

DIVERSIDADE MOLECULAR DE PROTISTAS CILIADOS: DESAFIOS METODOLÓGICOS PARA IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES EM UMA PLANÍCIE DE INUNDAÇÃO NEOTROPICAL

Gustavo Timóteo Vinhaes Silva (PIBIC/CNPq), Matheus Henrique de Oliveira de Matos (Coorientador), Luiz Felipe Machado Velho (Orientador). E-mail: ra131322@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Ciências Biológicas, Ecologia de Ecossistemas.

Palavras-chave: Ecologia Microbiana; Diversidade; Plâncton.

RESUMO

A planície de inundação do alto rio Paraná é uma região de elevada relevância ecológica, reconhecida por sua alta biodiversidade. Neste estudo, foi realizado o levantamento da diversidade molecular das dez espécies de protistas mais representativas no plâncton local. As amostras de água foram coletadas em pontos específicos da planície, e as espécies selecionadas tiveram suas sequências nucleotídicas obtidas por meio da técnica de sequenciamento de Sanger. Como resultado, obteve-se a caracterização molecular dessas espécies, com o depósito das sequências geradas em bancos de dados especializados (ENA). Como avanços futuros, pretende-se comparar os dados obtidos com sequências já disponíveis em bases internacionais, a fim de verificar possíveis divergências das sequências obtidas na planície, a fim de ampliar o conhecimento sobre a diversidade desses organismos.

INTRODUÇÃO

Ecossistemas de água doce, como a planície de inundação do Rio Paraná, possuem uma alta diversidade de espécies, diversidade essa responsável pelo pleno funcionamento do ecossistema em questão (Wang et al., 2024). Dentre a diversidade aquática, os protistas ciliados planctônicos são um grupo diversificado de organismos unicelulares que desempenham um papel crucial em vários ecossistemas, como a decomposição da matéria orgânica e a transferência de energia para níveis tróficos superiores (Foissner, 1991).

Visto que os protistas ciliados são organismos microscópicos, a identificação das espécies pode ser um desafio, por conta da dificuldade na execução de técnicas ciliatológicas (Foissner, 1991). Diante deste exposto, as análises moleculares tornaram-se indispensáveis para aprimorar a compreensão da diversidade desses organismos. Observando-se isso, a combinação de diferentes técnicas taxonômicas, como métodos morfológicos tradicionais e análises moleculares, tem ajudado a preencher uma lacuna significativa no conhecimento sobre a diversidade de protistas

nas regiões neotropicais (Fernandes et al., 2021). Assim, a presente pesquisa teve como objetivo utilizar técnicas moleculares para o sequenciamento genômico das principais espécies planctônicas da planície de inundação do Rio Paraná.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo

O estudo foi conduzido no sistema rio-planície de inundação do alto rio Paraná, próximo à Base Avançada de Pesquisas do Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura (Nupélia), da Universidade Estadual de Maringá (UEM) destaca-se que este sistema é o último trecho livre de barramento ao longo do rio Paraná. Esta base está localizada na cidade de Porto Rico- PR (22°45'55"S, 53°15'26"W), na Área de Pesquisas Ecológicas de Longa Duração (PELD). As coletas foram realizadas trimestralmente, no período de um ano (2024-2025), sendo quatro coletas no ano.

Amostragem e análise laboratorial

As coletas de protistas ciliados foram feitas utilizando galões de 5L de água, coletados sobre a subsuperfície do ambiente. Após a coleta, as amostras foram concentradas em 100 mL, utilizando uma rede de plâncton de 10 micrômetros de abertura. Do total concentrado, cada amostra foi contada "in vivo" até o menor nível taxonômico possível conhecido, para subsequente análise molecular. Pelo menos 20 indivíduos das 10 espécies de protistas mais abundantes foram selecionados.

O material biológico obtido foi preservado e utilizado para a extração de DNA genômico total. Para a obtenção das sequências moleculares, foram escolhidos marcadores do RNA ribossômico 18S (SSU rDNA). As sequências obtidas foram editadas e alinhadas, utilizando o software *BioEdit*. Por fim, as sequências obtidas foram depositadas no ENA para disponibilização e futura comparação com outros estudos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o estudo, as 10 morfoespécies selecionadas para triagem e sequenciamento molecular foram: *Stentor roeselii*, *Coleps hirtus*, *Euplotes eurytomus*, *Vorticella campanula*, *Aspidisca* sp., *Lembadion* sp., *Colpoda steinii*, *Tetrahymena paravorax*, *Carchesium polypinum* e *Paramecium caudatum*, (Figura 1). A maior abundância, dentre todas as espécies selecionadas, foi registrada para a espécie *Carchesium polypinum*, com um total de 126 Ind.L-1. Dentre o total dessa abundância, grande parte dela foi registrada na Lagoa Ventura, uma lagoa fechada pertencente ao subsistema Ivinhema. A segunda espécie com maior abundância foi *Vorticella campanula*, com 125 Ind.L-1, com grande parte deste atributo registrado no Rio Ivinhema.

A análise de extração molecular forneceu a sequência das bases nitrogenadas de cada uma das espécies selecionadas. Estas sequências foram depositadas em

bancos de dados moleculares (ENA), disponível no seguinte domínio: <https://www.ebi.ac.uk/ena/browser/view/PRJEB26716>, sob o código ERP108725.

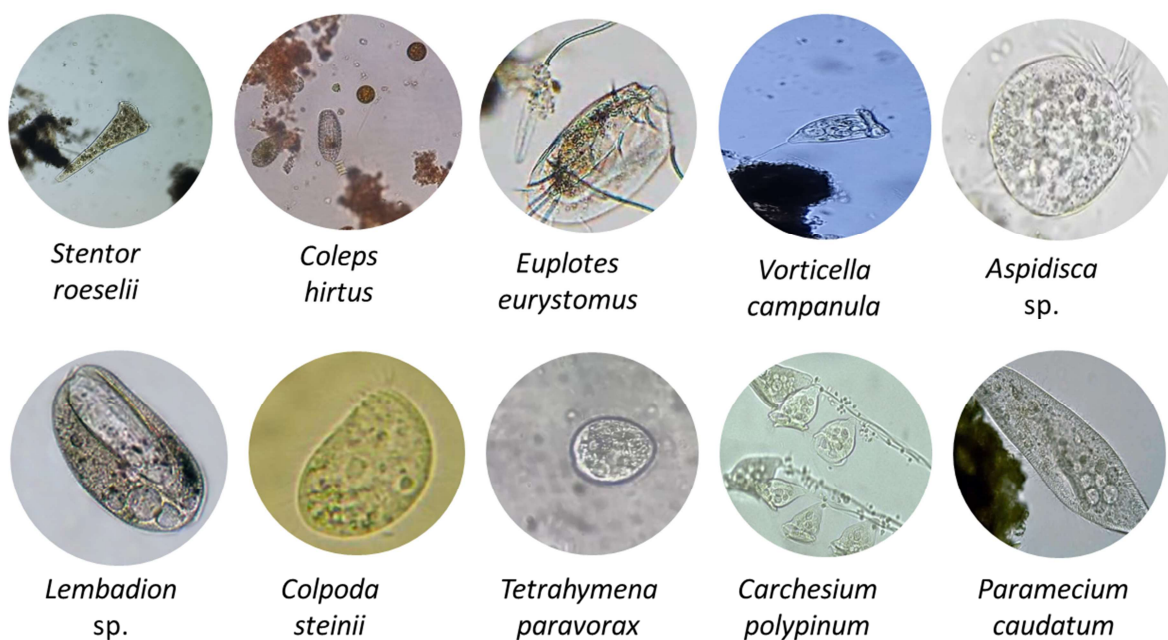


Figura 1 – Fotos *in-vivo* das 10 morfoespécies de protistas ciliados mais comuns da região planctônica que foram sequenciadas.

Este estudo evidencia os avanços no conhecimento sobre protistas ciliados, que passaram de caracterizações taxonômicas baseadas em observações *in-vivo* ao uso de ferramentas moleculares (Caron et al., 2012). Essas ferramentas são fundamentais para suprir lacunas na identificação desses organismos em ambientes de água doce, especialmente nos ambientes tropicais.

Apesar disso, ainda persistem desafios na identificação dos protistas ciliados planctônicos, decorrentes da sua alta diversidade, do tamanho reduzido e da escassez de especialistas na área (Weisse; Montagnes, 2022). Nesse contexto, análises moleculares assumem papel central na compreensão da diversidade real, permitindo detectar espécies que poderiam permanecer desconhecidas pelos métodos tradicionais (Acosta et al., 2024). A abordagem integrativa aqui empregada, que combina métodos morfológicos e moleculares, possibilitou, mesmo com um número limitado de espécies, a obtenção de sequências moleculares que podem permitir a real taxonomia da espécie.

Ressalta-se, contudo, que a maioria das informações moleculares disponíveis sobre protistas ainda provém de regiões do Hemisfério Norte (de Vargas et al., 2015), de modo que a ampliação de estudos em áreas tropicais pode revelar uma diversidade ainda maior quando comparada às sequências já descritas.

CONCLUSÕES

Este estudo demonstrou que o uso integrado de técnicas moleculares e morfológicas é fundamental para superar as limitações da identificação tradicional de protistas ciliados. As sequências obtidas e depositadas em bancos de dados ampliam o conhecimento sobre a biodiversidade em ecossistemas tropicais, contribuindo para comparações futuras e evidenciando a necessidade de expandir pesquisas nesse bioma ainda pouco explorado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, a meu Orientador, ao Laboratório de Protozooplâncton e à Fundação Araucária pelo financiamento dessa pesquisa.

REFERÊNCIAS

ACOSTA, Eduardo et al. Protist communities of microbial mats from the extreme environments of five saline Andean lagoons at high altitudes in the Atacama Desert. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, 2024.

CARON, David A. et al. Marine protistan diversity. **Annual review of marine science**, v. 4, p. 467-493, 2012.

DE VARGAS, Colomban et al. Eukaryotic plankton diversity in the sunlit ocean. **Science**, v. 348, n. 6237, p. 1261605, 2015.

FOISSNER, Wilhelm. Basic light and scanning electron microscopic methods for taxonomic studies of ciliated protozoa. **European Journal of Protistology**, v. 27, n. 4, p. 313-330, 1991.

WANG, Binhao et al. Global diversity, coexistence and consequences of resistome in inland waters. **Water Research**, v. 253, p. 121253, 2024.

WEISSE, Thomas; MONTAGNES, David JS. Ecology of planktonic ciliates in a changing world: concepts, methods, and challenges. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 69, n. 5, p. e12879, 2022.