and temperature-related phenotypic plasticity in the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. **Phycological Research**, v. 61, p. 61-67, 2012. <https://doi.org/10.1111/pre.12001>
- SOUZA, Grécia de Andrade. **Efeito do fósforo na diferenciação celular da cianobactéria filamentosa Cronbergia e o efeito de sua inoculação no crescimento de Pistia stratiotes, comparado à inoculação de Desmonostoc**. 2024. Tese (Doutorado em Botânica Aplicada) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2024.
- STRUNECKÝ, O.; IVANOVA, A. P.; MARES, J. An updated classification of cyanobacterial orders and families based on phylogenomic and polyphasic analysis (review). **Journal of Phycology**, v. 59, p. 12-51, 2023. <https://doi.org/10.1111/jpy.13304>
- SUKENIK, A.; RÜCKER, J.; MALDENER, I. Dormant cells (akinetes) of filamentous cyanobacteria demonstrate a great variability in morphology, physiology, and ecological function. In: MISHRA, A. K.; TIWARI, D. N.; RAI, A. N. (ed). **Cyanobacteria: From Basic**

Science to Applications. Academic Press, p. 65-77, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814667-5.00004-0>

SULTAN, S.E. Phenotypic plasticity for plant development, function and lifehistory. **Trends in Plant Science**, v. 5, p. 537–542, 2000. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01797-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01797-0)

ŠVANYS, A.; PAŠKAUSKAS, R.; HILT, S. Effects of the allelopathically active macrophyte *Myriophyllum spicatum* on a natural phytoplankton community: a mesocosm study. **Hydrobiologia**, v. 737, p. 57-66, 2014. <https://doi.org/10.1007/s10750-013-1782-4>

TYAGI, V. V. S.; AHLUWALIA, A. S. Heterocyst formation in the blue-green alga *Anabaena doliolum*: A study of some aspects of photoregulation. **Annals of Botany**, v. 42, 1333-1342, 1978. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a085579>

WIJEWARDENE, L. *et al.* Epiphytic biofilms in freshwater and interactions with macrophytes: current understanding and future directions. **Aquatic Botany**, v. 176, 103467, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2021.103467>

XIAO, M.; WILLIS, A.; BURFORD, M. A. Differences in cyanobacterial strain responses to light and temperature reflect species plasticity. **Harmful Algae**, v. 62, p. 84-93, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2016.12.008>

YAN, X. *et al.* Climate warming and cyanobacteria blooms: Looks at their relationships from a new perspective. **Water Research**, v. 125, p. 449-457, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.09.008>

ZHANG, C. *et al.* Carbon/nitrogen metabolic balance: lessons from cyanobacteria. **Trends in Plant Science**, v. 23, n. 12, p. 1116-1130, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.09.008>

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

ARTIGO 1 Efeito da adição de carbono na produção de heterócitos de *Cronbergia amazonensis* (Nostocales)

Artigo elaborado de acordo com a NBR 6022 (ABNT, 2018).

RESUMO

As cianobactérias filamentosas heterocitadas possuem a capacidade de produzir células especializadas, como acinetos e heterócitos. Os acinetos atuam como células de resistência, permitindo que as cianobactérias sobrevivam em condições ambientais desfavoráveis. Já os heterócitos, são responsáveis pela fixação biológica de nitrogênio (FBN), graças à presença da enzima nitrogenase. A formação de heterócitos pode ser desencadeada pela falta de nitrogênio no meio ou pelo desbalanço na razão carbono-nitrogênio. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da adição de diferentes concentrações de carbono na produção de heterócitos em *Cronbergia amazonensis* UFLA 01 (Nostocales). A glicose foi utilizada como fonte de carbono, nas concentrações de 1% e 3%. A adição de carbono ao meio não promoveu uma maior produção de heterócitos em comparação com o controle, além disso, um maior número de heterócitos se desprenderam do filamento com a adição de glicose, tornando-se não-funcionais. Foi registrada a formação de acinetos, indicando um estado de estresse. Após 10 dias de experimento, observou-se a morte das cianobactérias expostas ao tratamento com 3% de glicose. No entanto, mesmo sob condições de estresse, as cianobactérias no tratamento com 1% de glicose demonstraram resiliência, voltando a crescer e formando novos filamentos 45 dias após o término do experimento. A produção de heterócitos, acinetos e o restabelecimento de *C. amazonensis* evidenciam sua capacidade adaptativa.

Palavras – chave: FBN; carbono; acineto; nitrogênio; cianobactéria.

ABSTRACT

Heterocytous filamentous cyanobacteria have the ability to produce specialized cells, such as akinetes and heterocysts. Akinetes act as resistance cells, allowing cyanobacteria to survive in unfavorable environmental conditions. Heterocysts, on the other hand, are responsible for biological nitrogen fixation (BNF), due to the presence of the nitrogenase enzyme. Heterocyst formation can be triggered by a lack of nitrogen in the medium or by an imbalance in the carbon-nitrogen ratio. In this context, the present study aimed to evaluate the effect of adding different concentrations of carbon on the production of heterocysts in *Cronbergia amazonensis* UFLA 01 (Nostocales). Glucose was used as a carbon source, at concentrations of 1% and 3%. The addition of carbon to the medium did not promote greater production of heterocytes compared to the control, in addition, a greater number of heterocytes detached from the filament with the addition of glucose, becoming non-functional. The formation of akinetes was recorded, indicating a state of stress. After 10 days of experiment, the death of cyanobacteria exposed to treatment with 3% glucose was observed. However, even under stress conditions, cyanobacteria in the treatment with 1% glucose demonstrated resilience, regrowing and forming new filaments 45 days after the end of the experiment. The production of heterocytes, akinetes and the reestablishment of *C. amazonensis* demonstrate its adaptive capacity.

Keywords: BNF; carbon; akinete; nitrogen; cyanobacteria.

1 INTRODUÇÃO

As cianobactérias são organismos procariontes capazes de fazer fotossíntese oxigênica (Raven; Giordano, 2014). Consideradas a base de diversas cadeias alimentares, elas contribuem significativamente para a produção primária e fornecimento de oxigênio atmosférico (Flombaum *et al.* 2013; Gaysina; Saraf; Singh, 2019). As cianobactérias podem ser classificadas em unicelulares, coloniais e filamentosas (Komárek *et al.*, 2014). Existem dois tipos de cianobactérias filamentosas, as homocitadas e as heterocitadas. Esse tipo de classificação é baseado na produção de células especializadas, como heterócitos e acinetos (Bustos-Díaz; Barona-Gómez; Cibrián-Jaramillo, 2019).

O heterócito é uma célula especializada, capaz de realizar a fixação biológica de nitrogênio (FBN) graças a presença da enzima sensível ao oxigênio, a nitrogenase (Bustos-Díaz; Barona-Gómez; Cibrián-Jaramillo, 2019). O heterócito possui dupla membrana celular que impede a entrada de oxigênio e permite uma constante atividade da enzima nitrogenase (Kumar; Mella-Herrera; Golden, 2010). A FBN realizada pelas cianobactérias é muito importante, uma vez que disponibiliza formas assimiláveis de nitrogênio, como a amônia, para diversos organismos que não são capazes de utilizar o gás nitrogênio inerte (N_2) presente na atmosfera (Lesser *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 2019).

O processo de fixação de nitrogênio realizado por heterócitos demanda um alto custo energético, cerca de 15-16 moléculas de adenosina trifosfato (ATP) são utilizadas para fixar uma molécula de N_2 (Raymond *et al.* 2004; Thompson; Zehr 2013). A FBN ocorre quando o meio apresenta privação de nitrogênio ou há um desbalanço entre a razão carbono-nitrogênio (C-N) (Zhang *et al.* 2018; Forchhammer; Selim 2019). Sendo assim, o metabolismo do carbono e nitrogênio são intrinsecamente relacionados, e mudanças na disponibilidade de um pode influenciar o metabolismo do outro (Zhang *et al.* 2018). Desde modo, mudanças nas concentrações de carbono e nitrogênio podem desencadear a produção de heterócitos em cianobactérias como estratégia para aumentar a concentração de nitrogênio e rebalancear a razão C-N (Saha *et al.* 2007; Fávoro; Nascimento; Coelho, 2021).

Alterações ambientais, como o aumento de carbono dissolvido na água devido às mudanças climáticas (Li *et al.*, 2016; Yan *et al.*, 2017; Mcdonough *et al.*, 2020), podem propiciar o surgimento de estratégias adaptativas em cianobactérias heterocitadas, como a variação na morfologia e estrutura. A capacidade do genótipo de apresentar variações na forma do organismo em resposta ao ambiente é conhecida como plasticidade morfológica (Sultan, 2000; Justice *et al.*, 2008; Ganie *et al.*, 2015). Sendo assim, as cianobactérias podem

exibir plasticidade morfológica em resposta ao aumento de carbono, podendo ser observada a formação de heterócitos (Fávaro; Nascimento; Coelho, 2021) ou, como resposta ao estresse, a formação de acinetos (esporo de resistência das cianobactérias) (Pimenta *et al.*, 2021) e o desprendimento de heterócitos do filamento (Souza, 2024), como forma de diminuir o gasto energético (Raymond *et al.* 2004; Thompson; Zehr 2013).

Cronbergia amazonensis (Nostocales) é uma cianobactéria filamentosa heterocitada, com heterócitos terminais. Apresenta plasticidade ecológica, com registros de hábitos planctônicos e perifíticos (Genuário; Sant'Anna; Melo, 2018; Pimenta *et al.*, 2025) e plasticidade morfológica, com capacidade de diferenciar heterócitos quando cultivada em meio sem nitrogênio e acinetos em ambientes com baixa luz (Pimenta *et al.*, 2025). Até o presente momento, há apenas trabalhos de descrição de *C. amazonensis* (Genuário; Sant'Anna; Melo, 2018; Pimenta *et al.*, 2025), sendo assim, trabalhos que buscam entender os efeitos das mudanças do meio sobre as respostas adaptativas de *C. amazonensis* podem contribuir para compreender a história de vida e a ecologia da espécie. Desse modo, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da adição de diferentes concentrações de carbono na produção de heterócitos por *C. amazonensis*. Baseados na premissa de que o balanço entre o carbono e o nitrogênio é a principal força para indução e controle da diferenciação de heterócitos (Zhang *et al.* 2018, Fávaro; Nascimento; Coelho, 2021) testamos as seguintes hipóteses: 1: A adição de carbono induz um aumento na produção de heterócitos em razão do desbalanço da razão C-N; 2: A adição de carbono induz o desprendimento de heterócitos do filamento em resposta ao estresse provocado pela mudança no ambiente.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Linhagem *Cronbergia amazonensis* UFLA01

A linhagem da cianobactéria estudada, *Cronbergia amazonensis* UFLA 01, faz parte da Coleção de Culturas de Cianobactérias Filamentosas da Universidade Federal de Lavras (CCF-UFLA). *C. amazonensis* foi isolada a partir do espremido de raízes da macrófita aquática *Pistia stratiotes* L. (Araceae) (Pimenta *et al.*, 2025), coletada no reservatório da Usina Hidrelétrica do Funil, localizada entre os municípios de Lavras e Perdões, estado de Minas Gerais, Brasil (21° 8 '36.45 "S, 45° 2' 11.12" W). *C. amazonensis* é uma cianobactéria filamentosa heterocitada, com filamentos curtos e sem bainha de mucilagem (Pimenta *et al.*, 2025). Além disso, apresenta hábito tanto epifítico (Pimenta *et al.*, 2025) quanto

fitoplanctônico (Genuário; Sant'Anna; Melo, 2018). *C. amazonensis* produz acinetos como células de resistência, caracterizados por serem mais largos que as células vegetativas e heterócitos e com sua produção desencadeada em ambientes pouco iluminados (Pimenta *et al.*, 2025). Já os heterócitos produzidos, que são células especializadas na fixação de N₂, são terminais, presentes nas pontas do filamento e possuem a parede espessa e com um nódulo polar na ligação entre o heterócito e a célula vegetativa (Pimenta *et al.*, 2025). Existem dois registros de *C. amazonensis* até o momento, o primeiro no Rio Solimões, na Amazônia (Genuário; Sant'Anna; Melo, 2018), norte do Brasil e o segundo em uma usina hidrelétrica, em Minas Gerais, sudeste do Brasil (Pimenta *et al.*, 2025).

2.2 Preparo do inóculo

A linhagem *C. amazonensis* foi repicada em 50 placas de petri com meio BG11₀ sólido (Allen, 1968) e mantidas em bancada com fotoperíodo de 12 horas sob luz fluorescente por 60 dias para crescimento das culturas. Após os 60 dias, foi feita a raspagem das culturas, e o material obtido foi transferido para 1 litro de meio BG11₀ líquido, homogeneizado com seringas de 20 ml e transferido para tubos Falcon de 50 ml. Os tubos Falcon foram colocados em centrífuga (Thermo Scientific MULTIFUGE X1R Centrifuge), e submetidos a um ciclo de 5000 rpm por 5 minutos, para separar a biomassa de cianobactérias do meio de cultivo. O pellet foi separado do sobrenadante, homogeneizado e ressuspenso em 2,5 L de meio BG11₀ líquido, obtendo-se assim o inóculo. Após três dias, período de crescimento logarítmico das culturas, foi feita a análise de densidade óptica da cultura utilizando espectrofotômetro (SHIMADZU UV-1800) e o valor obtido foi de 0,760 por ml.

2.3 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em estufa B.O.D vertical (Eletrolab), com temperatura mantida em 26°C, luminosidade de 140 μmol/m/s e fotoperíodo de 12 horas. Para observar a influência da quantidade de carbono na formação de heterócitos em *C. amazonensis*, foram preparados 9 tubos de ensaio de 50 mL divididos em três tratamentos que consistiram em: controle (sem adição de carbono) (CO), 1% de glicose (adição de carbono) (1%) e 3% de glicose (3%). Cada tratamento contou com três réplicas, cada réplica consistiu em um tubo de ensaio de 50 mL, contendo 20 mL de meio BG11₀ para os controles, 20 mL de meio BG11₀ e 1% de glicose e 20 mL de meio BG11₀ e 3% de glicose, além de 10% de inóculo em cada

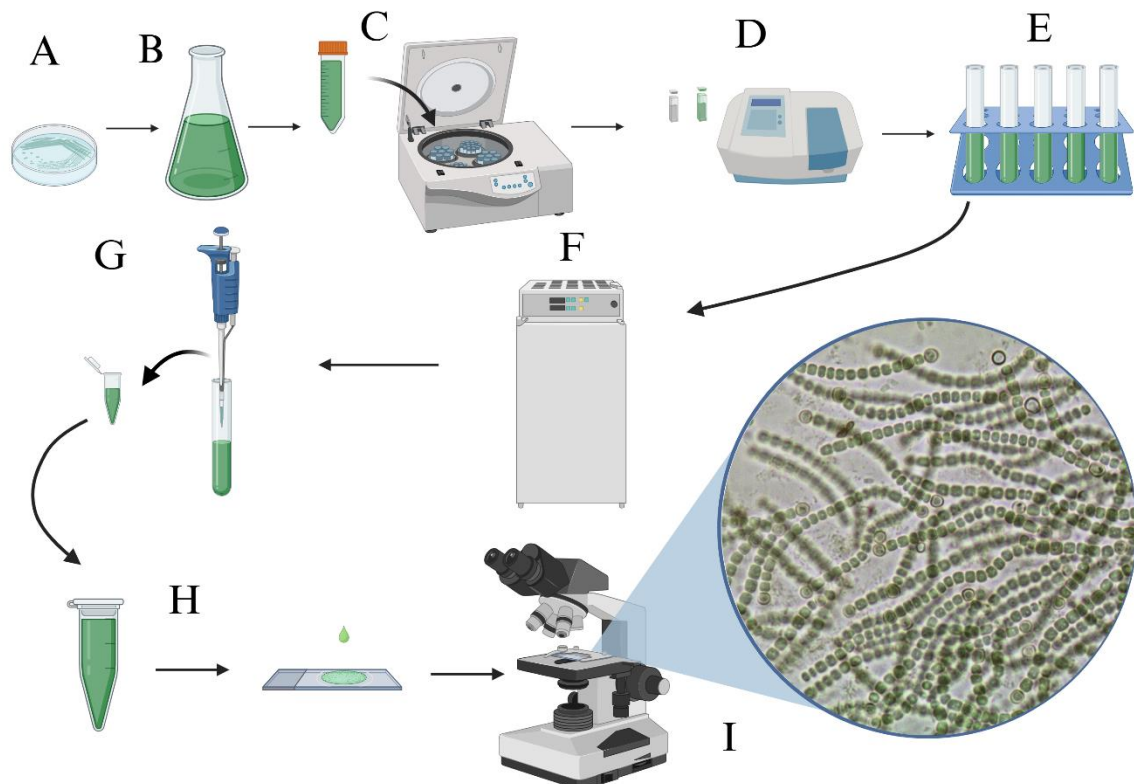
tratamento (Figura 1). As concentrações de glicose utilizadas no presente trabalho foram baseadas em Tyagi e Ahluwalia (1978) e Banerjee e Kumar (1988).

2.4 Coleta de dados

Com auxílio de uma pipeta, foram feitas coletas de 1 ml dos tubos de ensaio de cada tratamento. O material coletado foi armazenado em Eppendorfs contendo solução fixadora Transeau na proporção de 1:1 e mantido protegido da luz. Foram feitas coletas a cada cinco dias, sendo a primeira no primeiro dia do experimento e a última no 15º dia de experimento, totalizando quatro coletas. A partir do material coletado de cada tubo de ensaio, foram feitas três lâminas, cada uma contendo uma gota do material. De cada lâmina, foram fotografados três campos visualmente com o maior número de heterócitos presentes utilizando microscópio óptico (Olympus U-CMAD3) com câmera acoplada e aumento de 400 vezes, totalizando 198 campos (Figura 1). Não foram feitas fotos de campos da quarta coleta do tratamento com adição de 3% de glicose, pois as cianobactérias morreram (Figura 5F).

A partir das fotos, foram contabilizados o número de heterócitos aderidos ao filamento e o número de heterócitos desprendidos do filamentos utilizando o software ImageJ 1.45s.

Figura 1– Esquema mostrando partes do método.



Legenda: (A) Raspagem da biomassa de cianobactérias formadas nas placas de petri. (B) Transferência do material raspado para 1 litro de meio BG11₀ líquido. (C) O material foi transferido para tubos falcon e centrifugado e o pellet foi ressuspensionado em 2,5 L de meio novamente, formando o inóculo. (D) Uma amostra do inóculo foi coletada para medir a densidade óptica utilizando um espectrofotômetro. (E) Em tubos de ensaio, foi colocado 20 ml de meio BG11₀ líquido, 10% de inóculo e nos tratamentos com carbono, 1% ou 3% de glicose. (F) Os tubos de ensaio foram mantidos em B.O.D. (G) Foram feitas coletas de amostras a cada 5 dias, utilizando uma pipeta. O material coletado foi armazenado em Eppendorfs com solução Transeau. (H) Foram feitas lâminas com uma gota do material armazenado. (I) As lâminas foram observadas em microscópio óptico. Este esquema foi criado no Biorender.

Fonte: A autora (2025).

2.5 Análises de dados

Para avaliar o efeito dos tratamentos na produção de heterócitos de *C. amazonensis*, foi feito o teste estatístico de Kruskal-Wallis e *post-hoc* de Dunn, uma vez que os dados não atenderam aos pressupostos da análise de variância (ANOVA). Os tratamentos foram utilizados como variáveis categóricas, e o número de heterócitos aderidos ao filamento e desprendidos do filamento foram as variáveis resposta. Os dados foram analisados utilizando o software R 4.3.0.

3 RESULTADOS

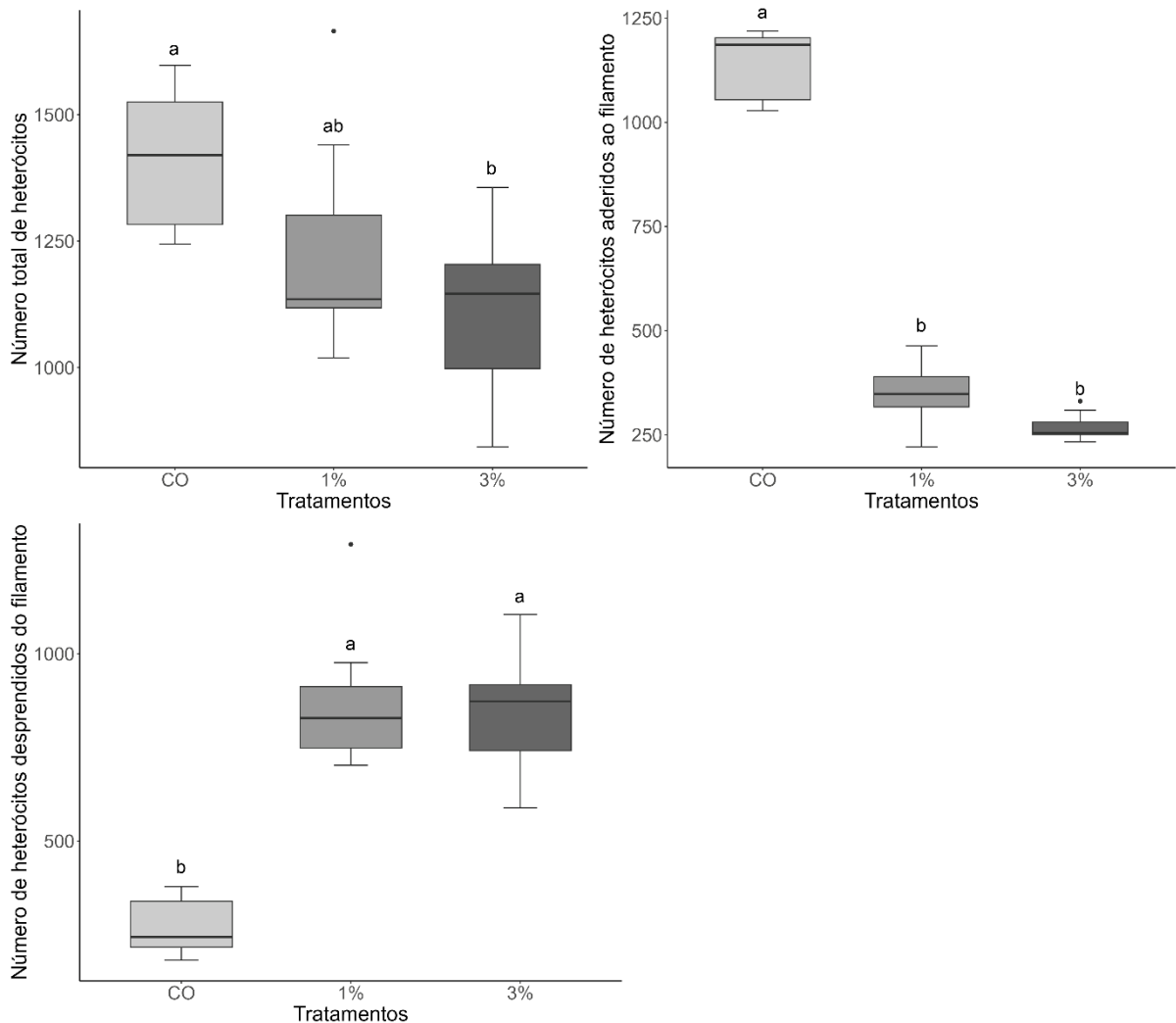
Foram produzidos 32.113 heterócitos no total, sendo 15.452 heterócitos aderidos ao filamento e 16.661 desprendidos do filamento. Os tratamentos com adição de carbono (glicose) apresentaram um número maior de heterócitos desprendidos (Figura 4B) do filamento do que o controle, sendo o tratamento de 1% de glicose com três vezes mais heterócitos desprendidos (7.835 heterócitos) do que o controle (2.459 heterócitos) e o tratamento com 3% de glicose com três vezes mais heterócitos desprendidos (7.659 heterócitos) que o controle. Desse modo, a adição de carbono promoveu um aumento de aproximadamente 3,19 vezes de heterócitos desprendidos, o que equivale a um aumento de cerca de 218%. Já o controle apresentou um maior número de heterócitos aderidos ao filamento (10.237 heterócitos) do que os tratamentos com 1% de glicose (2.798 heterócitos) e 3% de glicose (2.417 heterócitos).

A produção total de heterócitos diferiu entre os tratamentos ($KW = 9,14$; $dF = 2$; $p = 0,001$). O controle produziu mais heterócitos do que o tratamento com adição de 3% de glicose, e o tratamento com adição de 1% de glicose não diferiu significativamente dos tratamentos de 3% de glicose e do controle (Figura 2A).

O número de heterócitos aderidos ao filamento (Figuras 4A e 4B) variou entre os tratamentos, ($KW = 20,03$; $dF = 2$; $p < 0,01$). O controle apresentou um número maior de heterócitos aderidos ao filamento do que os tratamentos com 1% e 3% de glicose, e os tratamentos de 1% e 3% de glicose não apresentaram diferenças entre os números de heterócitos aderidos ao filamento (Figura 2B).

O número de heterócitos desprendidos do filamentos variou entre os tratamentos, ($KW = 17,37$; $dF = 2$; $p < 0,01$). O controle apresentou menos heterócitos desprendidos do que os tratamentos com 1% e 3% de glicose, e os tratamentos de 1% e 3% de glicose não apresentaram diferenças entre os números de heterócitos desprendidos (Figura 2C).

Figura 2 – Efeitos da adição de glicose (carbono) nos heterócitos.



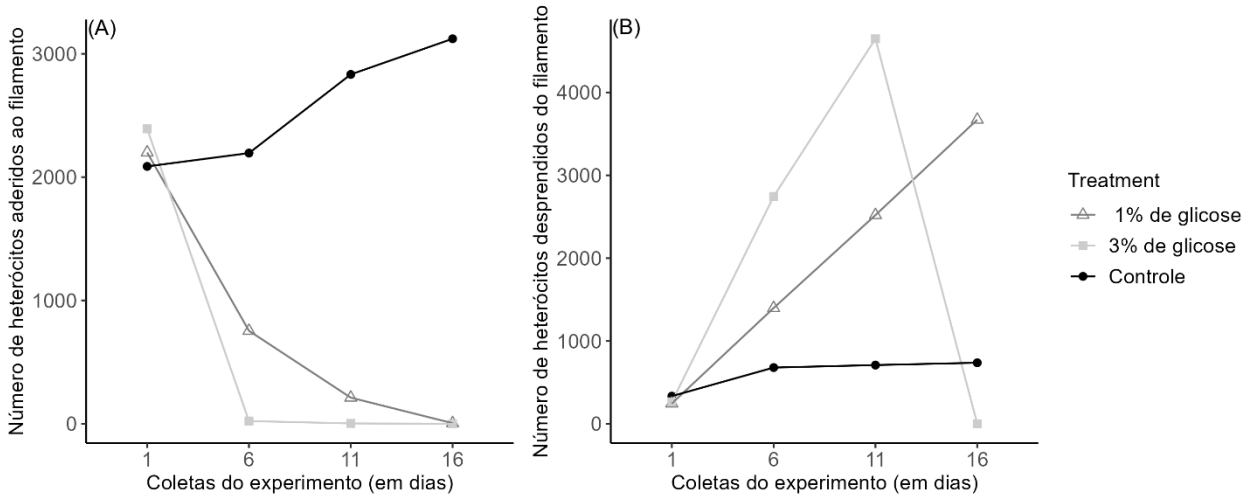
Legenda: (A) Efeito da adição de carbono no número total de heterócitos produzidos por *C. amazonensis*, sendo os tratamentos: CO (Controle), 1% (adição de 1% de glicose) e 3% (adição de 3% de glicose). (B) Efeito da adição de carbono no número de heterócitos aderidos ao filamento de *C. amazonensis*, sendo os tratamentos: CO (Controle), 1% (adição de 1% de glicose) e 3% (adição de 3% de glicose). (C) Efeito da adição de carbono no número de heterócitos desprendidos ao filamento de *C. amazonensis*, sendo os tratamentos: CO (Controle), 1% (adição de 1% de glicose) e 3% (adição de 3% de glicose). As letras minúsculas representam a comparação entre os tratamentos, letras diferentes indicam que houve diferença significativa entre os tratamentos, letras iguais, indicam que não houve diferença significativa entre os tratamentos. Nível de significância foi de $p \leq 0,05$.

Fonte: A autora (2025).

Ao compararmos os tratamentos com adição de carbono e o controle, notamos que ao longo das coletas, o número de heterócitos que se desprenderam dos filamentos aumentou nos tratamentos com adição de carbono, principalmente no tratamento com adição de 3% de glicose (Figuras 5D e 5F), e que o aumento destes elevou de maneira abrupta já na segunda coleta (Figura 3B). O número de heterócitos aderidos ao filamento diminuiu nos tratamentos com adição de carbono, principalmente no tratamento com adição 3% de glicose (Figura 3A).

Já no controle, o número de heterócitos aderidos ao filamento aumentou e o número de heterócitos desprendidos do filamento teve pouca alteração ao longo do tempo (Figura 3A e 3B).

Figura 3 – Número médio de heterócitos ao longo das coletas.

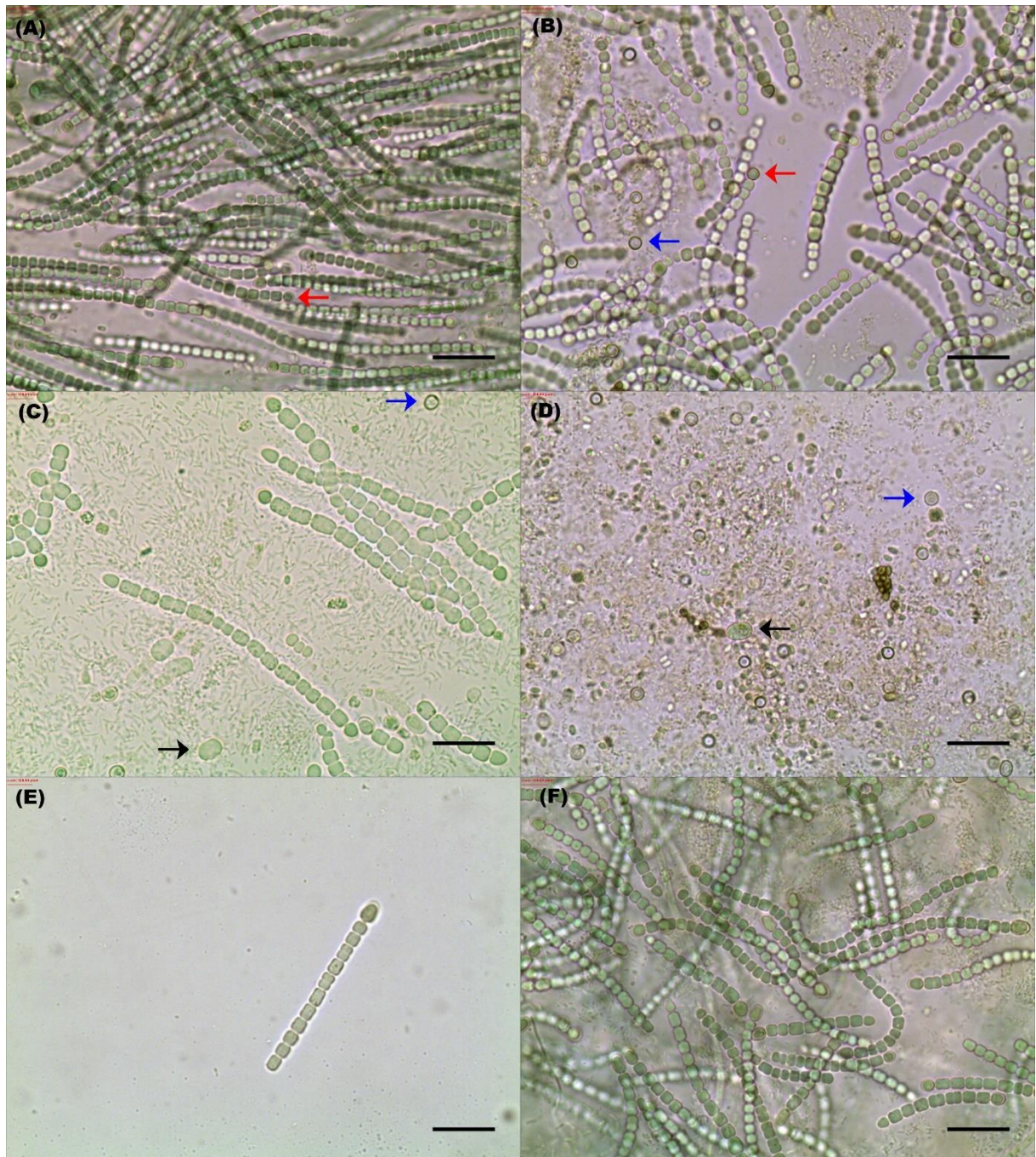


Legenda: (A) Média do número de heterócitos aderidos aos filamentos ao longo das coletas (em dias), sendo os tratamentos de 1% (triângulo não preenchido cinza médio), 3% (quadrado cinza claro) e CO (círculo preenchido preto). (B) Média do número de heterócitos desprendidos do filamento ao longo das coletas (em dias), sendo os tratamentos de 1% (triângulo não preenchido cinza médio), 3% (quadrado cinza claro) e CO (círculo preenchido preto).

Fonte: A autora (2025).

Após o fim do experimento, os tubos utilizados foram mantidos em bancada sob a luz fluorescente do Laboratório de Anatomia Vegetal da UFLA. Após 45 dias, foi observada o crescimento de cianobactérias em tubos com 1% de glicose (Figura 4F). A biomassa formada foi coletada, armazenada em Eppendorfs com solução Transeau 1:1 e uma amostra foi observada no microscópio óptico de captura (Olympus U-CMAD3). Na lâmina foram observados filamentos de *C. amazonensis* indicando que novos filamentos foram formados (Figura 4F).

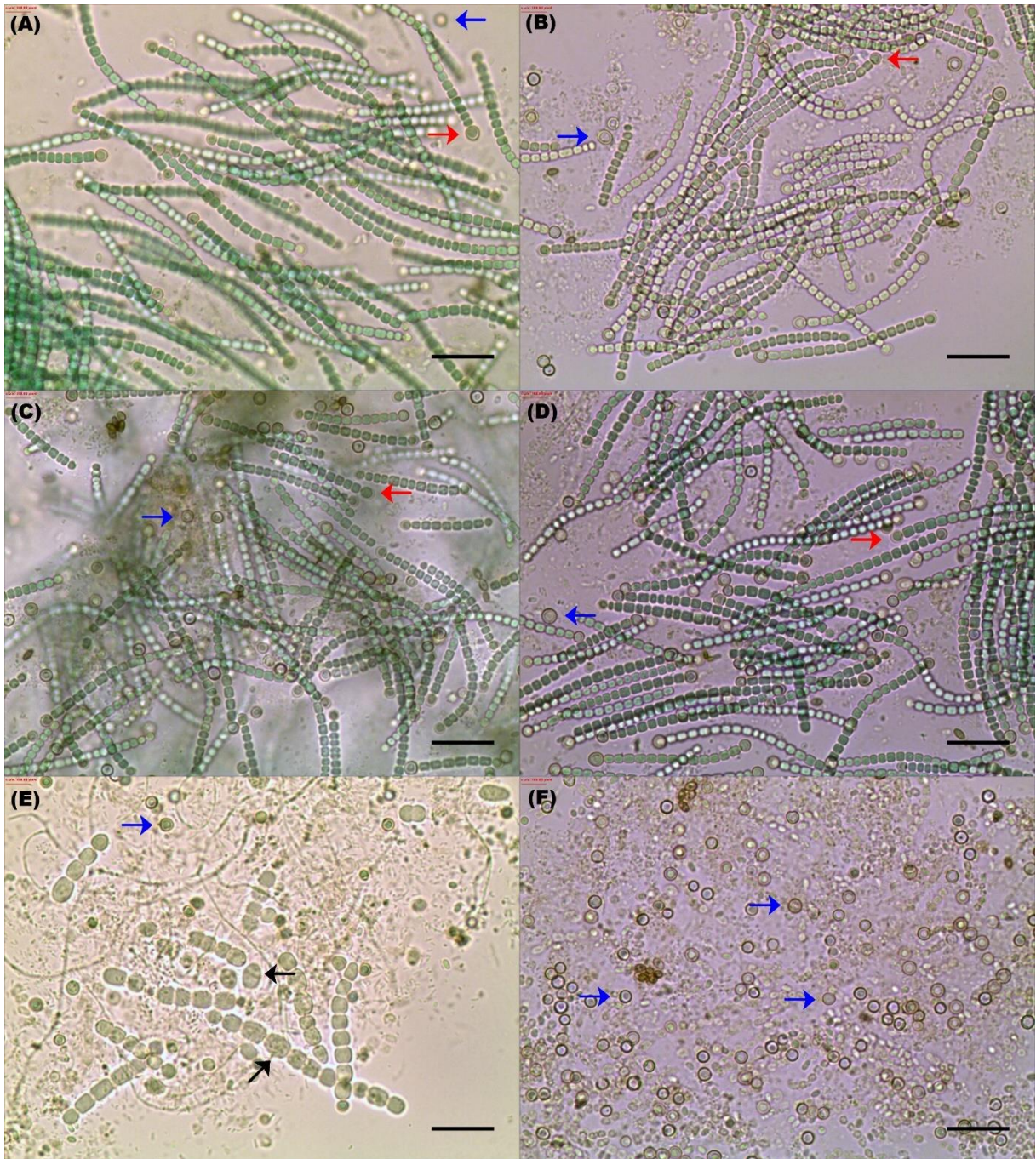
Figura 4 – *C. amazonensis* no tratamento com 1% de glicose ao longo do experimento.



Legenda: (A) *C. amazonensis* na primeira coleta do tratamento com 1% de glicose. (B) *C. amazonensis* na segunda coleta do tratamento com 1% de glicose. (C) *C. amazonensis* na terceira coleta do tratamento com 1% de glicose. (D) Heterócitos de acineto de *C. amazonensis* na quarta coleta do tratamento com 1% de glicose. (E) Filamento de *C. amazonensis* presente na quarta coleta. (F) Filamentos de *C. amazonensis* que se reestabeleceram após 45 dias do fim do experimento. A seta vermelha indica heterócitos de *C. amazonensis* aderidos ao filamento, a seta azul indica heterócitos desprendidos do filamento de *C. amazonensis* e a seta preta indica a presença de acinetos. A barra de escala corresponde à 20 μm .

Fonte: A autora (2025)

Figura 5 – *C. amazonensis* coletada a partir do controle e do tratamento com adição de 3% de glicose ao longo do experimento.



Legenda: (A) *C. amazonensis* na primeira coleta do controle. (B) *C. amazonensis* na segunda coleta do controle. (C) *C. amazonensis* na terceira coleta do controle. (D) *C. amazonensis* na primeira coleta do tratamento com 3% de glicose. (E) *C. amazonensis* na segunda coleta do tratamento com 3% de glicose. (F) Heterócitos de *C. amazonensis* na terceira coleta do tratamento com 3% de glicose. A seta vermelha indica heterócitos de *C. amazonensis* aderidos ao filamento, a seta azul indica heterócitos desprendidos do filamento de *C. amazonensis* e a seta preta indica a presença de acinetos. A barra de escala corresponde à 20 μm .

Fonte: A autora (2025)

4 DISCUSSÃO

Os heterócitos são células especializadas na fixação de nitrogênio, fundamentais para o algumas cianobactérias (Bustos-Díaz; Barona-Gómez; Cibrián-Jaramillo, 2019; Kumar; Mella-Herrera; Golden, 2010). A hipótese de que a adição de carbono induz um aumento de heterócitos produzidos por *C. amazonensis* não foi confirmada, já que o controle, sem adição de carbono, não apresentou diferença estatística para o tratamento com a adição de 1% de glicose e foi maior que o tratamento com adição de 3% de glicose. Isso pode indicar que o excesso de carbono desequilibrou a relação carbono-nitrogênio (C-N) nas células, a ponto de ser um fator estressante para a cianobactéria, principalmente no tratamento com adição de 3% de glicose, por conta de muitos filamentos morrerem (Figura 5F) e, além disso, foi observada a formação de acinetos (Figuras 4C, 4D e 5E). A produção de acinetos indica que os filamentos foram submetidos à estresse. Acinetos são células que atuam como esporos de resistência e são produzidos em condições ambientais desfavoráveis (Sukenik; Rücker; Maldener, 2019). Durante a sua formação, os acinetos acumulam reservas energéticas e ácidos nucléicos para passarem pelo período de dormência e terem condições de germinar quando as condições ambientais se tornarem favoráveis novamente (Sukenik; Rücker; Maldener, 2019). Sendo assim, o estresse provocado pelo aumento de carbono prejudicou a manutenção dos heterócitos funcionais e estimulou a produção dos acinetos observados, como forma de sobrevivência das cianobactérias ao estresse por excesso de carbono. Outro fator que pode ter contribuído para o estresse observado é que as cianobactérias, além de terem sido submetidas ao aumento de carbono no meio, o meio de cultivo utilizado foi o BG11₀, sem NaNO₃ como fonte de nitrogênio, o que aumentou ainda mais a demanda por nitrogênio e pode ter ocasionado um aumento estresse sofrido pela cianobactéria.

A adição de carbono na forma de glicose teve um efeito significativo no desprendimento heterócitos, corroborando com a nossa segunda hipótese. É crucial considerar que os heterócitos aderidos ao filamento são funcionais e atuam na fixação de nitrogênio. O grande número de heterócitos desprendidos nos tratamentos com 1% e 3% de glicose pode ser um indicativo de estresse. Isso pode ter ocorrido por conta dos heterócitos serem células especializadas que demandam um alto custo energético para se manterem funcionais. Conforme Raymond *et al.* (2004) e Thompson e Zehr (2013), são necessárias cerca de 15-16 moléculas de ATP para o heterócito fixar uma molécula de N₂. Portanto, ao se encontrar em condições de estresse ambiental, as cianobactérias podem desprender os heterócitos dos filamentos como forma de economizar energia e recursos.

De acordo com Meeks e Elhai (2002) e Herrero, Stavans e Flores (2016), os heterócitos requerem uma conexão física com o filamento para realizar a fixação de nitrogênio de forma eficiente. A adesão ao filamento proporciona o ambiente necessário para a atividade enzimática e o intercâmbio de nutrientes essenciais, como fotoassimilados produzidos pelas células vegetativas e nitrogênio fixado pelo heterócito, além de outros metabólicos e enzimas sinalizadoras. Desse modo, os heterócitos que se desprendem dos filamentos perdem sua funcionalidade devido à dependência das células vegetativas. Com menos heterócitos funcionais presos aos filamentos, a capacidade do sistema de fixar nitrogênio pode estar comprometida.

As concentrações de glicose utilizadas no presente trabalho foram baseadas em Tyagi e Ahluwalia (1978), que observaram a produção de heterócitos em *Anabaena doliolum* (Nostocales) e Banerjee e Kumar (1988), que observaram a produção de heterócitos em *Aulosira fertilissima* (Nostocales). Os autores adicionaram, respectivamente, 1% e 2% de glicose ao meio de cultivo. As espécies de cianobactérias nos dois estudos, além de produzirem mais heterócitos, cresceram e mantiveram sua atividade de FBN. Já em nosso estudo, o teor de glicose, como fonte de carbono acrescentado ao meio, parece ter exercido um efeito estressor, estimulando o desprendimento de heterócitos, produção de acinetos e morte de filamentos. Concentrações menores de glicose podem ser uma alternativa para observar o processo de formação de heterócitos em *C. amazonensis*. Com 15 dias de experimento, no tratamento com 3% de glicose, as cianobactérias não sobreviveram (Figura 5F), já no tratamento com 1% de glicose, foi observado acinetos, heterócitos soltos e alguns filamentos sobreviventes (Figuras 4E e 4F).

Após 45 dias do início do experimento foi observado o reestabelecimento das cianobactérias no tratamento com adição de 1% de glicose, com formação de novos filamentos (Figura 4F), que pode ser devido ao rebalanceamento da razão C-N. Isso pode ter ocorrido tanto por conta da fixação de nitrogênio realizada pelos heterócitos que permaneceram funcionais, mesmo sobre estresse, quanto pela possibilidade das cianobactérias terem consumido o carbono disponível, supondo que esta linhagem possua mixotrofia. A mixotrofia é uma estratégia em que organismos autotróficos podem também se comportar como heterótrofos em determinadas situações, como na ausência de luz (Tosuner; Ürek, 2020). Essa estratégia nutricional já foi observada em *Anabaena* (Nostocales) (Yu *et al.*, 2011; Khoobkar; Amrei, 2021), gênero filogeneticamente relacionado ao gênero *Cronbergia* (Nostocales) (Komárek; Zapomelová; Hindák, 2010). Sendo assim, quando o ambiente se tornou favorável novamente pelo rebalanceamento da razão C-N, os acinetos produzidos

durante o período de estresse (Figuras 4C e 4D) germinaram e/ou as cianobactérias que sobreviveram ao estresse, conseguiram se reproduzir novamente, e se reestabelecer no meio.

Em relação à produção e manutenção de um maior número de heterócitos funcionais em *C. amazonensis* no controle, era um resultado esperado, já que a cianobactéria está aclimatada ao meio, sendo cultivada nele há várias gerações (Figura 5A-C). O meio de cultivo utilizado, o BG11₀, é uma adaptação do meio BG11 (Allen, 1968) e não possui NaNO₃, o que explica o estímulo à produção de heterócitos como forma de aumentar a concentração de nitrogênio do meio de cultivo. Portanto, a ausência de nitrogênio no meio desencadeou a produção de heterócitos no controle, conforme evidenciado por Pimenta *et al.* (2021) ao estudar cianobactérias epifíticas nas raízes de *Salvinia auriculata*.

Apesar do aumento da disponibilidade de carbono em forma de glicose ter desencadeado respostas ao estresse, como a produção de acinetos e aumento de heterócitos não-funcionais, *C. amazonensis* demonstrou capacidade adaptativa ao crescer e se reestabelecer no tratamento com 1% de glicose 45 dias após o experimento ter finalizado. Trabalhos com menores concentrações de carbono podem ajudar na observação do processo de formação de heterócitos por conta do desbalanceamento da razão C-N, e compreender melhor esse mecanismo. Além disso, pesquisas que busquem investigar a presença de mixotrofia em *C. amazonensis* podem contribuir ainda mais para o entendimento da história de vida da espécie e ajudar a explicar sua distribuição geográfica, com apenas dois registros até o momento, um no Amazonas, região norte do Brasil (Genuário; Sant'Anna; Melo, 2018), e outro no sudeste do Brasil (Pimenta *et al.*, 2025).

Com base nos resultados observados, conclui-se que a adição de glicose como fonte de carbono exerce influência significativa sobre o comportamento de *C. amazonensis*. A glicose não estimulou a produção de heterócitos e desencadeou respostas de estresse, como o desprendimento de heterócitos e a produção de acinetos. Apesar disso, a sobrevivência e o reestabelecimento das cianobactérias no tratamento com 1% de glicose ressaltam a capacidade adaptativa de *C. amazonensis*. Essas respostas reforçam que *C. amazonensis* responde ao desequilíbrio da razão C-N e evidenciam sua plasticidade morfológica e capacidade adaptativa em condições adversas.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, M.M. Simple conditions for growth of unicellular blue-green algae on plates. **Journal of Phycology**, v. 4, p. 1-4, 1968. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1968.tb04667.x>
- BANERJEE, M.; KUMAR, H. D. Effect of Carbon Sources on Growth and Nitrogen Fixation of *Aulosira fertilissima* Ghose. **Biochemie und Physiologie der Pflanzen**, v. 183, p. 51-58, 1988. [https://doi.org/10.1016/S0015-3796\(88\)80069-6](https://doi.org/10.1016/S0015-3796(88)80069-6)
- BUSTOS-DÍAZ, E. D.; BARONA-GÓMEZ, F; CIBRIÁN-JARAMILLO, A. Cyanobacteria in nitrogen-fixing symbioses. In: MISHRA, A. K.; TIWARI, D. N.; RAI, A. N. (Eds). **Cyanobacteria: From Basic Science to Applications**. London, UK: Academic Press, p. 29-42, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814667-5.00002-7>
- FÁVARO, A.; NASCIMENTO, A. G.; COELHO, F. F. Urban environmental influences on heterocyst investment in *Leptogium cyanecens* (Collemataceae). **Nova Hedwigia**, v. 113, n. 1-2, p. 259-277, 2021. https://doi.org/10.1127/nova_hedwigia/2021/0644
- FLOMBAUM, P. *et al.* Present and future global distributions of the marine Cyanobacteria *Prochlorococcus* and *Synechococcus*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, p. 9824-9829, 2013. <https://doi.org/10.1073/pnas.1307701110>
- FORCHHAMMER, K.; SELIM, K. A. Carbon/nitrogen homeostasis control in cyanobacteria. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 44, p. 33-53, 2019. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuz025>
- GANIE, A. *et al.* Phenotypic plasticity: cause of the successful spread of the genus *Potamogeton* in the Kashmir Himalaya. **Aquatic Botany**, v. 120, p. 283-289, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2014.09.007>
- GAYSINA, L.A.; SARAF, A.; SINGH P. Cyanobacteria in diverse habitats. In: MISHRA, A. K.; TIWARI, D. N.; RAI, A. N. (Eds). **Cyanobacteria: From Basic Science to Applications**. Academic Press, p. 1-28, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814667-5.00001-5>
- GENUÁRIO, D. B.; SANT'ANNA, C. L.; MELO, I. S. 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. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.11.034>
- HERRERO, A.; STAVANS, J.; FLORES, E. The multicellular nature of filamentous heterocyst-forming cyanobacteria. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 40, p. 831-854, 2016. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw029>
- JUSTICE, S. *et al.* Morphological plasticity as a bacterial survival strategy. **Nature Reviews Microbiology**, v. 6, p.162–168, 2008. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1820>
- KHOOBKAR, Z.; AMREI, H. D. Effect of photo, hetero and mixotrophic conditions on the growth and composition of *Anabaena variabilis*: an energy nexus approach. **Energy Nexus**, v. 2, 100010, p. 1-5, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.nexus.2021.100010>

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

KOMÁREK, J.; ZAPOMELOVÁ, E.; HINDÁK, F. *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.

KUMAR, K.; MELLA-HERRERA, R. A.; GOLDEN, J.W. Cyanobacterial heterocysts. **Cold Spring Harbor Perspectives Biology**, v. 2, a000315, p. 1-19, 2010.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000315>

KUMAR, U. *et al.* Cyanobiont diversity in six *Azolla* spp. and relation to *Azolla*-nutrient profiling. **Planta**, v. 249, p. 1435-1447, 2019. <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03093-7>

LESSER, M. *et al.* Nitrogen fixation by symbiotic cyanobacteria provides a source of nitrogen for the scleractinian coral *Montastraea cavernosa*. **Marine Ecology Progress Series**, v. 346, p. 143-152, 2007. <https://doi.org/10.3354/meps07008>

LI, W. *et al.* Response of microalgae to elevated CO₂ and temperature: impact of climate change on freshwater ecosystems. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 19847–19860, 2016. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7180-5>.

MCDONOUGH, L.K. *et al.* Changes in global groundwater organic carbon driven by climate change and urbanization. **Nature Communications**, v. 11, p. 1-10, 2020.
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-14946-1>

MEEKS, J. C.; ELHAI, J. Regulation of cellular differentiation in filamentous cyanobacteria in free-living and plant-associated symbiotic growth states. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 66, p. 94-121, 2002. <https://doi.org/10.1128/mnbr.66.1.94-121.2002>

PIMENTA, L. L. *et al.* Epiphytic cyanobacterial strains in the roots of *Salvinia auriculata* and the effect of light and nutrients on the production of heterocyte, akinete and hormogonia. **Aquatic Ecology**, v. 56, p. 543-553, 2021. <https://doi.org/10.1007/s10452-021-09922-w>

PIMENTA, L. L. *et al.* First report of *Cronbergia amazonensis* (nostocales, cyanobacteriota), epiphytic on the roots of *Pistia stratiotes*. **Algal Research**, v. 85, 103883, 2025.
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2024.103883>

RAVEN, J. A.; GIORDANO, M. Algae. **Current Biology**, v. 24, n. 13, p. 590-595, 2014.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.05.039>

RAYMOND, J. *et al.* The natural history of nitrogen fixation. **Molecular Biology and Evolution**, v. 21, n. 3, p. 541-554, 2004. <https://doi.org/10.1093/molbev/msh047>

SAHA, S. K. *et al.* Biodiversity of epilithic cyanobacteria from freshwater streams of Kakojiana reserve forest, Assam, India. **Indian Journal of Microbiology**, v. 47, p. 219-232, 2007. <https://doi.org/10.1007/s12088-007-0043-5>

SOUZA, Grécia de Andrade. **Efeito do fósforo na diferenciação celular da cianobactéria filamentosa *Cronbergia* e o efeito de sua inoculação no crescimento de *Pistia stratiotes*,**

comparado à inoculação de *Desmonostoc*. 2024. Tese (Doutorado em Botânica Aplicada) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2024.

SUKENIK, A.; RÜCKER, J.; MALDENER, I. Dormant cells (akinetes) of filamentous cyanobacteria demonstrate a great variability in morphology, physiology, and ecological function. In: MISHRA, A. K.; TIWARI, D. N.; RAI, A. N. (ed). **Cyanobacteria: From Basic Science to Applications**. Academic Press, p. 65-77, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814667-5.00004-0>

SULTAN, S.E. Phenotypic plasticity for plant development, function and lifehistory. **Trends in Plant Science**, v. 5, p. 537–542, 2000. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01797-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01797-0)

THOMPSON, A. W.; ZEHR, J. P. Cellular interactions: lessons from the nitrogen-fixing cyanobacteria. **Journal of Phycology**, v. 49(6), p. 1024-1035, 2013. <https://doi.org/10.1111/jpy.12117>

TOSUNER, Z. V.; ÜREK, R. Ö. Evaluation of sucrose as carbon source in mixotrophic culture of *Arthrospira platensis* gomont 1892. **Aquatic Research**, p. 1-12, 2020. <https://doi.org/10.3153/ar20001>

TYAGI, V. V. S.; AHLUWALIA, A. S. Heterocyst formation in the blue-green alga *Anabaena doliolum*: A study of some aspects of photoregulation. **Annals of Botany**, v. 42, 1333-1342, 1978. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a085579>

YAN, X. *et al.* Climate warming and cyanobacteria blooms: Looks at their relationships from a new perspective. **Water Research**, v. 125, p. 449-457, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.09.008>

YU, G. *et al.* Growth and physiological features of cyanobacterium *Anabaena sp.* strain pcc 7120 in a glucose-mixotrophic culture. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 19, p. 108-115, 2011. [https://doi.org/10.1016/s1004-9541\(09\)60185-3](https://doi.org/10.1016/s1004-9541(09)60185-3)

ZHANG, C. *et al.* Carbon/nitrogen metabolic balance: lessons from cyanobacteria. **Trends in Plant Science**, v. 23, n. 12, p. 1116-1130, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.09.008>

ARTIGO 2 Efeitos da interação com diferentes espécies de macrófitas e com *Desmonosctoc* sp. (Nostocales) na plasticidade morfológica de *Cronbergia amazonensis* (Nostocales).

Artigo elaborado de acordo com a NBR 6022 (ABNT, 2018).

RESUMO

As cianobactérias possuem grande plasticidade morfológica e ecológica, sendo encontradas em todos os lugares do planeta. Dentre as cianobactérias, destacamos as filamentosas heterocitadas, as quais produzem células especializadas que aumentam sua capacidade adaptativa, como acinetos (células que atuam como esporo de resistência) e heterócitos (células capazes de realizar a fixação biológica de nitrogênio em situações de pouca disponibilidade de nitrogênio). Cianobactérias filamentosas heterocitadas podem estabelecer relações epifíticas com macrófitas ao se aderirem às suas raízes. Nessa relação, a cianobactéria fornece nitrogênio fixado à planta e forma, junto a outras cianobactérias e microalgas, parte do perifíton. O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da interação com diferentes espécies de macrófitas (*Pistia stratiotes* e *Salvinia auriculata*), além da presença no meio de outra cianobactéria filamentosa heterocitada, *Desmonostoc* sp., na plasticidade morfológica de *Cronbergia amazonensis*. Em consórcio com *Desmonostoc* sp. e inoculada no meio com rametes de *S. auriculata*, *C. amazonensis* apresentou filamentos menores. Já no consórcio entre *Desmonostoc* sp. e *C. amazonensis* inoculados em meio com rosetas de *P. stratiotes*, tanto o número de heterócitos quanto a razão entre heterócitos e células vegetativas foram aumentadas. Além disso, *C. amazonensis* apresentou heterócitos maiores em interação com *P. stratiotes*, independentemente da presença ou não de outra cianobactéria. *C. amazonensis* apresentou plasticidade morfológica, ao alterar a morfometria do filamento e diferenciar heterócitos em interação com diferentes macrófitas e com outra cianobactéria, demonstrando a sua plasticidade ecológica.

Palavras-chave: cianobactéria; plasticidade fenotípica; competição; cianobactéria filamentosa; heterócito.

ABSTRACT

Cyanobacteria have great morphological and ecological plasticity and are found everywhere on the planet. Among the cyanobacteria, we highlight the heterocytous filamentous, which produce specialized cells that increase their adaptive capacity, such as akinetes (cells that act as resistance spores) and heterocysts (cells capable of biologically fixing nitrogen in situations of low nitrogen availability). Heterocytous filamentous cyanobacteria can establish epiphytic relationships with macrophytes by attaching themselves to their roots. In this relationship, the cyanobacteria provide fixed nitrogen to the plant and, together with other cyanobacteria and microalgae, form part of the periphyton. The present study aimed to evaluate the effects of the interaction with different species of macrophytes (*Pistia stratiotes* and *Salvinia auriculata*), in addition to the presence in the medium of another heterocytous filamentous cyanobacterium, *Desmonostoc* sp., on the morphological plasticity of *Cronbergia amazonensis*. In consortium with *Desmonostoc* sp. and inoculated in the medium with ramets of *S. auriculata*, *C. amazonensis* presented smaller filaments. In the consortium between *Desmonostoc* sp. and *C. amazonensis* inoculated in medium with rosettes of *P. stratiotes*, both the number of heterocytes and the ratio between heterocysts and vegetative cells were increased. In addition, *C. amazonensis* presented larger heterocysts in interaction with *P. stratiotes*, regardless of the presence or not of another cyanobacterium. *C. amazonensis* showed morphological plasticity, by altering the morphometry of the filament and differentiating heterocytes in interaction with different macrophytes and other cyanobacteria, demonstrating its ecological plasticity.

Keywords: cyanobacteria; phenotypic plasticity; competition; filamentous cyanobacteria; heterocyst.

1 INTRODUÇÃO

As cianobactérias são consideradas os primeiros seres vivos a realizarem a fotossíntese oxigênica e, há 2,4 bilhões de anos aproximadamente, foram responsáveis pelo grande evento de oxigenação que modificou definitivamente a vida na Terra (Fisher *et al.*, 2016). As cianobactérias são organismos procariontes que contribuem com boa parte do oxigênio atmosférico e fazem parte da produção primária de muitas cadeias alimentares (Flombaum *et al.* 2013; Gaysina; Saraf; Singh, 2019). Esse grupo é muito diverso, apresentando formas unicelulares, filamentosas ou coloniais (Komárek *et al.*, 2014).

As cianobactérias filamentosas podem ser classificadas em homocitadas e heterocitadas de acordo com a formação de células especializadas, como heterócitos e acinetos. Os heterócitos são capazes de realizar a fixação biológica do nitrogênio (FBN) (Bustos-Díaz; Barona-Gómez; Cibrián-Jaramillo, 2019) e os acinetos atuam como esporos de resistência (Meeks *et al.*, 2002). Além disso, em algumas, podemos observar a formação de homogônios, que são fragmentos móveis do filamento que ajudam na dispersão das cianobactérias (Meeks *et al.*, 2002). Essas e entre outras características, permitem que as cianobactérias apresentem uma grande plasticidade fenotípica, ou seja, a capacidade de um mesmo genótipo apresentar diferentes fenótipos de acordo com as condições ambientais (Sultan, 2000; Ganie *et al.*, 2015).

As adaptações fisiológicas e morfológicas das cianobactérias tornaram possível a existência de espécies em todos os locais do planeta, desde ambientes extremos, como regiões polares, como a Antártica e o Ártico (Makhalanyane *et al.*, 2015; Pushkareva *et al.*, 2024) até regiões do deserto do Saara (Mehda *et al.*, 2021). As cianobactérias também são capazes de estabelecer relações simbióticas com diversos grupos, como com fungos e algas em líquens (Fávaro; Nascimento; Coelho, 2021), com animais (Wilkinson, 1992) e diferentes grupos de plantas, como macrófitas (Pimenta *et al.*, 2021; Pimenta *et al.*, 2025).

A associação entre cianobactérias e macrófitas podem ocorrer de duas maneiras, de maneira endofítica, colonizando a parte interna dos tecidos das macrófitas (Papaefthimiou *et al.*, 2008; Kumar *et al.*, 2019), ou epifítica, colonizando a superfície das raízes de macrófitas (Fonseca; Rodrigues, 2005; Pimenta *et al.*, 2021; Pimenta *et al.*, 2025). Essa relação pode ser simbiótica, em que a cianobactéria fornece o nitrogênio fixado para a macrófita e a macrófita fornece abrigo (Papaefthimiou *et al.*, 2008) ou de competição entre cianobactérias e macrófitas, em que ambos os organismos competem por espaço e recursos para sobreviver (Švanys; Paškauskas; Hilt, 2014; Gao *et al.*, 2015; Wijewardene *et al.*, 2022). Além da

competição entre macrófitas e cianobactérias, pode ocorrer competição entre as diferentes espécies de cianobactérias (Mohlin *et al.*, 2012; Tan *et al.*, 2019) que formam o perifíton presente nas raízes de macrófitas.

Cronbergia amazonensis (Nostocales) é uma cianobactéria filamentosa heterocitada que apresenta plasticidade ecológica, já encontrada em ambientes planctônicos (Genuário; Sant'Anna; Melo, 2018) e associada epifiticamente à macrófita *Pistia stratiotes* L. (Araceae) (Pimenta *et al.*, 2025), bem como plasticidade morfológica, ao diferenciar heterócitos em condições de restrição de nitrogênio e acinetos sob baixa luminosidade (Pimenta *et al.*, 2025). Além disso, *C. amazonensis* possui apenas dois registros de ocorrência em regiões distantes uma da outra, um no Rio Solimões, Amazonas, norte do Brasil (Genuário; Sant'Anna; Melo, 2018) e outro em uma usina hidrelétrica entre os municípios de Lavras e Perdões, no sul de Minas Gerais, sudeste do Brasil (Pimenta *et al.*, 2025). Sendo assim, estudos que visam entender aspectos ecológicos da espécie e sua relação com outras espécies, como diferentes macrófitas e outras cianobactérias, podem contribuir para compreender suas estratégias de vida e sua distribuição geográfica.

Os dois únicos artigos sobre *C. amazonensis*, relacionam-se a sua filogenia, forma de vida e distribuição geográfica (Genuário; Sant'Anna; Melo, 2018; Pimenta *et al.*, 2025). Sendo assim, a presente pesquisa buscou estudar aspectos ecológicos referentes a sua interação com outros organismos, focando na plasticidade morfológica da espécie. A plasticidade morfológica pode ser definida como a variação na forma e estrutura dos fenótipos exibidos por indivíduos encontrados em diferentes condições ambientais (Justice *et al.*, 2008; Ganie *et al.*, 2015). Sendo assim, o objetivo foi avaliar o efeito de duas espécies de macrófitas e da presença de outra cianobactéria, *Desmonostoc* sp. (Nostocales), na morfologia e diferenciação celular de *C. amazonensis*.

Uma vez que *C. amazonensis* foi isolada da macrófita *P. stratiotes*, e que esta macrófita pode ocorrer em lagoas com a presença da macrófita *Salvinia auriculata* Aubl. (Salvinaceae), a qual tem como componente de seu perifíton a cianobactéria *Desmonostoc* sp., e baseados nos pressupostos de que a plasticidade morfológica pode ser moldada pela interação entre espécies (Gray *et al.*, 2021) formulamos as seguintes hipóteses: 1: *C. amazonensis* inoculada num meio com a macrófita *P. stratiotes* apresenta um maior investimento em crescimento vegetativo (tamanho filamento e número de células vegetativas), e um menor investimento em heterócitos (tamanho de heterócito e número de heterócitos) do que em consórcio com *Desmonostoc* sp., devido a competição que pode ocorrer entre as cianobactérias quando estas estão em consórcio; 2: *C. amazonensis* inoculada em um meio

com a macrófita *S. auriculata* apresenta um maior investimento em crescimento vegetativo, e um menor investimento em heterócitos do que em consórcio com *Desmonostoc* sp., devido a competição que pode ocorrer entre as cianobactérias quando estas estão em consórcio; 3: *C. amazonensis* apresenta um maior investimento em crescimento vegetativo e menor investimento em heterócitos num meio com a macrófita *P. stratiotes* do que inoculada no meio com a macrófita *S. auriculata*, uma vez que *C. amazonensis* foi isolada a partir da raízes de *P. stratiotes* e pode estar adaptada à interação com a espécie de macrófita, sendo assim, apresenta um maior investimento em crescimento vegetativo do que em heterócitos para a fixação de nitrogênio.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Linhagens de cianobactérias heterocitadas

Cronbergia amazonensis UFLA 01 foi isolada a partir das raízes da macrófita aquática *Pistia stratiotes*, coletada no reservatório da Usina Hidrelétrica do Funil, localizada no estado de Minas Gerais, Brasil (21° 8 '36.45 "S, 45° 2' 11.12" W), e faz parte da Coleção de Culturas de Cianobactérias Filamentosas da UFLA (CCF-UFLA). *C. amazonensis* é uma cianobactéria filamentosa, heterocitada, com heterócitos polares, filamentos curtos e que pode formar acinetos como células de resistência (Pimenta *et al.*, 2025). Além disso, *C. amazonensis* pode estabelecer relações epifíticas com macrófitas, como a utilizada no presente estudo (Pimenta *et al.*, 2025), ou ter hábitos planctônicos (Genuário; Sant'Anna; Melo, 2018).

Para observar o efeito do consórcio com outra cianobactéria em *C. amazonensis*, foi selecionada a linhagem *Desmonostoc* sp. UFLA 12. *Desmonostoc* sp. UFLA 12 foi isolada das raízes da macrófita aquática *S. auriculata* que foi coletada na região sudeste do Brasil (21°08'56S, 44°52'53W) (*see in* Pimenta *et al.*, 2021). As linhagens de *Desmonostoc* sp. UFLA 12 têm heterócitos terminais e intercalares e formam longos filamentos cercados por uma bainha mucilaginosa. Os filamentos de *Desmonostoc* sp. UFLA 12 não são densamente enrolados com tricomas compactos como em *Nostoc* (Nostocales). Além disso, os acinetos podem ser diferenciados em cadeias longas como uma forma de resistência (Hrouzek *et al.*, 2013).

2.2 Obtenção do inóculo

Cada linhagem de cianobactéria foi repicada em 50 placas de petri contendo meio BG11₀ sólido (Allen, 1968) e mantida por 60 dias crescendo em bancada sob luz fluorescente e fotoperíodo de 12 horas. Após o período de 60 dias, foi feita a raspagem da biomassa de cianobactérias que cresceu nas placas de petri. O material raspado de cada linhagem foi transferido para beakers contendo 1 L de meio BG11₀ líquido e homogeneizado utilizando seringas de 20 ml. Após a homogeneização, o material foi transferido para tubos Falcon de 50 ml e passou por processo de centrifugação com ciclo de 5000 rpm por cinco minutos. O pellet obtido de cada linhagem foi homogeneizado e ressuspendido em 2,5 L de meio BG11₀ líquido e o sobrenadante foi descartado. Após o período de três dias, que corresponde ao período de crescimento logarítmico das culturas, foi feita a análise de densidade óptica de cada cianobactéria utilizando espectrofotômetro (SHIMADZU UV-1800). Os valores obtidos foram de 0,2 por ml para *C. amazonensis* e 0,236 por ml para *Desmonostoc* sp. UFLA 12 (Figura 1).

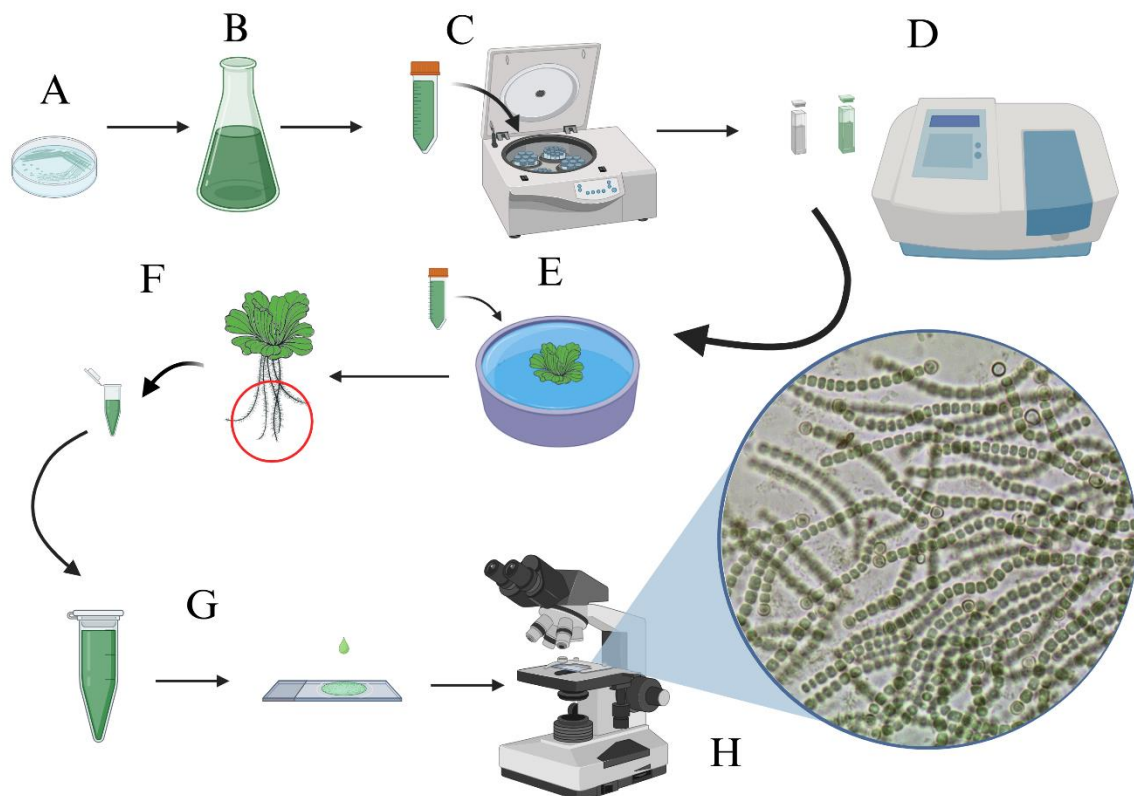
2.3 Experimento em casa de vegetação

Para observar o efeito da espécie de macrófita em que *C. amazonensis* estabelece relação epifítica, *C. amazonensis* foi inoculada em meio com duas espécies de macrófitas, *Pistia stratiotes* L. (Araceae) e *Salvinia auriculata* Aubl. (Salvinaceae). As rosetas de *P. stratiotes* foram coletadas no reservatório artificial de resíduos dos tanques de piscicultura da Universidade Federal de Lavras (21°13'51.0"S 44°59'15.2"W), Lavras, sul de Minas Gerais, sudeste do Brasil. Já os rametes de *S. auriculata* foram coletados em uma lagoa permanente próxima a Macaia (21°08'56"S, 44°52'53"W), distrito de Bom Sucesso, oeste de Minas Gerais, sudeste do Brasil.

Após coletadas, as macrófitas foram lavadas para a retirada da matéria orgânica e algas, e aclimatadas em casa de vegetação com sombrite de 30% por sete dias. Após a aclimação, foram selecionadas oito rosetas de *P. stratiotes* e oito rametes de *S. auriculata* que apresentavam dimensões próximas e que estavam com aparência saudável. As raízes das plantas selecionadas foram lavadas com água destilada, para a retirada do máximo possível de outras algas e cianobactérias que poderiam estar presentes. Uma roseta e um ramete de cada espécie foram colocados cada um em uma bacia com 1,5 L de solução de Hoagland (Hoagland; Arnon, 1950) a 5% da força iônica, para manter as plantas vivas, e 15 ml de inóculo de cada linhagem de cianobactéria, totalizando 16 bacias (Figura 1). O experimento foi conduzido em casa de vegetação.

O experimento consistiu em quatro tratamentos com quatro réplicas cada: *C. amazonensis* inoculada em meio com *P. stratiotes* (PC) (Figura 2A), *C. amazonensis* em consórcio com *Desmonostoc* sp. inoculada em meio com *P. stratiotes* (PCO) (Figura 2B), *C. amazonensis* inoculada em meio com *S. auriculata* (SC) (Figura 2C) e *C. amazonensis* em consórcio com *Desmonostoc* sp. inoculada em meio com *S. auriculata* (SCO) (Figura 2D). O experimento teve a duração de 15 dias, com a coleta realizada no último dia do experimento. Para coletar as cianobactérias perifíticas, as raízes das macrófitas foram espremidas, o líquido espremido e pedaços das raízes foram armazenados em Eppendorfs contendo solução fixadora Transeau na proporção de 1:1. Os Eppendorfs foram mantidos em abrigo da luz. A partir do material fixado, foram feitas duas lâminas para cada réplica com uma gota cada, e a partir de cada lâmina, foram fotografados 30 filamentos de *C. amazonensis* utilizando microscópio óptico (Olympus U-CMAD3) com câmera acoplada e aumento de 400 vezes, totalizando 960 filamentos fotografados (Figura 1).

Figura 1– Esquema mostrando partes do método.

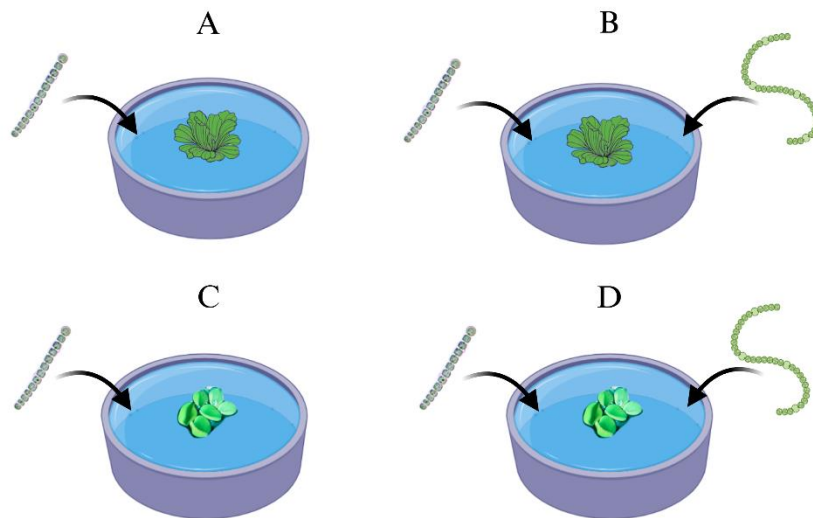


Legenda: (A) Raspagem da biomassa de cianobactérias formada nas placas de petri. (B) Transferência do material raspado para 1 litro de meio BG11₀ líquido. (C) O material foi transferido para tubos falcon, centrifugado e o pellet foi ressuspendido em 2,5 L de meio novamente, formando o inóculo. (D) Uma amostra do inóculo foi coletada para medir a densidade óptica utilizando um

espectrofotômetro. (E) Uma roseta ou um ramete de cada espécie foram colocados cada um em uma bacia com 1,5 L de solução de Hoagland a 5% da força iônica e 15ml de inóculo de cada linhagem de cianobactéria. (F) As raízes das macrófitas foram espremidas, o líquido espremido e pedaços das raízes foram armazenados em Eppendorfs contendo solução fixadora Transeau. (G) Foram feitas lâminas com uma gota do material armazenado. (H) As lâminas foram observadas em microscópio óptico. Este esquema foi criado utilizando o Biorender e o Canva.

Fonte: A autora (2025).

Figura 2 – Esquema mostrando partes do método.



Legenda: (A) *Cronbergia amazonensis* inoculada sozinha em meio com *Pistia stratiotes*. (B) *Cronbergia amazonensis* inoculada em consórcio com *Desmonostoc* sp. em meio com *Pistia stratiotes*. (C) *Cronbergia amazonensis* inoculada sozinha em meio com *Salvinia auriculata*. (D) *Cronbergia amazonensis* inoculada em consórcio com *Desmonostoc* sp. em meio com *Salvinia auriculata*. Este esquema foi criado utilizando o Biorender e o Canva.

Fonte: A autora (2025).

2.4 Coleta de dados

A partir dos filamentos fotografados, foram feitas a contagem das células vegetativas, heterócitos e medidas do comprimento do filamento, comprimento dos diâmetros polar e equatorial do heterócito e área do heterócito utilizando o software ImageJ 1.45s.

2.5 Análises estatísticas

Para avaliar o efeito dos tratamentos no comportamento dos filamentos de *C. amazonensis*, foram obtidas como variáveis resposta a média do comprimento do filamento, o número de heterócitos, o número de células vegetativas, a proporção do número de heterócitos

pelo número de células vegetativas, as médias dos diâmetros polar e equatorial dos heterócitos e a média da área dos heterócitos. Os tratamentos foram as variáveis preditoras dos testes estatísticos. Foram realizados testes para verificar se os dados atendiam aos pressupostos do teste de análise de variância (ANOVA). Com os dados que atenderam aos pressupostos, foi feita uma análise de variância de uma via (ANOVA – *one way*) e o *post-hoc* de Tukey HSD. Com os dados que não atenderam aos pressupostos, foi feito o teste estatístico de Kruskal-Wallis e *post-hoc* de Dunn. Os dados foram analisados utilizando o software R 4.3.0.

3 RESULTADOS

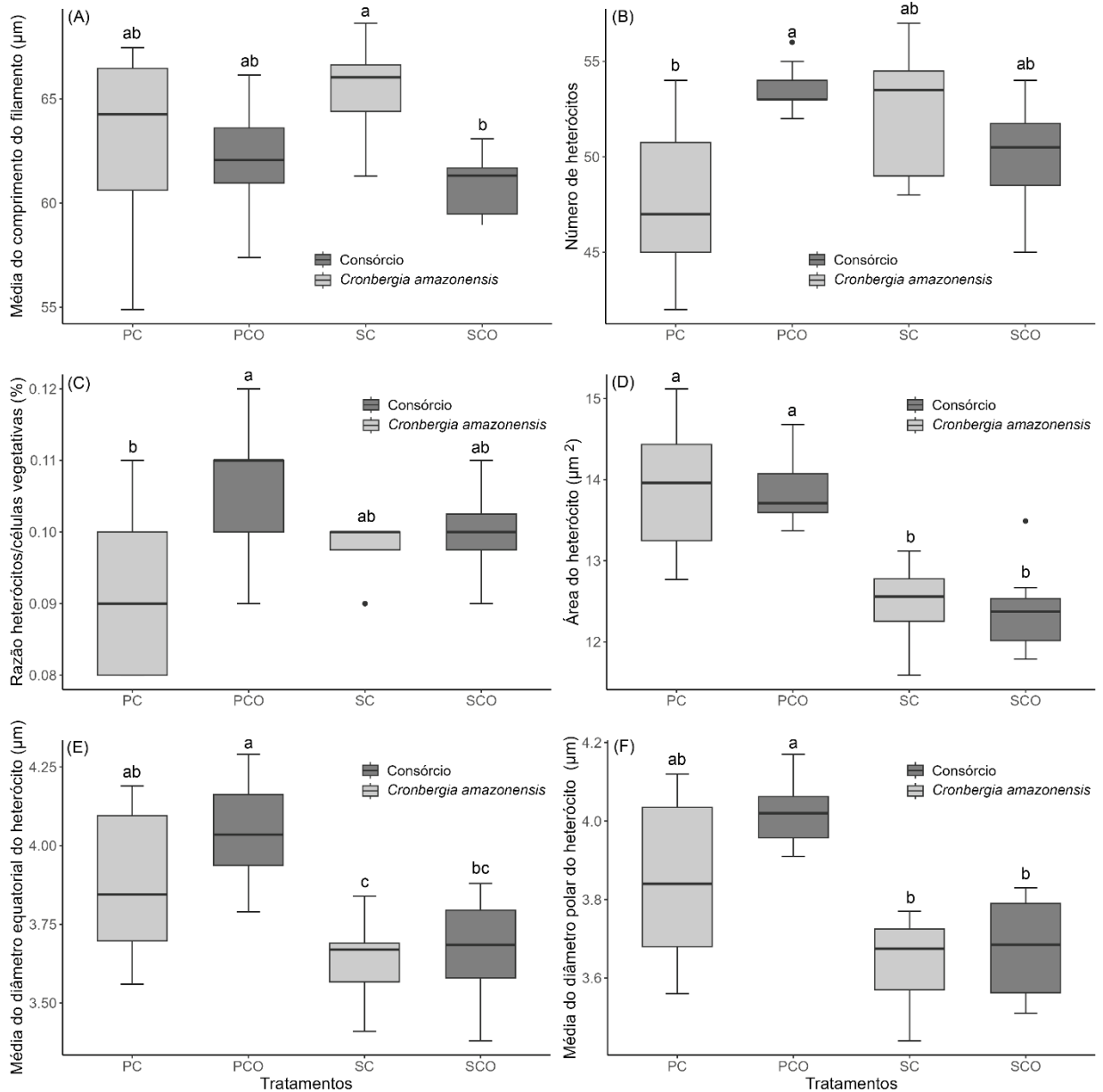
O comprimento dos filamentos de *C. amazonensis* foi afetado pela presença de *Desmonostoc* sp. somente no meio com *S. auriculata* (KW = 9,25, dF = 3; p = 0,02), sendo maiores no tratamento SC (*C. amazonensis* inoculada sozinha em meio com *S. auriculata*) comparado ao SCO (*C. amazonensis* inoculada em consórcio com *Desmonostoc* sp. em meio com *S. auriculata*) (Figuras 4C e 4D). Em interação com *P. stratiotes*, o comprimento dos filamentos de *C. amazonensis* não foi afetado pela presença de *Desmonostoc* sp. e não diferiu entre os tratamentos de interação apenas com as macrófitas. (Figura 3A). O número de células vegetativas não diferiu significativamente entre os tratamentos (F = 2,46; p = 0,08).

Com relação ao investimento em heterócitos, a produção de heterócitos variou entre os tratamentos com inoculação de *C. amazonensis* sozinha e em consórcio em meio com *P. stratiotes* (PC e PCO), sendo uma maior produção de heterócitos observada no consórcio (KW = 8,73; dF = 3; p = 0,03). Não houve variação entre a inoculação do consórcio e a inoculação de *C. amazonensis* sozinha em meio com *S. auriculata* (SC e SCO) e nem entre tratamentos que variaram a espécie de macrófita (SC e PC; SC e PCO; SCO e PC; SCO e PCO) (Figura 3B). A razão entre o número de heterócitos e o número às células vegetativas apresentou resultados semelhantes ao relacionado ao número de heterócitos (KW = 7,97; dF = 3; p = 0,04), sendo que *C. amazonensis* apresentou uma proporção maior de heterócitos quando inoculada em consórcio com *Desmonostoc* sp. em meio com *P. stratiotes* (PCO) do que em *C. amazonensis* inoculada sozinha em meio *P. stratiotes* (PC) (Figura 3C), os outros tratamentos não apresentaram diferenças.

A área dos heterócitos de *C. amazonensis* variou significativamente entre os tratamentos com espécies diferentes de macrófitas, mas não entre a inoculação de *C. amazonensis* sozinha e em consórcio com *Desmonostoc* sp. UFLA 12 (KW = 21,18; p < 0,01). Os tratamentos de *C. amazonensis* inoculada sozinha (PC), e em consórcio com *Desmonostoc*

sp. UFLA 12 em meio com *P. stratiotes* (PCO) apresentaram heterócitos maiores do que os tratamentos com inoculação de *C. amazonensis* inoculada sozinha (SC) e em consórcio com *Desmonostoc* sp. UFLA 12 em meio com *S. auriculata* (SCO) (Figuras 3D e 4A-D). O diâmetro equatorial do heterócito apresentou diferenças significativas entre os tratamentos ($F = 8,75$; $p < 0,01$), sendo maior no tratamento de *C. amazonensis* inoculada em consórcio com *Desmonostoc* sp. em meio com *P. stratiotes* (PCO) do que no tratamento de *C. amazonensis* inoculada tanto sozinha (SC) quanto consórcio em meio com *S. auriculata* (SCO). Além disso, no tratamento de *C. amazonensis* inoculada sozinha em meio com *P. stratiotes* (PC), o diâmetro equatorial do heterócito foi maior do que no tratamento de *C. amazonensis* inoculada sozinha em meio com *S. auriculata* (SC) (Figura 3E). Quanto ao diâmetro polar dos heterócitos, suas médias foram diferentes entre os tratamentos (KW = 12,68; dF = 3; $p < 0,01$), sendo maior no tratamento de *C. amazonensis* inoculada em consórcio em meio com *P. stratiotes* (PCO) do que no tratamento de *C. amazonensis* inoculada tanto sozinha (SC) quanto em consórcio em meio com *S. auriculata* (SCO) e não houve diferença entre os tipos de inóculos (*C. amazonensis* sozinha ou em consórcio com *Desmonostoc* sp. UFLA12) inoculados em meio com a mesma macrófita (PC = PCO; SC = SCO) (Figura 4F).

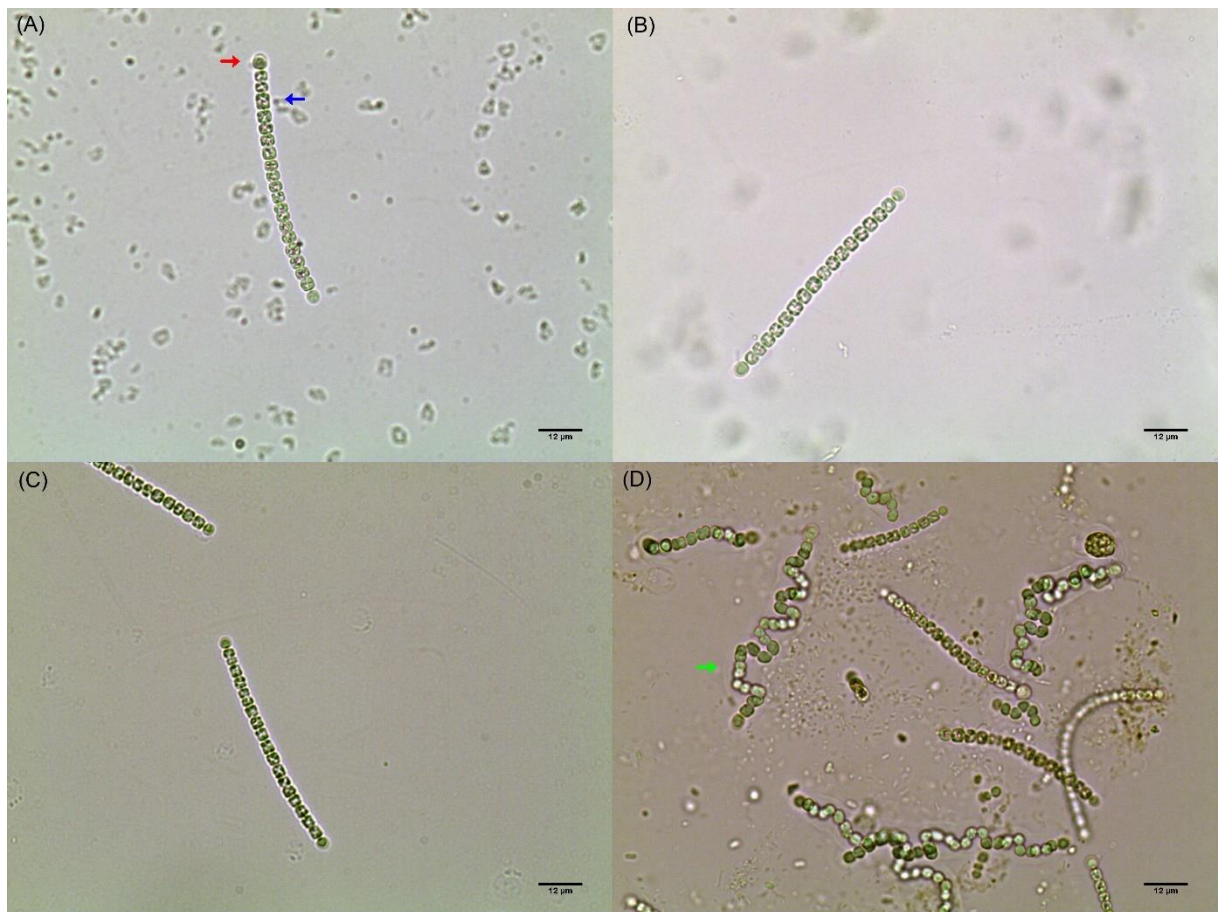
Figura 3 – Efeitos sobre o comprimento dos filamentos e investimento em heterócitos de *C. amazonensis* inoculada sozinha em meio com *P. stratiotes* (PC), *C. amazonensis* inoculada em consórcio com *Desmonostoc* sp. em meio com *P. stratiotes* (PCO), *C. amazonensis* inoculada sozinha em meio com *S. auriculata* (SC) e *C. amazonensis* inoculada em consórcio com *Desmonostoc* sp. em meio com *S. auriculata* (SCO).



Legenda: (A) Média do tamanho do filamento de *C. amazonensis*. (B) Número de heterócitos produzidos por *C. amazonensis*. (C) Razão entre heterócitos e células vegetativas de *C. amazonensis*. (D) Área dos heterócitos de *C. amazonensis*. (E) Média do diâmetro equatorial dos heterócitos de *C. amazonensis*. (F) Média do diâmetro polar do heterócito de *C. amazonensis*. As letras minúsculas representam a comparação entre os tratamentos, letras diferentes indicam que houve diferença significativa entre os tratamentos, letras iguais, indicam que não houve diferença significativa entre os tratamentos. Nível de significância de $p \leq 0,05$.

Fonte: A autora (2025)

Figura 4 – Filamentos de *C. amazonensis* nos diferentes tratamentos.



Legenda: (A) Filamento de *C. amazonensis* no tratamento com inoculação de *C. amazonensis* sozinha em meio com a presença de *P. stratiotes*. A seta vermelha indica um heterócito e a seta azul indica uma célula vegetativa. (B) Filamento de *C. amazonensis* no tratamento com inoculação de *C. amazonensis* em consórcio com *Desmonostoc* sp. em meio com a presença de *P. stratiotes*. (C) Filamento de *C. amazonensis* no tratamento com inoculação de *C. amazonensis* sozinha em meio com a presença de *S. auriculata*. (D) Filamento de *C. amazonensis* no tratamento com inoculação de *C. amazonensis* em consórcio com *Desmonostoc* sp. em meio com a presença de *S. auriculata*, a seta verde indica a bainha de mucilagem de *Desmonostoc* sp. A barra de escala é de 12 µm.

Fonte: A autora (2025).

4 DISCUSSÃO

A cianobactéria heterocitada *C. amazonensis* UFLA01 exibiu plasticidade morfológica em interação com as duas espécies de macrófitas, bem como em consórcio com a cianobactéria *Desmonostoc* sp. UFLA 12. As cianobactérias são amplamente reconhecidas por sua alta plasticidade adaptativa, permitindo-lhes colonizar uma vasta gama de ambientes ao redor do planeta (Wilkinson, 1992; Makhalyane *et al.*, 2015; Fávares; Nascimento; Coelho, 2021; Mehda *et al.*, 2021; Pimenta *et al.*, 2021; Pushkareva *et al.*, 2024; Pimenta *et al.*, 2025).

Essa adaptabilidade reforça a capacidade das cianobactérias de ajustar sua estrutura e funcionamento em resposta a diferentes condições ambientais e interações biológicas.

C. amazonensis apresentou heterócitos maiores quando inoculada no meio contendo *P. stratiotes*, independentemente da presença de outra cianobactéria (Figuras 3D e 4A-D). Isso não corrobora a hipótese de que, por ter sido isolada a partir de raízes de *P. stratiotes* e devido à interação epifítica que ocorre no ambiente natural, *C. amazonensis* apresentaria um menor investimento em heterócitos, já estando adaptada às condições fornecidas pela interação epifítica. Essa discrepância pode ter relação com a diferença na composição do meio utilizado no experimento, que continha apenas a quantidade necessária de nitrogênio para manter a macrófita viva até o final do experimento, e o ambiente natural.

No ambiente natural, *P. stratiotes* é encontrada em locais eutróficos (Munyati, 2015; Chadli *et al.*, 2023), onde há grandes quantidades de nitrogênio disponível. Nesses locais, *C. amazonensis* pode produzir heterócitos menores ou até mesmo não produzir heterócitos, uma vez que a produção de heterócitos é geralmente desencadeada pela privação de nitrogênio no meio (Pimenta *et al.*, 2021; Pimenta *et al.*, 2025). Esta análise evidencia a importância de considerar as condições experimentais e ambientais ao estudar a morfologia e a funcionalidade dos heterócitos em diferentes cianobactérias.

Ao comparar as macrófitas aquáticas utilizadas como substrato para cianobactérias neste estudo, é possível inferir que a *P. stratiotes* requer, geralmente, maiores quantidades de nitrogênio em comparação com a *S. auriculata*, devido à sua maior biomassa e elevada capacidade de acumular nutrientes (Schwantes *et al.*, 2019). No entanto, a eficiência na absorção de nutrientes pode variar conforme os fatores ambientais, como a concentração inicial de nutrientes e a competição com outras espécies presentes no ambiente. Dado que a *P. stratiotes* apresenta uma demanda nutricional superior à de *S. auriculata*, essa característica pode justificar o aumento observado no tamanho dos heterócitos de *C. amazonensis* quando inoculada no meio com a macrófita *P. stratiotes*, em comparação à *S. auriculata*.

C. amazonensis apresentou um maior investimento na produção de heterócitos em consórcio com *Desmonostoc* sp. e em associação com a macrófita *P. stratiotes*. Isso pode ter ocorrido devido a competição entre os três organismos. Esse resultado corrobora com a hipótese de que *C. amazonensis* inoculada em consórcio com *Desmonostoc* sp. num meio com a macrófita *P. stratiotes* apresenta um maior investimento em heterócitos. É provável que o aumento na proporção de heterócitos observado em *C. amazonensis* reflita uma resposta adaptativa a essa competição, otimizando a FBN e, conseqüentemente, suprindo as demandas metabólicas frente à limitação de recursos (Dextro; Moutinho; Nordi, 2018; Pimenta *et al.*,

2021). A competição entre cianobactérias e plantas aquáticas exerce um impacto significativo na disponibilidade de recursos essenciais, como luz, nutrientes e espaço (Mohamed, 2017). Estudos mostram que fatores ambientais, como a disponibilidade de nutrientes, influenciam diretamente a formação de heterócitos em cianobactérias (Dextro; Moutinho; Nordi, 2018; Pimenta *et al.*, 2021; Pimenta *et al.*, 2025) e diferentes espécies de cianobactérias e plantas aquáticas frequentemente competem por luz e nutrientes (Švanys; Paškauskas; Hilt, 2014; Gao *et al.*, 2015; Wijewardene *et al.*, 2022).

Além da formação de mais heterócitos, houve também variação no tamanho dessas células. Meeks e Elhai (2002) destacaram que *Anabaena azollae* (Nostocales) e *Nostoc* sp. (Nostocales) em associação com a macrófita *Azolla* sp. (Salvinaceae) apresentam células vegetativas maiores, e, como heterócitos são produzidos a partir da diferenciação de células vegetativas, o tamanho dos heterócitos também é maior do que células vegetativas e heterócitos de vida livre. Embora o tamanho dos heterócitos não seja frequentemente destacado na literatura, o tamanho dessas células especializadas pode influenciar a eficiência da FBN. Células maiores podem ter mais espaço para conteúdo celular, como a nitrogenase, que é essencial para a fixação de nitrogênio (Bustos-Díaz; Barona-Gómez; Cibrián-Jaramillo, 2019).

Em adição, podemos fazer um paralelo entre acinetos e heterócitos, os acinetos possuem dimensões celulares maiores justamente para comportar reservas e ácidos nucleicos suficientes para a persistência, e, posteriormente, a germinação (Sukenic; Rücker; Maldener, 2019). Desse modo, podemos inferir que heterócitos maiores conseguem comportar mais material celular, assim como os acinetos.

O mecanismo de fixação de nitrogênio envolve a transferência de elétrons da subunidade Fe-proteína para a MoFe-proteína, que associado ao consumo de ATP, fornece o poder redutor necessário para converter N_2 (gás nitrogênio) em NH_3 (amônia) (Tokmina-Lukaszewska *et al.*, 2023). Nesse sentido, a atividade e a eficiência da nitrogenase podem ser afetadas pelas concentrações locais dessas proteínas. Assim, volumes celulares maiores, que permitem uma quantidade maior de nitrogenase, podem potencialmente aumentar as taxas de fixação de nitrogênio.

A respeito do tamanho dos filamentos, *C. amazonensis* apresentou redução no tamanho dos filamentos quando em consórcio com *Desmonostoc* sp. e inoculada no meio contendo *S. auriculata*. Isso corrobora com a hipótese de que *C. amazonensis* inoculada sozinha em um meio com a macrófita *S. auriculata* apresenta um maior investimento em crescimento vegetativo do que em consórcio com *Desmonostoc* sp. (Figuras 4C e 4D). Essa

redução no tamanho do filamento pode se relacionar com possíveis vantagens que *Desmonostoc* sp. UFLA12 tem por ter sido encontrada como epifítica às raízes de *S. auriculata* em ambiente natural (Pimenta *et al.*, 2021). Ao apresentar uma relação ecológica com esta macrófita, a cianobactéria pode ter seu crescimento e proliferação favorecidos no meio, tornando-se melhor competidora com maior crescimento vegetativo e, conseqüentemente, maior área fotossintética. Além disso, a linhagem *Desmonostoc* sp. UFLA 12 pode formar longos filamentos cobertos com uma bainha de mucilagem (camada de exopolissacarídeos) (Figura 4D) (Hrouzek *et al.*, 2013), o que pode favorecer o estabelecimento da relação com *S. auriculata*, ao contrário de *C. amazonensis*, que apresenta filamentos curtos e sem bainha de mucilagem (Pimenta *et al.*, 2025). Desse modo, a relação epifítica já estabelecida naturalmente entre a linhagem *Desmonostoc* sp. UFLA 12 com *S. auriculata* e suas características morfológicas, podem ter fornecido vantagens sobre *C. amazonensis*, que ficou com menos espaço e menos recursos, tendo o seu crescimento comprometido.

Em conclusão, os achados do presente estudo demonstram que a plasticidade morfológica, aqui representada por alterações na morfometria do filamento e na diferenciação celular em heterócitos, pode ser moldada pela interação entre espécies (Gray *et al.*, 2021). Em adição, sugere-se que a capacidade de *C. amazonensis* em colonizar o habitat aquático tanto na forma fitoplantônica (Genuário; Sant'Anna; Melo, 2018), quanto epifítica (Pimenta *et al.*, 2025), pode ser resultado de pressões seletivas que produziram características plásticas em seu fenótipo.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, M.M. Simple conditions for growth of unicellular blue-green algae on plates. **Journal of Phycology**, v. 4, p. 1-4, 1968. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1968.tb04667.x>
- BUSTOS-DÍAZ, E. D.; BARONA-GÓMEZ, F; CIBRIÁN-JARAMILLO, A. Cyanobacteria in nitrogen-fixing symbioses. In: MISHRA, A. K.; TIWARI, D. N.; RAI, A. N. (Eds). **Cyanobacteria: From Basic Science to Applications**. London, UK: Academic Press, p. 29-42, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814667-5.00002-7>
- CHADLI, C. *et al.* Experimental control tests of *Pistia stratiotes* L., an invasive aquatic plant of lentic habitats (Fez, Morocco). **Scientific African**, v. 21, e01775, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e01775>
- DEXTRO, R. B.; MOUTINHO, F. H. M.; NORDI, C. S. F. Growth and special structures production of *Nostoc paludosum* (Nostocaceae, Cyanobacteria) under nutrient starvation and different light intensities. **Revista Ambiente & Água**, v. 13, n. 6, p. 1-16, 2018. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2191>
- FÁVARO, A.; NASCIMENTO, A. G.; COELHO, F. F. Urban environmental influences on heterocyst investment in *Leptogium cyanecens* (Collemataceae). **Nova Hedwigia**, v. 113, n. 1-2, p. 259-277, 2021. https://doi.org/10.1127/nova_hedwigia/2021/0644
- FISCHER, W. W.; HEMP, J.; VALENTINE, J. S. How did life survive earth's great oxygenation? **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 31, p. 166-178, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2016.03.013>
- FLOMBAUM, P. *et al.* Present and future global distributions of the marine Cyanobacteria *Prochlorococcus* and *Synechococcus*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, p. 9824-9829, 2013. <https://doi.org/10.1073/pnas.1307701110>
- FONSECA, I. A.; RODRIGUES, L. Cianobactérias perifíticas em dois ambientes lênticos da planície de inundação do alto rio paraná, PR, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n. 4, p. 821-834, 2005. <https://doi.org/10.1590/s0100-84042005000400016>
- GANIE, A. *et al.* Phenotypic plasticity: cause of the successful spread of the genus *Potamogeton* in the Kashmir Himalaya. **Aquatic Botany**, v. 120, p. 283-289, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2014.09.007>
- GAO, H. *et al.* The possible allelopathic effect of *Hydrilla verticillata* on phytoplankton in nutrient-rich water. **Environmental Earth Sciences**, v. 73, p. 5141-5151, 2015. <https://doi.org/10.1007/s12665-015-4316-8>
- GAYSINA, L.A.; SARAF, A.; SINGH P. Cyanobacteria in diverse habitats. In: MISHRA, A. K.; TIWARI, D. N.; RAI, A. N. (Eds). **Cyanobacteria: From Basic Science to Applications**. Academic Press, p. 1-28, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814667-5.00001-5>
- GENUÁRIO, D. B.; SANT'ANNA, C. L.; MELO, I. S. 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. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.11.034>

GRAY, C. *et al.* Ecological plasticity governs ecosystem services in multilayer networks. **Communications Biology**, v. 4, 2021. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01547-3>

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water-culture method for growing plants without soil. **Circular. California agricultural experiment station**, v. 347, ed. 2, 1950.

HROUZEK, P. *et al.* Description of the cyanobacterial genus *Desmonostoc* gen. nov. including *D. muscorum* comb. nov. as a distinct, phylogenetically coherent taxon related to the genus *Nostoc*. **Fottea**, v.13, n. 2, p. 201-213, 2013. <https://doi.org/10.5507/fot.2013.016>

JUSTICE, S. *et al.* Morphological plasticity as a bacterial survival strategy. **Nature Reviews Microbiology**, v. 6, p.162–168, 2008. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1820>

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

KUMAR, U. *et al.* Cyanobiont diversity in six *Azolla* spp. and relation to *Azolla*-nutrient profiling. **Planta**, v. 249, p. 1435-1447, 2019. <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03093-7>

MAKHALANYANE, T.P. *et al.* Ecology and biogeochemistry of cyanobacteria in soils, permafrost, aquatic and cryptic polar habitats. **Biodiversity and Conservation**, v. 24, p. 819-840, 2015. <https://doi.org/10.1007/s10531-015-0902-z>

MEEKS, J. C. *et al.* Cellular differentiation in the cyanobacterium *Nostoc punctiforme*. **Archives of Microbiology**, v. 178, n. 6, p. 395-403, 2002. <https://doi.org/10.1007/s00203-002-0476-5>

MEEKS, J. C.; ELHAI, J. Regulation of cellular differentiation in filamentous cyanobacteria in free-living and plant-associated symbiotic growth states. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 66, p. 94-121, 2002. <https://doi.org/10.1128/mubr.66.1.94-121.2002>

MEHDA, S. *et al.* Microenvironmental conditions drive the differential cyanobacterial community composition of biocrusts from the Sahara desert. **Microorganisms**, v. 9, n. 3, 487, p. 1-27, 2021. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030487>

MOHAMED, Z. A. Macrophytes-cyanobacteria allelopathic interactions and their implications for water resources management—A review. **Limnologia**, v. 63, p. 122-132, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2017.02.006>

MOHLIN, M. *et al.* Interspecific resource competition—Combined effects of radiation and nutrient limitation on two diazotrophic filamentous cyanobacteria. **Microbial Ecology**, v. 63, p. 736-750, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00248-011-9964-y>

MUNYATI, C. A spatial analysis of eutrophication in dam reservoir water on the Molopo River at Mafikeng, South Africa. **Sustainability of Water Quality and Ecology**, v. 6, p. 31-39, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.swaqe.2015.01.005>

PAPAEFTHIMIOU, D. *et al.* Diversity and host specificity of *Azolla* cyanobionts. **Journal of Phycology**, v. 44, p. 60-70, 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2007.00448.x>

PIMENTA, L. L. *et al.* Epiphytic cyanobacterial strains in the roots of *Salvinia auriculata* and the effect of light and nutrients on the production of heterocyte, akinete and hormogonia. **Aquatic Ecology**, v. 56, p. 543-553, 2021. <https://doi.org/10.1007/s10452-021-09922-w>

PIMENTA, L. L. *et al.* First report of *Cronbergia amazonensis* (Nostocales, Cyanobacteriota), epiphytic on the roots of *Pistia stratiotes*. **Algal Research**, v. 85, 103883, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2024.103883>

PUSHKAREVA, E. *et al.* Microbial community composition of terrestrial habitats in east antarctica with a focus on microphototrophs. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1-10, 2024. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1323148>

SCHWANTES, D. *et al.* *Pistia stratiotes* in the phytoremediation and post-treatment of domestic sewage. **International Journal of Phytoremediation**, v. 21, n.7, p. 714-723, 2019. <https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1556591>

SUKENIK, A.; RÜCKER, J.; MALDENER, I. Dormant cells (akinetes) of filamentous cyanobacteria demonstrate a great variability in morphology, physiology, and ecological function. In: MISHRA, A. K.; TIWARI, D. N.; RAI, A. N. (ed). **Cyanobacteria: From Basic Science to Applications**. Academic Press, p. 65-77, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814667-5.00004-0>

SULTAN, S.E. Phenotypic plasticity for plant development, function and lifehistory. **Trends in Plant Science**, v. 5, p. 537–542, 2000. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01797-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01797-0)

ŠVANYS, A.; PAŠKAUSKAS, R.; HILT, S. Effects of the allelopathically active macrophyte *Myriophyllum spicatum* on a natural phytoplankton community: a mesocosm study. **Hydrobiologia**, v. 737, p. 57-66, 2014. <https://doi.org/10.1007/s10750-013-1782-4>

TAN, X. *et al.* Effects of nitrogen on interspecific competition between two cell-size cyanobacteria: *Microcystis aeruginosa* and *Synechococcus sp.*. **Harmful Algae**, v. 89, 101661, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.101661>

TOKMINA-LUKASZEWSKA, M. *et al.* Fe protein docking transduces conformational changes to mofe nitrogenase active site in a nucleotide-dependent manner. **Communications Chemistry**, v. 6, 2023. <https://doi.org/10.1038/s42004-023-01046-6>

WIJEWARDENE, L. *et al.* Epiphytic biofilms in freshwater and interactions with macrophytes: current understanding and future directions. **Aquatic Botany**, v. 176, 103467, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2021.103467>

WILKINSON, C.R. Symbiotic interactions between marine sponges and algae. In: W., Reisser (Ed.), **Algae and Symbiosis, Plants, Animals, Fungi, Viruses**. Interactions Explored. Biopress LTD, Bristol: p. 112–151, 1992.

TERCEIRA PARTE

1 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O resultados deste estudo reforçam o papel fundamental da plasticidade fenotípica na capacidade adaptativa de *C. amazonensis*. A influência negativa da adição de carbono (glicose) na produção de heterócitos, bem como as respostas de estresse observadas, como a formação de acinetos e o desprendimento de heterócitos, evidenciam a sensibilidade da espécie ao desequilíbrio da razão carbono-nitrogênio. Apesar do estresse, a sobrevivência e o reestabelecimento das cianobactérias no tratamento com 1% de glicose ressaltam a capacidade adaptativa de *C. amazonensis*. Adicionalmente, a interação com outras espécies, incluindo macrófitas e a cianobactéria *Desmonostoc sp.*, demonstrou moldar características morfológicas e de diferenciação celular em *C. amazonensis*. Esses resultados sugerem que pressões seletivas e interações ambientais foram determinantes na evolução de estratégias que permitem a colonização de ambientes aquáticos, tanto na forma fitoplanctônica quanto epifítica. Dessa forma, este trabalho contribui para uma melhor compreensão dos mecanismos de adaptação e resiliência da espécie, destacando a importância de estudos futuros para aprofundar o conhecimento sobre os fatores que influenciam sua ecologia e biologia.