



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E EVOLUÇÃO

MATTHEUS LUÍS ALVES SANTIAGO

**PERFIL GENÉTICO DA BIODIVERSIDADE DA BAÍA DE ARATU, BAHIA,
BRASIL: APLICAÇÃO DO *METABARCODING* DE DNA AMBIENTAL**

FEIRA DE SANTANA - BAHIA

2024

MATTHEUS LUÍS ALVES SANTIAGO

**PERFIL GENÉTICO DA BIODIVERSIDADE DA BAÍA DE ARATU, BAHIA,
BRASIL: APLICAÇÃO DO *METABARCODING* DE DNA AMBIENTAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ecologia e Evolução, Universidade Estadual de Feira
de Santana, como parte dos requisitos para a obtenção do
título de Mestre em Ecologia e Evolução.

ORIENTADOR: DR. EDDY JOSÉ FRANCISCO DE OLIVEIRA
COORIENTADORA: DRA. CONSUELO LIMA NAVARRO DE ANDRADE

FEIRA DE SANTANA - BAHIA

2024

Ficha catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteadó - UEFS

Santiago, Matheus Luís Alves

S226p Perfil genético da biodiversidade da Baía de Aratu, Bahia, Brasil:
aplicação do *metabarcoding* de DNA ambiental / Matheus Luís Alves
Santiago. - 2024.

113f.: il.

Orientador: Eddy José Francisco de Oliveira

Coorientador: Consuelo Lima Navarro de Andrade

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Feira de Santana.
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução, 2024.

1. Baía de Todos os Santos. 2. Conservação. 3. Monitoramento.
4. Biodiversidade. 5. DNA ambiental. 6. Metagenômica. I. Oliveira,
Eddy José Francisco de, orient. II. Andrade, Consuelo Lima Navarro de,
coorient. III. Universidade Estadual de Feira de Santana. Programa de
Pós-Graduação em Ecologia e Evolução. IV. Título.

CDU: 504

MATTHEUS LUÍS ALVES SANTIAGO

**PERFIL GENÉTICO DA BIODIVERSIDADE DA BAÍA DE ARATU, BAHIA,
BRASIL: APLICAÇÃO DO METABARCODING DE DNA AMBIENTAL**

Aprovada em: 26 de setembro de 2024.

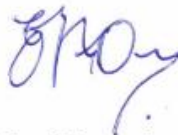
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. **Diogo Henrique Costa de Rezende**
Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS)



Prof. Dr. **Carolina Oliveira de Santana**
Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS)



Prof. Dr. **Eddy José Francisco de Oliveira**
Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS)
Orientador e Presidente da Banca

Ao meu pai Gustavo,
minha mãe Patrícia,
e minha irmã Maria Luiza.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução pela oportunidade de realizar esta pesquisa, que foi essencial para o meu desenvolvimento acadêmico e científico. Agradeço, também, aos professores do programa, cujas discussões e sugestões contribuíram de maneira significativa para o aprimoramento deste trabalho, ampliando minha visão crítica e fortalecendo a qualidade do projeto.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia, cujo apoio financeiro permitiu que eu me dedicasse à pesquisa e ao estudo. Universidade Estadual de Feira de Santana e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Ao professor Caio Graco do Laboratório de Ornitologia (ORNITO), cujas prosas no ponto de ônibus foram bastante enriquecedoras. Ao mesmo tempo, obrigado por toda paciência e suporte, você foi o melhor coordenador que a EcoEvol poderia ter.

Ao professor Rogério Mercês do Laboratório de Bioinformática (BIOINFO), pelo suporte e apoio. A sua estante magnética ajudou bastante, trouxe muita celeridade as minhas extrações de DNA, muito obrigado.

Ao professor Cássio van den Berg do Laboratório de Sistemática Molecular de Plantas (LAMOL), por disponibilizar o uso do NanoDrop para quantificação de DNA.

Ao professor Carlos Wallace do Laboratório de Ficologia (LAFICO), cujas discussões e sugestões contribuíram de maneira significativa para o aprimoramento deste trabalho.

Ao professor Alexandre Clistenes do Laboratório de Ictiologia e Pesca (ICTIO), pela parceria e apoio.

A Secretaria da Pós-Graduação Maria da Conceição, conhecida também como “Lyáh”, muito obrigado por toda ajuda! A senhora sempre paciente e atenciosa comigo, tanto em assuntos da EcoEvol, quanto em outros.

Aos colegas da EcoEvol, especialmente a turma 2022.1, obrigado pela amizade.

A todo grupo do Projeto de Pesquisa “Caracterização Molecular Avançada”, resolução CONSEPE 026/2018. Especialmente, Alexandre e Cleiton, obrigado pela amizade e companheirismo nas coletas.

A todos do Laboratório de Entomologia (LENT), especialmente Ednei, uma pessoa muito atenciosa e querida. Durante anos o LENT-E foi a minha segunda casa.

A todos do Laboratório de Microbiologia Ambiental e Saúde Pública (LAMASP), com vocês o dia-a-dia vira diversão. Obrigado pessoal!

A Lucas Alves, uma pessoa maravilhosa, que tenho a honra de chamar de amigo. Com você eu compartilhei momentos bons e ruins da vida, você é uma pessoa que tenho maior apreço e admiração, principalmente por ser essa pessoa guerreira.

A Aline Bergossi, obrigado por toda vivência e conselhos, pela sua amizade. Você é dona de uma áurea única. Obrigado por todo cuidado comigo, eu tenho um enorme carinho e respeito por você!

A Carolina de Santana, obrigado por toda paciência e suporte ao meu trabalho. Você é uma pessoa que admiro bastante, dona de uma inteligência e humildade surreal, muito obrigado por tudo, serei sempre grato a você!

A minha Coorientadora Consuelo, obrigado pela paciência, principalmente nos meus sumiços. Pelo seu lado humano incrível, suas correções foram sempre cirúrgicas, você agregou bastante ao nosso trabalho. Muito obrigado por tudo!

Ao meu Orientador Eddy, o que falar do senhor? Sou suspeito a dizer.. Sou um grande fã seu! Obrigado pela paciência comigo e pelo cuidado, você é o melhor mentor que eu poderia ter, é uma honra ser seu orientando, obrigado por me mostrar o quão maravilhoso é o mundo do eDNA. Torço que nós escrevamos muitas coisas ainda! Que venha agora o doutorado!

Aos meus amigos, que trouxeram muitas alegrias para mim, principalmente durante o fim do Mestrado, Enio, Kellinho, Renan, Ívina e Luan, obrigado! Vocês são incríveis!

A minha namorada, Rebeca, obrigado por chegar e trazer minha cabeça ao seu devido lugar, e por ser a melhor companhia para discutir sobre eDNA.

E pra fechar com chave de ouro! A minha família, meu pai Gustavo, minha mãe Patrícia, e minha irmã Luiza. Obrigado por me apoiarem, sempre estarem comigo nas horas difíceis, por terem paciência e nunca duvidarem de mim, vocês são a minha base. Por fim, agora vocês entenderão o que eu fiz durante esses anos, essa conquista é nossa! Amo vocês!

E eu que me atirava do abismo num pulo
Comecei a considerar o chão
Eu me segurei onde é mais absurdo
E a sorte segurou minha mão.

(Zimbra, 2022)

RESUMO GERAL

A Baía de Aratu, localizada na Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil, é uma enseada que abriga ecossistemas estuarinos e manguezais, conhecidos por sua alta biodiversidade e relevância socioeconômica. Esses ecossistemas desempenham um papel essencial na manutenção da saúde ambiental, servindo como áreas de reprodução e alimentação para diversas espécies marinhas. A baía sustenta comunidades pesqueiras locais e tem grande importância econômica devido à presença de um dos principais portos industriais da região, sendo um centro estratégico para atividades comerciais e logísticas. Contudo, enfrenta fortes pressões devido à intensa urbanização, industrialização e tráfego marítimo. Este estudo teve como objetivo avaliar a biodiversidade da Baía de Aratu utilizando a técnica de *metabarcoding* de DNA ambiental. A pesquisa foi estruturada em três frentes: i) Avaliação da biodiversidade da ictiofauna utilizando o gene 12S rRNA; ii) Análise da biodiversidade de eucariotos e o papel do DNA ambiental na detecção de espécies nativas e exóticas através do gene 18S rRNA; iii) Investigação da diversidade das comunidades procarióticas por meio do gene 16S rRNA. Através do uso do *metabarcoding* 12S rRNA no estudo da ictiofauna, foi possível detectar espécies de peixes marinhos, abrangendo desde espécies típicas de manguezais até espécies oceânicas, incluindo algumas não documentadas na região. A análise de eucariotos, por meio do 18S rRNA, revelou uma comunidade diversa, com a presença de espécies não indígenas potencialmente invasoras, sublinhando a relevância do monitoramento contínuo para controlar bioinvasões. O estudo das comunidades procarióticas, usando o 16S rRNA, evidenciou uma diversidade significativa de grupos funcionais, desde patogênicos até biorremediadores, destacando o papel ecológico essencial desses microrganismos para a qualidade ambiental da baía. Por fim, a técnica de *metabarcoding* mostrou-se extremamente eficaz ao proporcionar uma visão abrangente da biodiversidade, confirmando-se como uma metodologia eficiente para monitoramento em ecossistemas costeiros complexos. Este estudo criou um ponto de partida essencial para futuras pesquisas e ações de conservação, consolidando seu caráter pioneiro na região.

Palavras-chave: Baía de Todos os Santos, Conservação, Monitoramento, Biodiversidade, DNA Ambiental, Metagenômica.

ABSTRACT

Aratu Bay, located in the Bay of All Saints, Bahia, Brazil, is an inlet that houses estuarine ecosystems and mangroves, known for their high biodiversity and socio-economic relevance. These ecosystems play a crucial role in maintaining environmental health, serving as breeding and feeding grounds for various marine species. The bay sustains local fishing communities and has significant economic importance due to the presence of one of the main industrial ports in the region, being a strategic center for commercial and logistical activities. However, it faces strong pressures due to intense urbanization, industrialization, and maritime traffic. This study aimed to assess the biodiversity of Aratu Bay using the environmental DNA metabarcoding technique. The research was structured into three main areas: i) Evaluation of ichthyofauna biodiversity using the 12S rRNA gene; ii) Analysis of eukaryotic biodiversity and the role of environmental DNA in detecting native and exotic species through the 18S rRNA gene; iii) Investigation of prokaryotic community diversity using the 16S rRNA gene. By using 12S rRNA metabarcoding in the study of ichthyofauna, it was possible to detect marine fish species, ranging from mangrove species to oceanic species, including some not previously documented in the region. The analysis of eukaryotes, through the 18S rRNA gene, revealed a diverse community, with the presence of potentially invasive non-indigenous species, highlighting the importance of continuous monitoring to control bioinvasions. The study of prokaryotic communities, using the 16S rRNA gene, showed a significant diversity of functional groups, from pathogenic to bioremediators, emphasizing the essential ecological role of these microorganisms for the environmental quality of the bay. Finally, the metabarcoding technique proved to be highly effective in providing a comprehensive view of biodiversity, confirming itself as an efficient methodology for monitoring in complex coastal ecosystems. This study not only explored the use of this technology in Aratu Bay but also created an essential starting point for future research and conservation actions, solidifying its pioneering role in the region.

Keywords: Todos os Santos Bay, Conservation, Monitoring, Biodiversity, Environmental DNA, Metagenomics.

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL

Figura 1	Serviços fornecidos pelos ecossistemas de manguezais.....	18
----------	---	----

REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 2	Diagrama representativo com exemplos dos fatores que impactam a concentração e o destino do eDNA em manguezais, incluindo elementos ambientais identificados ou suspeitos de modificar sua amplitude e velocidade de dispersão.....	25
----------	---	----

MATERIAIS E MÉTODOS

Figura 3	Localização da Baía de Aratu, situada na Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil.....	38
Figura 4	Espécies de plantas encontradas na Baía de Aratu: a) Mangue-vermelho; b) Mangue-preto; c) Mangue-branco.....	39

BIODIVERSIDADE ICTIOLÓGICA DA BAÍA DE ARATU POR MEIO DO METABARCODING 12S rRNA

Figura 1	Mapa de localização da Baía de Aratu, Bahia, Brasil.....	45
Figura 2	Locais de amostragem na Baía de Aratu. No total, foram amostrados 12 locais para coleta de água.....	46
Figura 3	a) Demonstração da captura do eDNA em amostras de água; b) filtro saturado após atingir 1L de água coletada; c) filtros armazenados com <i>shield</i> para conservação d) ferramenta utilizada para captura de amostras.....	47
Figura 4	Visão detalhada sobre a distribuição temporal e a abundância relativa das espécies de peixes na Baía de Aratu ao longo dos meses.....	51
Figura 5	Distribuição da abundância relativa dos diferentes grupos taxonômicos identificados.....	52
Figura 6	Distribuição das espécies identificadas, evidenciando as exclusividades mensais e a presença contínua de determinados táxons.....	53

USO DO METABARCODING 18S rRNA PARA DETECÇÃO DE ESPÉCIES NÃO INDIGÊNAS NA BAÍA DE ARATU, BAHIA, BRASIL

Figura 1	Mapa de localização da Baía de Aratu, Bahia, Brasil.....	66
Figura 2	Área 1: Marina e proximidades; Área 2: Potencial local de depósito final de organismos; Área 3: Próximo a indústria alimentícia e locais com ações pesqueiras; Área 4: Ligação da Baía de Aratu com a Baía de Todos os Santos.....	68
Figura 3	a) Coleta de sedimento próximo as rizosferas por meio de uma cavadeira manual; b) Ferramenta utilizada para captura e filtração do eDNA em amostras de água.....	69
Figura 4	Composição taxonômica dos filós eucarióticos encontrados através das matrizes ambientais.....	74
Figura 5	Diversidade de filós eucarióticos entre as matrizes ambientais.....	75
Figura 6	Abundância relativa dos gêneros eucarióticos encontrados entre ambas matrizes.....	76
Figura 7	Comparação dos gêneros mais abundantes entre as matrizes ambientais nas áreas estudadas.....	79

PERFIL FUNCIONAL DA COMUNIDADE PROCARIÓTICA DA BAÍA DE ARATU, BAHIA, BRASIL, POR MEIO DO METABARCODING 16S rRNA

Figura 1	Mapa de localização da Baía de Aratu, Bahia, Brasil.....	90
Figura 2	Pontos de coleta realizados na Baía de Aratu.....	91
Figura 3	a) Coleta de sedimento próximo as rizosferas por meio de uma cavadeira manual; b) Ferramenta utilizada para captura e filtração do eDNA em amostras de água.....	92
Figura 4	Distribuição dos domínios mais abundantes nas matrizes ambientais..	96
Figura 5	Filós mais abundantes encontrados em ambas matrizes ambientais.....	97
Figura 6	Distribuição dos gêneros mais abundantes identificados em ambas as matrizes ambientais.....	98
Figura 7	O diagrama de Venn mostra a distribuição de gêneros encontrados em duas matrizes diferentes: água e sedimento em áreas de manguezal.....	99
Figura 8	Distribuição das espécies mais abundantes encontradas.....	100

LISTA DE TABELAS

MATERIAIS E MÉTODOS

Tabela 1	Primers utilizados no presente estudo.....	40
----------	--	----

BIODIVERSIDADE ICTIOLÓGICA DA BAÍA DE ARATU POR MEIO DO METABARCODING 12S rRNA

Tabela 1	Coordenadas dos pontos coletados e datas das campanhas realizadas..	45
Tabela 2	Conjuntos de primers utilizados para amplificação da PCR.....	48
Tabela 3	Resultados obtidos através do teste de análise de variância (One Way ANOVA).....	54
Tabela 4	Resultados do teste de comparações múltiplas de Tukey.....	54
Tabela 5	Lista dos peixes encontrados na Baía de Aratu.....	56

USO DO METABARCODING 18S rRNA PARA DETECÇÃO DE ESPÉCIES NÃO INDIGÊNAS NA BAÍA DE ARATU, BAHIA, BRASIL

Tabela 1	Coordenadas dos pontos de coleta na Baía de Aratu.....	67
Tabela 2	Primers utilizados na identificação da comunidade eucariótica.....	71
Tabela 3	Listagem sobre as espécies potencialmente invasoras encontradas em base de dados. + Encontrado registro da espécie com distribuição no Brasil; - Registro não encontrado sobre distribuição no Brasil; SR Não há registros no banco de dados sobre a espécie no site.....	81

PERFIL FUNCIONAL DA COMUNIDADE PROCARIÓTICA DA BAÍA DE ARATU, BAHIA, BRASIL, POR MEIO DO METABARCODING 16S rRNA

Tabela 1	Coordenadas dos pontos de coleta na Baía de Aratu.....	90
----------	--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BTS	Baía de Todos os Santos
eDNA	DNA Ambiental
LAMASP	Laboratório de Microbiologia Ambiental e Saúde Pública
UEFS	Universidade Estadual de Feira de Santana
µl	Microlitro
OTUs	Unidades Taxonômicas Funcionais

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	17
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	20
2.1	O DNA AMBIENTAL.....	20
2.1.1	Biomonitoramento molecular	20
2.1.2	Comparação com outros métodos tradicionais	21
2.1.3	Uso para detecção de táxons ameaçados	22
2.1.4	Alerta para espécies invasoras	23
2.1.5	Amostragem em ambientes estuarinos.....	24
2.2	DESAFIOS E PERSPECTIVAS	26
2.2.1	Bioinformática e Ecologia	26
2.2.2	Desafios de amostragem	26
2.2.3	Contaminação da amostra	27
2.2.4	Restrição de dados	28
3	REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL E REFERENCIAL TEÓRICO....	29
4	OBJETIVOS.....	37
5	MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
5.1.1	Área de estudo	38
5.1.2	Coleta de amostras	40
5.1.3	Preparação das amostras e sequenciamento dos amplicons.....	40
5.1.4	Tratamento dos dados	41
6	BIODIVERSIDADE ICTIOLÓGICA DA BAÍA DE ARATU, BAHIA, BRASIL, POR MEIO DO <i>METABARCODING</i> 12S RRNA.....	42
6.1	RESUMO.....	42
6.2	INTRODUÇÃO	43
6.3	MATERIAIS E MÉTODOS	44
6.3.1	Local de amostragem	44
6.3.2	Coleta de amostras de água e filtragem de eDNA	45
6.3.3	Extração de DNA.....	47
6.3.4	Preparação da biblioteca para os amplicons	48
6.3.5	Sequenciamento e tratamento dos dados	49
6.3.6	Análise de dados	50
6.4	RESULTADOS.....	50
6.4.1	Intensidade de leituras por espécie	50
6.4.2	Taxonomia e abundância	52

6.4.3	Análise estatística	54
6.4.4	Lista descritiva das espécies encontradas	55
6.5	DISCUSSÃO	58
6.5.1	Comparação com outros métodos para captura de peixes	58
6.6	CONCLUSÃO.....	59
6.7	REFERÊNCIAS	59
7	USO DO <i>METABARCODING</i> 18S RRNA PARA DETECÇÃO DE ESPÉCIES NÃO INDÍGENAS NA BAÍA DE ARATU, BAHIA, BRASIL	63
7.1	RESUMO.....	63
7.2	INTRODUÇÃO	64
7.3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	66
7.3.1	Local de amostragem	66
7.3.2	Coleta das amostras e filtragem do eDNA.....	67
7.3.3	Extração de DNA.....	69
7.3.4	Preparação das bibliotecas	70
7.3.5	Sequenciamento do amplicon 18S	71
7.3.6	Bioinformática	71
7.3.7	Banco de dados	72
7.3.8	Tratamento dos dados	72
7.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	72
7.4.1	Detecção de comunidades eucarióticas baseadas no eDNA na Baía de Aratu	72
7.4.2	Diversidade taxonômica.....	73
7.4.3	Grupos potencialmente não indígenas encontrados.....	75
7.4.4	Comparação entre áreas	78
7.4.5	Espécies não indígenas potencialmente invasoras do Brasil	80
7.4.6	Limitações.....	82
7.5	CONCLUSÃO.....	82
7.6	REFERÊNCIAS	83
8	PERFIL TAXONÔMICO DA COMUNIDADE PROCARIÓTICA DA BAÍA DE ARATU, BAHIA, BRASIL, POR MEIO DO <i>METABARCODING</i> 16S RRNA	87
8.1	RESUMO.....	87
8.2	INTRODUÇÃO	88
8.3	MATERIAIS E MÉTODOS	89

8.3.1	Coleta das amostras e filtragem do eDNA.....	90
8.3.2	Extração de DNA.....	92
8.3.3	Sequenciamento do amplicon 16S rRNA	93
8.3.4	Preparação das bibliotecas	94
8.3.5	Bioinformática	94
8.3.6	Banco de dados	95
8.3.7	Tratamento dos dados	95
8.4	RESULTADOS	95
8.4.1	Análise em nível domínio	96
8.4.2	Distribuição dos filos	96
8.4.3	Visão geral dos gêneros mais abundantes encontrados	97
8.4.4	Espécies encontradas	99
8.5	DISCUSSÃO	100
8.5.1	Perfil funcional de grupos procarióticos encontrados.....	100
8.5.2	Grupos relacionados a respiração de organoletos (OHRB)	101
8.5.3	Saúde única	102
8.6	CONCLUSÃO.....	103
8.7	REFERÊNCIAS	105
9	CONSIDERAÇÕES FINAIS	112

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os manguezais, estão entre os habitats mais ricos em carbono da biosfera, cobrindo menos de 1% da zona costeira global, mas contribuem com quase 15% para o acúmulo de carbono nos sedimentos marinhos (Alongi, 2014; Sidik *et al.*, 2018). Eles ocupam apenas 0,5% da área costeira global, mas tem o maior estoque de densidade de carbono orgânico (CO) de qualquer ecossistema (Alongi, 2022). A partir do sequestro de carbono nos ecossistemas de manguezais, há uma redução da poluição ambiental, desempenhando um papel importante no equilíbrio dos ecossistemas, ajudando a superar os problemas das alterações climáticas e proporcionando uma boa condição ambiental para o planeta (Murdiyarso *et al.*, 2015; Sreelekshmi *et al.*, 2021).

Reconhecidos por sua grande diversidade biológica, eles fornecem diversos serviços ecossistêmicos e benefícios socioeconômicos (Hochard *et al.*, 2019; Friess *et al.*, 2020) (Figura 1). Os manguezais e o mar, portanto, são ecossistemas e regiões prioritárias, respectivamente para a conservação global (Bunting *et al.*, 2022). Espera-se que, ao proceder com a restauração dos manguezais, as condições de vegetação e sedimentos melhorem com a idade dos povoamentos (Salmo *et al.*, 2013). Posteriormente, observa-se um aprimoramento nas assembleias faunísticas e nos indicadores associados à teia alimentar (Salmo *et al.*, 2017; Basyuni *et al.*, 2022). Portanto, é necessário obter e compreender com precisão as distribuições espaciais e dinâmicas destas áreas, para formular políticas de restauração e monitoramento regular das espécies (Zhang *et al.*, 2023).

O Brasil é detentor de uma das mais extensas áreas de manguezais do mundo, sendo aproximadamente 9.900km². Os estados do Maranhão, Pará, Amapá e Bahia, são as unidades federativas com a maior cobertura de manguezais do país, atingindo ~4350 km² (~46% da cobertura nacional), ~2100 km² (~22%), ~830 km² (~9%) e ~ 670 km² (~7%), respectivamente, em 2018. Juntos, os quatro estados representam ~85% da cobertura de manguezais do Brasil (Diniz *et al.*, 2019). As maiores concentrações de manguezais na Bahia encontram-se no Baixo Sul, abrangendo os municípios de Valença a Maraú (Ramos, 2002).

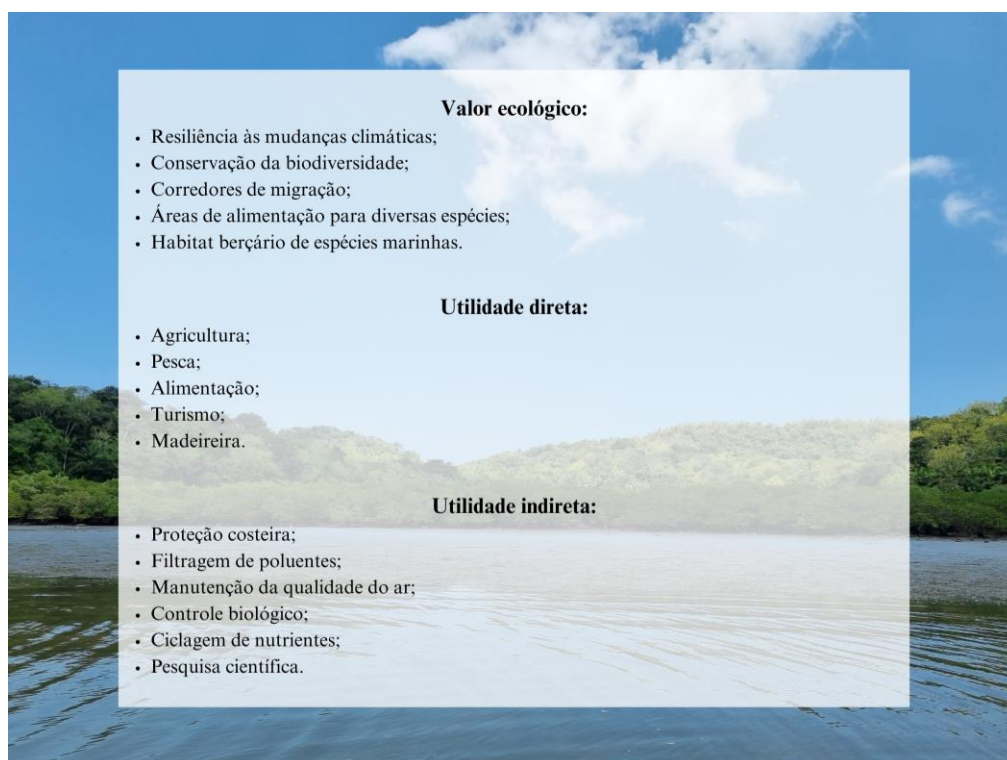


Figura 1: Serviços fornecidos pelos ecossistemas de manguezais. Fonte: Santiago, 2024.

Avanços recentes em genômica ambiental e o surgimento de tecnologias de sequenciamento de nova geração (NGS), estão mudando a capacidade de avaliar a composição de comunidades, incluindo a caracterização da biodiversidade invisível. Através do metacódigo de barras (*metabarcoding*) de DNA ambiental (eDNA), avalia-se a diversidade de organismos e microrganismos em baixa resolução taxonômica a partir de fragmentos genéticos contidos em amostra ambientais (sedimento, água, ar) (Taberlet *et al.*, 2012; 2018).

Nesse contexto, este estudo apresenta uma caracterização molecular das comunidades eucarióticas e procarióticas da Baía de Aratu, situada na Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil, via *metabarcoding* de DNA ambiental. Esta área representa uma interação complexa entre natureza e atividade antrópica, destacando-se como um ambiente multifacetado que combina recursos naturais, biodiversidade e desenvolvimento socioeconômico. Afim de realizar análises de níveis tróficos na área, realizou-se a captura, extração, amplificação e análise de eDNA, através de amostras de água e sedimento na baía.

No primeiro capítulo, apresenta a caracterização da comunidade de peixes encontrados na Baía de Aratu, Bahia, Brasil, com ênfase na diversidade filogenética e composição de espécies, através do *metabarcoding* 12S rRNA. Além disso, buscamos validar uma metodologia para captura de eDNA por meio da filtragem de amostras de água.

O segundo capítulo exhibe as comunidades eucarióticas encontradas em amostras de sedimentos próximas às rizosferas em áreas de manguezal, bem como em amostras de água coletadas em diferentes pontos da baía. O objetivo é avaliar grupos potencialmente não indígenas (NIS) e suas possíveis relações com a água de lastro.

O terceiro capítulo apresenta uma investigação sobre o perfil taxonômico dos grupos procarióticos encontrados em sedimentos de mangue e coluna d'água em áreas de manguezal da baía, bem como caracterizando os grupos relacionados a biorremediação e patogenicidade.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O DNA AMBIENTAL

2.1.1 Biomonitoramento molecular

O DNA ambiental ou eDNA (do inglês *environmental DNA*), é o material genético que os organismos deixam em seu ambiente através de pelos, tecidos, urina, fezes, gametas ou carcaças (Taberlet *et al.*, 2012). A seleção da matriz ambiental para extração de eDNA pode variar de acordo com os objetivos do estudo, incluindo opções como água, ar ou sedimentos, complementando as técnicas tradicionais de monitorização da diversidade biológica (Taberlet *et al.*, 2018; Polanco Fernández *et al.*, 2021).

O *metabarcoding* de eDNA é uma inovadora técnica que aplica primers universais e sequenciamento de nova geração (NGS) para análises de DNA ambiental. Este método tem sido amplamente adotado para realizar o sequenciamento abrangente de regiões específicas de *metabarcoding* em amostras de eDNA, assegurando uma detecção abrangente de espécies em diversos níveis tróficos e domínios da biodiversidade (Taberlet *et al.*, 2012; Ushio *et al.*, 2017, 2018).

Existe uma distinção importante do *metabarcoding* em relação ao barcoding (outra técnica explorada em estudos de eDNA). O *metabarcoding* utiliza primers universais, possibilitando a detecção simultânea de milhões de fragmentos de DNA (Pawloski *et al.*, 2018; Yang & Zhang, 2020), ampliando significativamente a escala e a diversidade das espécies que podem ser identificadas em uma única análise. Por outro lado, o barcoding utiliza primers específicos da espécie para identificar fragmentos de DNA de uma única espécie em uma amostra ambiental (Strickland & Roberts, 2019; Togaki *et al.*, 2020).

Os marcadores de código de barras ideais para cada estudo, devem ter variação interespecífica suficiente para distinguir espécies e, ainda baixa variação intraespecífica para agrupar organismos de uma espécie (Bohle & Gabaldón, 2012). Marcadores usados em *metabarcoding* devem ter regiões conservadas para ligação de primers, flanking regiões divergentes para identificação taxonômica (Ushio *et al.*, 2022).

O 18S rRNA, é comumente usado para *metabarcoding* de eucariotos e pode distinguir táxons em nível de família ou gênero (Bucklin *et al.* 2016). Através do marcador 16S rRNA, é possível determinar posições filogenéticas de comunidades procarióticas no meio ambiente (Chun & Rainey, 2014), indicando a extensão da informação disponível para a

identificação de microrganismos. Por fim, a utilização do marcador molecular 12S rRNA, tem sido incorporado como uma ferramenta quantitativa para o eDNA de peixes ósseos marinhos (Stoeckle *et al.*, 2022).

A aplicação do *metabarcoding* de eDNA revolucionou a investigação em biodiversidade, destacando-se por diversas vantagens significativas: (1) a sua notável velocidade em comparação com a avaliação tradicional da biodiversidade, tornando-o um método eficiente e relativamente económico; (2) a simplicidade do processo de amostragem, que é não invasivo ou destrutivo; (3) a capacidade de detectar espécies crípticas, enigmáticas e evasivas; (4) a capacidade de identificar precocemente mudanças ambientais iminentes e substanciais; (5) padronização e reprodutibilidade em diferentes fases e ambientes da vida; e (6) a capacidade de avaliar simultaneamente a biodiversidade de uma ampla variedade de organismos (Beng & Corlett, 2020).

2.1.2 Comparação com outros métodos tradicionais

Foi demonstrado que o uso do DNA ambiental supera a pesca elétrica, amostragem com redes fyke e os levantamentos visuais para detecção de espécies com boa relação custo-benefício (Valentini *et al.*, 2016; Hinlo *et al.*, 2018; Takahashi *et al.*, 2018). Por exemplo, um pré-estudo demonstrou que um *metabarcoding* de eDNA, usando primers MiFish, permitiu a detecção de mais de 230 espécies de peixes de água do mar em um único estudo (Miya *et al.*, 2015).

Dejean *et al.* (2012) monitoraram uma invasão de *Lithobates catesbeianus* (rã-touro americana), onde o eDNA detectou a espécie em cinco vezes mais lagoas do que levantamentos visuais. Monitorando frentes de invasão, foram necessários 93 dias de investigação para detectar uma carpa num afluente que testou positivo através de métodos baseados em eDNA (Jerde *et al.*, 2011). O mesmo estudo estimou que cada 100 amostras de eDNA necessitavam de 40 pessoas-hora, ou 0,174 pessoas-dia por amostra.

Visto isso, o *metabarcoding* de eDNA, permite uma coleta de dados mais rápida, não invasiva, o que pode ser especialmente relevante para espécies listadas quando a coleta é considerada. Bem como, atender um maior número de locais, incluindo pontos controles e degradados (Wang *et al.*, 2019; Saenz-Agudelo *et al.*, 2022), além de acompanhar as mudanças em toda a comunidade em resposta à recuperação.

2.1.3 Uso para detecção de táxons ameaçados

Os manguezais são habitats-chave de várias espécies ameaçadas, como o dugongo (*Dugong dugon*), macaco probóscide (*Nasalis larvatus*), arraia rugosa (*Pastinachus solocistrostris*) e o cavalo-marinho-de-cauda-de-tigre (*Hippocampus comes*). O monitoramento de espécies-chaves ameaçadas desempenha um papel crucial em ações de conservação embasadas em dados, mas continua sendo um desafio devido à falta de métodos padronizados, à complexidade envolvida na identificação de espécies e à necessidade de especialistas em determinadas espécies (Thomsen *et al.*, 2012).

Os avanços recentes do sequenciamento de nova geração (NGS) têm possibilitado a amplificação e sequenciamento simultâneos de diversos táxons por meio de ensaios universais ou taxonômicos de PCR. Através do *metabarcoding* de eDNA, consegue-se uma abordagem rápida para o levantamento genético das espécies, proporcionando uma análise abrangente de múltiplas espécies de forma simultânea. Pois, o DNA ambiental fornece uma assinatura molecular de todos os organismos dentro do ambiente (Taberlet *et al.*, 2012). Possuindo várias aplicações validadas no monitoramento de táxons específicos ameaçados.

O primeiro estudo de eDNA de répteis, publicado em 2014, desenvolveu um PCR diagnóstico para detectar a píton birmanesa (*Python bivittatus*), uma espécie semiaquática invasora na Flórida (Piaggio *et al.*, 2013). A natureza arisca da píton, sua coloração críptica e a ocupação de habitats aquáticos que eram logisticamente difíceis de pesquisar, levaram a uma abordagem de captura de eDNA. Piaggio *et al.*, (2013) desenvolveram um ensaio de citocromo b mitocondrial específico para *Python bivittatus* que foi aplicado em amostras de água de áreas de campo no sul da Flórida, detectando com sucesso a espécie onde havia sido observado anteriormente.

Postaire *et al.*, (2020), realizou levantamentos em tubarões de recife de ponta preta (*Carcharhinus melanopterus*), através do eDNA, usando PCR em tempo real detectando mudanças espaço-temporais na abundância que são comparáveis a extensas pesquisas de pesca e telemetria acústica, destacando o potencial do eDNA para monitorar populações de tubarões e entender seus limites de habitat. Pesquisas de DNA ambiental também recuperaram informações de nível populacional para o tubarão-baleia (*Rhincodon typus*) (Sigsgaard *et al.*, 2017) via *metabarcoding*.

Assim, técnicas aditivas que possam detectar de forma rápida e confiável espécies ameaçadas ou raras, como métodos de DNA ambiental (eDNA), são importantes para avaliação e monitoramento populacional. A presença e a recuperação de táxons ameaçados

podem, portanto, ser usadas como uma métrica importante no monitoramento do sucesso da restauração e conservação de manguezais.

2.1.4 Alerta para espécies invasoras

Nos manguezais, plantas invasoras e algas nocivas podem causar perda significativa de biodiversidade e danos à função do ecossistema (Nizam, 2024). Assim, a detecção precoce e o monitoramento regular dessas espécies usando *metabarcoding* de eDNA e até mesmo ensaios de qPCR específicos para espécies são cruciais para garantir o sucesso da restauração ecológica.

As espécies invasoras são consideradas a segunda maior causa de extinção de espécies (Bellard *et al.*, 2016). Ao impactarem táxons específicos, as espécies invasoras desestruturam os mais diversos ecossistemas (Simberloff *et al.*, 2013). Em ambientes marinhos, a maioria das espécies são introduzidas por conta do comércio internacional, seja por água de lastro ou incrustações.

Na Austrália, o sequenciamento de nova geração (NGS) está sendo empregado para monitorar as regiões portuárias, através da análise de organismos incrustados em placas de assentamento (Kozioł *et al.*, 2019; Morgan *et al.*, 2022). Além disso, com base em informações biológicas da estrela invasora *Asterias amurensis*, foi sugerido que as embarcações abasteçam a água de lastro nos meses em que a estrela não está reproduzindo (Hough & Dommissie, 2004; Ellis *et al.*, 2021). Além do mais, mudanças significativas em espécies indicadoras de copépodes como *Paracalanus indicus* e *Hexanauplia* detectadas por *metabarcoding* de eDNA podem ser usadas para monitorar ondas de calor e seus impactos nos ecossistemas costeiros (Berry *et al.*, 2019).

No caso do peixe-leão (*Pterois volitans*), além de campeonatos de captura, o uso do invasor na culinária também foi fomentado e o número de capturas aumentou (Malpica Cruz *et al.*, 2016; Anderson *et al.*, 2017). O peixe-leão possui alta fecundidade e maturidade sexual precoce - em apenas 30 anos de invasão se espalhou por toda a costa leste americana, Golfo do México, Caribe e mais recentemente no Brasil (Luiz *et al.*, 2021).

Outra espécie invasora conhecida, o coral sol (do gênero *Tubastrea*) apresenta mecanismos de defesa química que inibem seus competidores e possíveis predadores, como peixes (Lages *et al.*, 2010). Ao aumentarem em abundância e dominarem o ambiente bentônico, o coral sol reduz o recrutamento das espécies endêmicas de coral, perpetuando assim sua dominância no ambiente (Miranda *et al.*, 2016). Além disso, o coral-sol altera as

comunidades que eram predominantemente autotróficas, transformando-as em comunidades heterotróficas (Lages *et al.*, 2011). Com isso, os peixes deixam de se alimentar em áreas com alta predominância do invasor, impactando significativamente as cadeias tróficas (Miranda *et al.*, 2016).

Nogueira (2024), utilizou o *metabarcoding* de DNA ambiental para revelar a dieta da tilápia de Moçambique (*Oreochromis mossambicus*), um peixe ciclídeo invasor em áreas de manguezal. A espécie representa sérias ameaças às comunidades aquáticas nativas em todo o mundo por meio da competição por predação por alimento, habitat e locais de desova (Russell *et al.*, 2012).

Por fim, nem sempre a sociedade tem a percepção dos riscos que uma espécie invasora representa. Mesmo que a erradicação não seja uma possibilidade viável, conter a população invasora em densidades reduzidas é fundamental e pode resultar em efeitos benéficos locais semelhantes aos de uma erradicação. Nesse contexto, o engajamento da sociedade pode desempenhar um papel significativo como aliado nesses eventos.

Assim, o *metabarcoding* de eDNA pode atuar como uma ferramenta aditiva na detecção precoce de espécies não indígenas e invasoras em baixas densidades, o que de outra forma é desafiador de monitorar usando técnicas convencionais. Nisso, a presença e a recuperação de táxons ameaçados podem, portanto, ser usadas como uma métrica importante no monitoramento da restauração de ecossistemas estuarianos e manguezais.

2.1.5 Amostragem em ambientes estuarinos

Ambientes estuarinos possuem sua hidrologia muito variada, podendo ser dinâmica no espaço-tempo, o que representa desafios para a detecção e interpretação do DNA ambiental. Tanto o fluxo unidirecional quanto a influência das marés nos estuários promovem o transporte do eDNA a partir de suas fontes, ampliando as oportunidades de dispersão desde o ponto de origem.

Atualmente, falta-nos uma compreensão clara da ecologia do eDNA – sua origem, estado, transporte e destino (Stewart, 2019). Uma motivação chave para o uso do eDNA é o fato de que todos os organismos deixam seu código de DNA no ambiente (fezes, secreções, células reprodutivas, tecidos epidérmicos ou carcaças), permitindo o isolamento direto sem sinais óbvios da presença do organismo (Taberlet *et al.*, 2012). No entanto, o DNA liberado por organismos aquáticos ou terrestres não é necessariamente concentrado no local de sua liberação (Figura 2), essas fontes de eDNA podem ser rapidamente transportadas do local de

liberação, incluindo lixiviação no solo, fluxo a jusante e dispersão por correntes de água (Rice *et al.*, 2018; Murakami *et al.*, 2019).

Os estuários apresentam turbidez elevada e variável com mais frequência do que a maioria dos ambientes de água doce e marinhos. Partículas suspensas podem conter compostos que inibem a PCR (Matheson *et al.*, 2010), para coleta de água, por exemplo, estes fragmentos podem limitar os volumes de filtração nas amostras a medida em que os filtros ficam obstruídos pelas partículas.

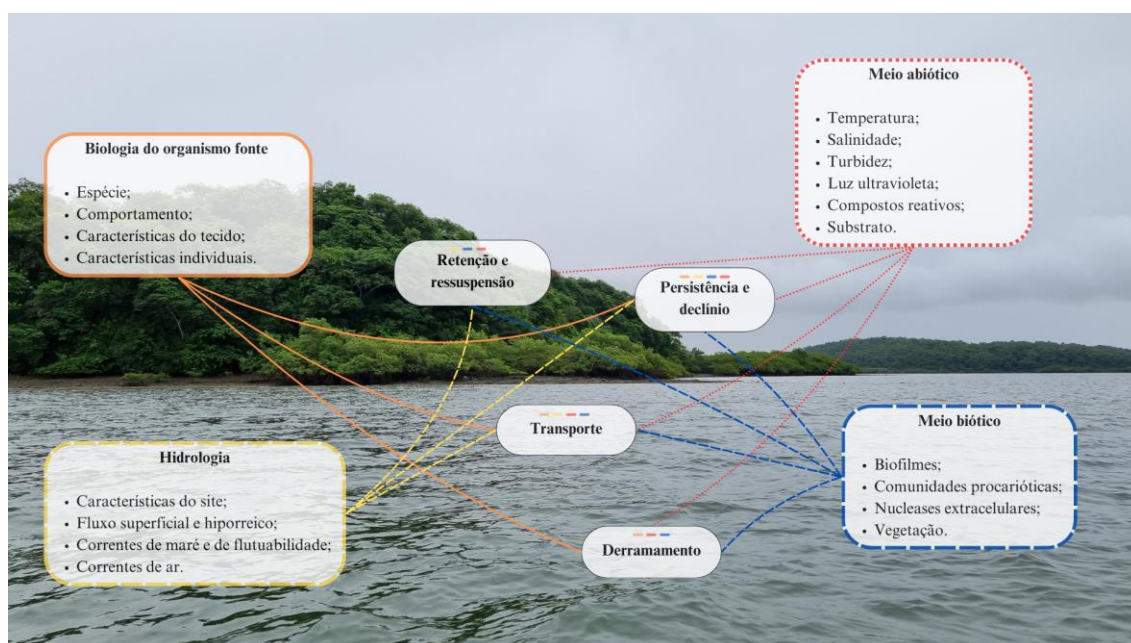


Figura 2: Diagrama representativo com exemplos dos fatores que impactam a concentração e o destino do eDNA em manguezais, incluindo elementos ambientais identificados ou suspeitos de modificar sua amplitude e velocidade de dispersão. Fonte: Santiago, 2024.

É improvável que todos os organismos e microrganismos liberem quantidades iguais de DNA no ambiente. E que ele se degrade de diferentes fontes na mesma taxa, mesmo sob condições ambientais semelhantes. Após sua liberação, as taxas de liberação e decaimento do eDNA dependem de vários fatores bióticos (por exemplo, características das fases de vida, interações entre espécies, microrganismos) e abióticos (por exemplo, radiação UV, temperatura, salinidade) (Pilliod *et al.*, 2014; Klymus *et al.*, 2015; Lacoursière-Roussel *et al.*, 2016; Stewart, 2019). Segundo Moyer (2014); Murakami (2019), o eDNA é mais abundante na camada superior próxima à fonte (superfície), ou na camada inferior (longe da fonte).

Pilliod, (2014), detectaram eDNA após 11 e 18 dias em amostras de água que foram armazenadas no escuro, mas o eDNA não era mais detectável em amostras que foram

expostas ao sol pleno após 8 dias. A temperatura afeta diretamente a taxa metabólica de alguns organismos (por exemplo, anfíbios, invertebrados, répteis e peixes) e, consequentemente, pode afetar fortemente a taxa de liberação de eDNA (Lacoursière-Roussel *et al.*, 2016).

A compreensão atual sobre a persistência do eDNA em diversas condições ambientais para diferentes espécies é reduzida. Porém, essa informação desempenha um papel crucial ao determinar a janela de espaço tempo mais adequada para a condução de pesquisas envolvendo eDNA. Pois, as condições ambientais estão em constante mudança e podem ser diferentes em cada local ao longo do ano.

2.2 DESAFIOS E PERSPECTIVAS

2.2.1 Bioinformática e Ecologia

Nas últimas décadas, a bioinformática revolucionou o tratamento de dados biológicos moleculares, impulsionada pelo aumento na coleta e armazenamento de informações desde o início do sequenciamento paralelo (Rosenheim & Gratton, 2017). Isso levou a avanços em áreas como aprendizado de máquina, mineração de dados e análise inteligente, oferecendo novas ferramentas para o tratamento dos resultados (Gueta & Carmel, 2016). A bioinformática e a ecologia convergem na ecoinformática, que aplica tecnologia computacional para analisar dados ecológicos (Recknagel, 2006; Hale & Hollister, 2009).

Esse campo emergente permite o estudo detalhado de organismos e microrganismos, facilitando o monitoramento e o manejo sustentável de ecossistemas complexos. As análises metagenômicas, por exemplo, ajudam a explorar comunidades microbianas além dos limites do cultivo laboratorial. A integração da bioinformática com a ciência ambiental tem mostrado potencial para aprimorar o gerenciamento e a tomada de decisões em ecossistemas, contribuindo para esforços de conservação e compreensão das relações ecológicas.

2.2.2 Desafios de amostragem

O fluxo de trabalho de *metabarcoding* de eDNA, requer várias etapas de manuseio e manipulação de amostras - desde a coleta de amostras, preservação, extração de DNA, amplificação, sequenciamento até a análise bioinformática – apresentando múltiplos desafios técnicos (Ficetola *et al.* 2016; Deiner *et al.*, 2017; Doi *et al.*, 2019; Piñol *et al.*, 2019).

A eficácia do trabalho é influenciada pela preservação adequada da amostra, uma vez que a degradação acelerada do eDNA, especialmente em climas tropicais quentes e úmidos, resulta na formação de fragmentos de DNA mais curtos, comprometendo o sucesso da amplificação por PCR (Ruppert *et al.*, 2019). Além disso, o potencial do DNA para viajar através de meios como a água podem afetar inferências de tendências espaço-temporais em escala fina em espécies e comunidades (Taberlet *et al.*, 2012; Goldberg *et al.*, 2016; Deiner *et al.*, 2017; Hering *et al.*, 2018).

Em estudos realizados em áreas remotas, a logística envolvida na preservação de amostras pode representar desafios significativos. Níveis elevados de inibição da PCR também estão associados a águas turvas (Kumar *et al.*, 2022), sendo que alguns inibidores, como ácido húmico, ácido fúlvico, ácido tânico e hematina, são naturalmente excretados no ambiente por animais ou plantas (Sato *et al.*, 2017; Minegishi *et al.*, 2019; Uchii *et al.*, 2019).

Em manguezais tropicais altamente biodiversos, a amplificação bem-sucedida do eDNA depende fortemente de primer(s) de design adequado(s) que seja(m) específico(s) e sensível (Coissac *et al.*, 2012). Esses desafios teriam que ser diminuídos para facilitar a padronização do protocolo experimental.

2.2.3 Contaminação da amostra

Como o trabalho de *metabarcoding* de DNA ambiental envolve a detecção de quantidade diminutas de DNA, através de matrizes ambientais (ar, água, sedimento), o processo para coleta de amostras é, portanto, propenso à contaminação. No campo, a contaminação pode ocorrer a partir de instrumentos para coleta, quando o DNA de uma ou várias amostras é transferido involuntariamente para outra amostra, seja de outro local no mesmo estudo ou de uma localidade desconhecida. Isso geralmente ocorre quando o mesmo equipamento de campo (por exemplo, microtubos, filtros, luvas) é usado repetidamente para amostragem de diferentes locais sem tratamento completo (por exemplo, esterilização, autoclavagem) (Beng & Corlett, 2020).

No laboratório, o contágio pode ocorrer quando o DNA remanescente de experimentos moleculares anteriores (por exemplo, extração de DNA, amplificação, preparação de biblioteca e sequenciamento) se espalha em novas amostras ou quando o mesmo equipamento de laboratório (por exemplo, tubos, pipetas, bancadas) é repetidamente usado para conduzir diferentes experimentos sem descontaminação completa (Beng & Corlett, 2020).

2.2.4 Restrição de dados

Um fator-chave que limita atualmente a aplicação mais ampla do *metabarcoding*, se dá pela incompletude dos bancos de dados de sequências de referência para a maioria dos organismos, isso é uma limitação importante para estudos de biodiversidade usando eDNA (Thomsen & Sigsgaard, 2019; Stoeckle *et al.*, 2020). A análise de *metabarcoding* utiliza sequências genéticas de referência (códigos de barras) correspondentes ao organismo e ao gene, e mesmo os maiores repositórios de sequências existentes, como BioBank e GenBank, enfrentam desafios na atribuição taxonômica.

A alocação de leituras de sequência a táxons biologicamente implausíveis, que não poderiam habitar a região de estudo, representa um risco significativo ao utilizar um banco de dados de sequências global. Sequências de referência para atribuição taxonômica estão disponíveis apenas para um ou alguns genes para a maioria das espécies e as regiões marcadoras alvo não podem resolver com precisão a maioria dos grupos para espécies ou níveis taxonômicos mais altos devido à incompletude dos bancos de dados de sequências de referência (Liu *et al.*, 2019; Sigsgaard *et al.*, 2019).

Isso demanda uma filtragem manual de resultados, impactando negativamente a confiança do usuário final em abordagens de eDNA (Gold *et al.*, 2021). Assim, a ausência de um banco de dados de referência abrangente é particularmente evidente em ecossistemas de manguezais, porém pouco estudados (Jerde *et al.*, 2021). Dado que a precisão da identificação de espécies por meio do metabarcoding de eDNA é diretamente proporcional à qualidade do banco de dados de referência (Thomsen & Sigsgaard, 2019) limitando a aplicação do eDNA em ecologia e conservação.

Portanto, a criação de um banco de dados regional e abrangente é crucial para viabilizar a aplicação efetiva do *metabarcoding* de eDNA como uma ferramenta padrão de biomonitoramento. Além disso, é necessário realizar mais pesquisas para superar as limitações dos dados de eDNA, indo além da mera documentação da presença de espécies.

3 REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL E REFERENCIAL TEÓRICO

- Alongi, D.M. Carbon cycling and storage in mangrove forests. *Ann Rev Mar Sci.* (2014); 6:195-219. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010213-135020>.
- Alongi, D.M. Impacts of Climate Change on Blue Carbon Stocks and Fluxes in Mangrove Forests. *Forests* (2022), 13, 149. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/f13020149>.
- Anderson, L.G.; Chapman, J.K.; Escontela, D.; Gough, C.L.A. The role of conservation volunteers in the detection, monitoring and management of invasive alien lionfish. *Manag. Biol. Invasions* (2017), 8, 589–598. Disponível em: <https://doi.org/10.3391/mbi.2017.8.4.14>.
- Augusthy S., Nizam A., Kumar A. The diversity, drivers, consequences and management of plant invasions in the mangrove ecosystems. *Sci Total Environ.* (2024) Oct 1; 945:173851. Epub 2024 Jun 11. PMID: 38871312. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173851>.
- Basyuni M., Bimantara Y., Cuc N. T., Balke T., Vovides A. G. (2022). Macrozoobenthic community assemblage as key indicator for mangrove restoration success in north Sumatra and aceh, Indonesia. *Restor. Ecol.* 30, e13614. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/rec.13614>.
- Bohle H.M., Gabaldón T. Selection of marker genes using whole-genome DNA polymorphism analysis. *Evol Bioinform Online.* 8:161-9. Epub (2012) Mar 19. PMID: 22474405. Disponível em: <https://doi.org/10.4137/EBO.S8989>.
- Bunting P., Rosenqvist A., Hilarides L., Lucas R. M., Thomas N. (2022). Global mangrove watch: mangrove forest extent (v2. 5). *Remote Sens.* 14, 1034. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/rs14041034>.
- Coissac E., Riaz T., Puillandre N. Bioinformatic challenges for DNA *metabarcoding* of plants and animals. *Mol Ecol.* (2012) Apr;21(8):1834-47. PMID: 22486822. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05550.x>.
- Deiner K., Bik H.M., Mächler E., *et al.* Environmental DNA *metabarcoding*: Transforming how we survey animal and plant communities. *Mol Ecol.* (2017); 26: 5872–5895. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/mec.14350>.
- Deiner K., Bik H.M., Mächler E., Seymour M., Lacoursière-Roussel A., Altermatt F., Creer S., Bista I., Lodge D.M., de Vere N., Pfrender M.E., Bernatchez L.. Environmental DNA *metabarcoding*: Transforming how we survey animal and plant communities. *Mol Ecol.* (2017) Nov;26(21):5872-5895. Epub 2017 Oct 26. PMID: 28921802. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/mec.14350>.
- Dejean, T., A. Valentini, C. Miquel, P. Taberlet, E. Bellemain, and C. Miaud. (2012). Improved detection of an alien invasive species through environmental DNA barcoding: the example of the American bullfrog *Lithobates catesbeianus*. *Journal of Applied Ecology* 49:953–959. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2012.02171.x>.

- Diniz, C., Cortinhas, L., Nerino, G.; Rodrigues, J., Sadeck, L., Adami, M., Souza-Filho, P.W.M. Brazilian Mangrove Status: Three Decades of Satellite Data Analysis. *Remote Sens.* (2019), 11, 808. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/rs11070808>.
- Ellis, Morgan R., Clark, Zach S.R., Treml, Eric A., Brown, Morgan S., Matthews, Ty G., Pocklington, Jacqueline B., Stafford-Bell, Richard E., Bott, Nathan J., Nai, Yi Heng, Miller, Adam D., Sherman, Craig D.H. Detecting marine pests using environmental DNA and biophysical models. *Science of The Total Environment*, v. 816, (2022), p. 151666. ISSN 0048-9697. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151666>.
- Ficetola G.F., Taberlet P., Coissac E. How to limit false positives in environmental DNA and *metabarcoding*? *Mol Ecol Resour.* (2016) May;16(3):604-7. PMID: 27062589. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12508>.
- Friess D.A., Yando E.S., Wong L. W., Bhatia N. (2020). Indicators of scientific value: An under-recognised ecosystem service of coastal and marine habitats. *Ecol. Indic.* 113, 106255. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106255>.
- Gold Z., Curd E.E., Goodwin K.D., Choi E.S., Frable B.W., Thompson AR, Walker HJ Jr, Burton RS, Kacev D, Martz LD, Barber PH. Improving *metabarcoding* taxonomic assignment: A case study of fishes in a large marine ecosystem. *Mol Ecol Resour.* (2021) Oct;21(7):2546-2564. Epub 2021 Jul 8. PMID: 34235858. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13450>.
- Goldberg C. S., Turner C. R., Deiner K., Klymus K. E., Thomsen P. F., Murphy M. A., *et al.* (2016). Critical considerations for the application of environmental DNA methods to detect aquatic species. *Methods Ecol. Evolution.* 7, 1299–1307. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12595>.
- Gueta, T., and Carmel, Y. (2016). Quantifying the value of user-level data cleaning for big data: a case study using mammal distribution models. *Ecol. Inform.* 34, 139–145. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2016.06.001>.
- Hale, S.S. & Hollister, J.W., (2009). Beyond data management: How ecoinformatics can benefit environmental monitoring programs. *Environmental Monitoring and Assessment*, 150(1–4), pp.227–235. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10661-008-0675-x>.
- Hering, D., A. Borja, J. I. Jones, D. Pont, P. Boets, A. Bouchez, K. Bruce, S. Drakare, B. Hänfling, M. Kahlert, F. Leese, K. Meissner, P. Mergen, Y. Reyjol, P. Segurado, A. Vogler & M. Kelly, (2018). Implementation options for DNA-based identification into ecological status assessment under the European Water Framework Directive. *Water Research* 138: 192–205. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.03.003>.
- Hinlo R., Lintermans M., Gleeson D., Broadhurst B., Furlan E. (2018) Performance of eDNA assays to detect and quantify an elusive benthic fish in upland streams. *Biological Invasions*. Springer International Publishing. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10530-018-1760-x>.

- Hochard J.P., Hamilton S., Barbier E. B. (2019). Mangroves shelter coastal economic activity from cyclones. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 116, 12232–12237. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1820067116>.
- Hough D., Dommissie M., (2004) Controlling the Northern Pacific seastar (*Asterias amurensis*) in Australia. Final Report for the Australian Government Department of the Environment and Heritage. Department of Sustainability and Environment, pp 52 Disponível em: <https://www.dcceew.gov.au/sites/default/files/documents/pacific-seastar.pdf>.
- Jerde, C., A. Mahon, W. Chadderton, and D. Lodge. (2011). “Sight-unseen” detection of rare aquatic species using environmental DNA. *Conservation Letters* 4:150–157. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1755-263X.2010.00158.x>.
- Jerde, C.L.; Mahon, A.R.; Campbell, T.; McElroy, M.E.; Pin, K.; Childress, J.N.; Armstrong, M.N.; Zehnpfennig, J.R.; Kelson, S.J.; Koning, A.A.; *et al.* Are Genetic Reference Libraries Sufficient for Environmental DNA Metabarcoding of Mekong River Basin Fish? *Water* (2021), 13, 1767. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/w13131767>.
- Klymus K., Richter C., Chapman D., Paukert C. (2015) Quantification of eDNA shedding rates from invasive bighead carp *Hypophthalmichthys nobilis* and silver carp *Hypophthalmichthys molitrix*. *Biol Cons* 183:77–84. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.11.020>.
- Koziol A., Stat M., Simpson T., Jarman S., DiBattista J.D., Harvey E.S., Marnane M., McDonald J., Bunce M. Environmental DNA metabarcoding studies are critically affected by substrate selection. *Mol Ecol Resour.* (2019) Mar;19(2):366-376. Epub 2018 Dec 21. PMID: 30485662. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12971>.
- Kumar G., Farrell E., Reaume A. M., Eble J. A., Gaither M. R. (2022). One size does not fit all: Tuning eDNA protocols for high-and low-turbidity water sampling. *Environ. DNA* 4, 167–180. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/edn3.235>.
- Lacoursière-Roussel A., Rosabal M., Bernatchez L. Estimating fish abundance and biomass from eDNA concentrations: variability among capture methods and environmental conditions. *Mol Ecol Resour.* (2016) Nov;16(6):1401-1414. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12522>.
- Lages B.G., Fleury B.G., Menegola C., Creed J.C. (2011) Change in tropical rocky shore communities due to an alien coral invasion. *Marine Ecology Progress Series* 438: 85–96. Disponível em: <https://doi.org/10.3354/meps09290>.
- Lages B.G., Fleury B.G., Pinto A.C., Creed J.C. (2010) Chemical defenses against generalist fish predators and fouling organisms in two invasive ahermatypic corals in the genus *Tubastraea*. *Marine Ecology* 31: 473–482. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.2010.00376.x>.
- Liu, J., Yu, J., Zhou, M., & Yang, J. (2019). Complete mitochondrial genome of *Japalura flaviceps*: Deep insights into the phylogeny and gene rearrangements of Agamidae species. *International Journal of Biological Macromolecules*, 125, 423–431. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.068>.

- Luiz, O.J., dos Santos, W.C.R., Marceñiuk, A.P. *et al.* Multiple lionfish (*Pterois* spp.) new occurrences along the Brazilian coast confirm the invasion pathway into the Southwestern Atlantic. *Biol Invasions* 23, 3013–3019 (2021). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10530-021-02575-8>.
- Malpica-Cruz, L., Chaves, L.C., I.M., (2016). Managing marine invasive species through public participation: lionfish derbies as a case study. *Mar. Pol.* 74, 158–164. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2016.09.027>.
- Mantelatto, M.C., Creed, J.C., Mourão, G.G. *et al.* Range expansion of the invasive corals *Tubastraea coccinea* and *Tubastraea tagusensis* in the Southwest Atlantic. *Coral Reefs* 30, 397 (2011). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00338-011-0720-z>.
- Matheson C.D., Marion T.E., Hayter S., Esau N., Fratpietro R., Vernon K.K. Technical note: removal of metal ion inhibition encountered during DNA extraction and amplification of copper-preserved archaeological bone using size exclusion chromatography. *Am J Phys Anthropol.* (2010) ;140(2):384–391. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ajpa.21106>.
- Minegishi Y., Wong M. K. S., Kanbe T., Araki H., Kashiwabara T., Ijichi M., *et al.* (2019). Spatiotemporal distribution of juvenile chum salmon in otsuchi bay, iwate, Japan, inferred from environmental DNA. *PLoS One* 14, e0222052. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222052>.
- Miranda, R.J., Cruz, I.C.S. & Barros, F. Effects of the alien coral *Tubastraea tagusensis* on native coral assemblages in a southwestern Atlantic coral reef. *Mar Biol* 163, 45 (2016). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00227-016-2819-9>.
- Miya M., Sato Y., Fukunaga T., Sado T., Poulsen J.Y., Sato K., Minamoto T., Yamamoto S., Yamanaka H., Araki H., Kondoh M., Iwasaki W. MiFish, a set of universal PCR primers for *metabarcoding* environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. *R Soc Open Sci.* (2015) Jul 22;2(7):150088. PMID: 26587265. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rsos.150088>.
- Murakami, H., Yoon, S., Kasai, A. *et al.* Dispersion and degradation of environmental DNA from caged fish in a marine environment. *Fish Sci* 85, 327–337 (2019). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12562-018-1282-6>.
- Murdiyarso, D., Purbopuspito, J., Kauffman, J. *et al.* The potential of Indonesian mangrove forests for global climate change mitigation. *Nature Clim Change* 5, 1089–1092 (2015). Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nclimate2734>.
- Nogueira, S., Curto, M., Gkenas, C. *et al.* DNA metabarcoding reveals the diet of the invasive fish *Oreochromis mossambicus* in mangroves of São Tomé Island (Gulf of Guinea). *Biol Invasions* 26, 17–23 (2024). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10530-023-03170-9>.
- Piaggio A.J., Engeman R.M., Hopken M.W., Humphrey J.S., Keacher K.L., Bruce W.E., Avery M.L. Detecting an elusive invasive species: a diagnostic PCR to detect Burmese python in Florida waters and an assessment of persistence of environmental DNA. *Mol Ecol Resour.* (2014) Mar;14(2):374-80. Epub 2013 Nov 5. PMID: 24119154. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12180>.

- Pilliod DS, Goldberg CS, Arkle RS, Waits LP. Factors influencing detection of eDNA from a stream-dwelling amphibian. *Mol Ecol Resour.* (2014) Jan;14(1):109-16. Epub 2013 Sep 6. PMID: 24034561. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12159>.
- Piñol, J., Senar, M. A., and Symondson, W. O. C. (2019). The choice of universal primers and the characteristics of the species mixture determine when DNA *metabarcoding* can be quantitative. *Mol. Ecol.* 28, 407–419. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/mec.14776>.
- Polanco Fernández, A.; Marques, V.; Fopp, F.; Juhel, J. B.; Borrero-Pérez, G. H.; Cheutin, M. C.; Dejean, T.; González Corredor, J. D.; Acosta-Chaparro, A.; Hocdé, R.; *et al.* Comparing environmental DNA *metabarcoding* and underwater visual census to monitor tropical reef fishes. *Environmental DNA* (2021), 3 (1), 142-156. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/edn3.140>.
- Postaire, B.D., Bakker, J., Gardiner, J. *et al.* Environmental DNA detection tracks established seasonal occurrence of blacktip sharks (*Carcharhinus limbatus*) in a semi-enclosed subtropical bay. *Sci Rep* 10, 11847 (2020). Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68843-0>.
- Ramos, S. (2002) - Manguezais da Bahia: breves considerações. 104p., Editora Editus, Ilhéus, BA, Brasil. ISBN: 85-7455-047-7.
- Recknagel, F. 2006. Editorial. *Ecol. Inf.* 1: 1.
- Rice F., Riglin L., Thapar A.K., Heron J., Anney R., O'Donovan M.C., Thapar A. Characterizing Developmental Trajectories and the Role of Neuropsychiatric Genetic Risk Variants in Early-Onset Depression. *JAMA Psychiatry.* (2019) Mar 1;76(3):306-313. PMID: 30326013. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2018.3338>.
- Rosenheim, J. A., and Gratton, C. (2017). Ecoinformatics (big data) for agricultural entomology: pitfalls, progress, and promise. *Ann. Rev. Entomol.* 62, 399–417. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-031616-035444>.
- Ruppert K. M., Kline R. J., Rahman M. S. (2019). Past, present, and future perspectives of environmental DNA (eDNA) *metabarcoding*: A systematic review in methods, monitoring, and applications of global eDNA. *Glob. Ecol. Conserv.* 17, e00547. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00547>.
- Russell D.J., Thuesen P.A., Thomson F.E. (2012) A review of the biology, ecology, distribution and control of Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Peters 1852) (Pisces: Cichlidae) with particular emphasis on invasive Australian populations. *Rev Fish Biol Fish* 22:533–554. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11160-011-9249-z>.
- Saenz-Agudelo P., Delrieu-Trottin E., DiBattista J. D., Martínez-Rincon D., Morales-González S., Pontigo F., *et al.* (2022). Monitoring vertebrate biodiversity of a protected coastal wetland using eDNA *metabarcoding*. *Environ. DNA* 4, 77–92. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/edn3.200>.

- Salmo S. G., Lovelock C., Duke N. C. (2013). Vegetation and soil characteristics as indicators of restoration trajectories in restored mangroves. *Hydrobiologia* 720, 1–18. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10750-013-1617-3>.
- Salmo S. G., Tibbetts I., Duke N. C. (2017). Colonization and shift of mollusc assemblages as a restoration indicator in planted mangroves in the Philippines. *Biodivers. Conserv.* 26, 865–881. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10531-016-1276-6>.
- Sato, H., Sogo, Y., Doi, H. *et al.* Usefulness and limitations of sample pooling for environmental DNA *metabarcoding* of freshwater fish communities. *Sci Rep* 7, 14860 (2017). Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14978-6>.
- Sidik, F., Supriyanto, B., Krisnawati, H., & Muttaqin, M. Z. (2018). Mangrove conservation for climate change mitigation in indonesia. *WIREs Climate Change*, 9(5). Disponível em: <https://doi.org/10.1002/wsc.529>.
- Sigsgaard, E. E., Jensen, M. R., Winkelmann, I. E., Møller, P. R., Hansen, M. M., & Thomsen, P. F. (2020). Population-level inferences from environmental DNA—Current status and future perspectives. *Evolutionary Applications*, 13(2), 245–262. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/eva.12882>.
- Sigsgaard, E.E., Nielsen, I.B., Carl, H. *et al.* Seawater environmental DNA reflects seasonality of a coastal fish community. *Mar Biol* 164, 128 (2017). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00227-017-3147-4>.
- Simberloff D, Martin JL, Genovesi P, Maris V, Wardle DA, Aronson J, Courchamp F, Galil B, García-Berthou E, Pascal M, Pyšek P, Sousa R, Tabacchi E, Vilà M. Impacts of biological invasions: what's what and the way forward. *Trends Ecol Evol.* (2013) Jan;28(1):58-66. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.07.013>.
- Sreelekshmi, S., Nandan, S.B. & Harikrishnan, M. Changes in Shoreline and Its Impact on Mangrove Structure in Selected Islands of Sundarbans, Northeast Coast of India. *Thalassas* 39, 343–356 (2023). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s41208-022-00491-9>.
- Stewart, K.A. (2019). Understanding the effects of biotic and abiotic factors on sources of aquatic environmental DNA. *Biodiversity and Conservation* 28: 983–1001. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10531-019-01709-8>.
- Stoeckle, M. Y., Adolf, J., Ausubel, J. H., Charlop-Powers, Z., Dunton, K. J., & Hinks, G. (2022). Current laboratory protocols for detecting fish species with environmental DNA optimize sensitivity and reproducibility, especially for more abundant populations. *ICES Journal of Marine Science*, 79, 403–412. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsab273>.
- Strickland, G.J., Roberts, J.H. Utility of eDNA and occupancy models for monitoring an endangered fish across diverse riverine habitats. *Hydrobiologia* 826, 129–144 (2019). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10750-018-3723-8>.
- Taberlet P., Coissac E., Pompanon F., Brochmann C., Willerslev E. Towards next-generation biodiversity assessment using DNA *metabarcoding*. *Mol Ecol.* 2012 Apr;21(8):2045-50. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05470.x>.

- Taberlet, Pierre, and others, Environmental DNA: For Biodiversity Research and Monitoring (Oxford, 2018; online edn, Oxford Academic, 22 Mar. (2018). Disponível em: <https://doi.org/10.1093/oso/9780198767220.001.0001>.
- Takahashi, M. K., M. J. Meyer, C. Mcphee, J. R. Gaston, M. D. Venesky, and B. F. Case. (2018). Seasonal and diel signature of eastern hellbender environmental DNA. The Journal of Wildlife Management 82:217–225. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jwmg.21349>.
- Thomsen P.F., Kielgast J., Iversen L.L., Møller P.R., Rasmussen M., Willerslev E. Detection of a diverse marine fish fauna using environmental DNA from seawater samples. PLoS One. 2012;7(8):e41732. Epub (2012) Aug 29. PMID: 22952584. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041732>.
- Thomsen P.F., Sigsgaard E.E. Environmental DNA *metabarcoding* of wild flowers reveals diverse communities of terrestrial arthropods. Ecol Evol. (2019) Feb 7;9(4):1665–1679. PMID: 30847063. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ece3.4809>.
- Togaki, D., Doi, H. & Katano, I. Correction to: Detection of freshwater mussels (*Sinanodonta* spp.) in artificial ponds through environmental DNA: a comparison with traditional hand collection methods. Limnology 21, 267 (2020). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10201-020-00608-0>.
- Uchii K., Doi H., Okahashi T., Katano I., Yamanaka H., Sakata M. K., *et al.* (2019). Comparison of inhibition resistance among PCR reagents for detection and quantification of environmental DNA. Environ. DNA 1, 359–367. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/edn3.37>.
- Ushio M., Fukuda H., Inoue T., Makoto K., Kishida O., Sato K., Murata K., Nikaido M., Sado T., Sato Y., Takeshita M., Iwasaki W., Yamanaka H., Kondoh M., Miya M. Environmental DNA enables detection of terrestrial mammals from forest pond water. Mol Ecol Resour. (2017) Nov;17(6):e63–e75. Epub 2017 Jun 11. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12690>.
- Ushio M., Murata K., Sado T., Nishiumi I., Takeshita M., Iwasaki W., Miya M. Demonstration of the potential of environmental DNA as a tool for the detection of avian species. Sci Rep. (2018) Mar 14;8(1):4493. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22817-5>.
- Ushio, M. (2022). Interaction capacity as a potential driver of community diversity. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 289(1969), 20212690. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rspb.2021.2690>.
- Valentini A., Taberlet P., Miaud C., Civade R., Herder J., Thomsen P. F., *et al.* (2016). Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA *metabarcoding*. Mol. Ecol. 25, 929–942. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/mec.13428>.
- Wang P., Yan Z., Yang S., Wang S., Zheng X., Fan J., *et al.* (2019). Environmental DNA: an emerging tool in ecological assessment. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 103, 651–656. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00128-019-02720-z>.

- Yang J., Zhang X. eDNA *metabarcoding* in zooplankton improves the ecological status assessment of aquatic ecosystems. *Environ Int.* (2020) Jan; 134:105230.. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105230>.
- Zhang X., Liu L. Y., Zhao T. T., Chen X. D., Lin S. R., Wang J. Q., *et al.* (2023). GWL_FCS30: a global 30 m wetland map with a fine classification system using multi-sourced and time-series remote sensing imagery in (2020). *Earth Syst. Sci. Data* 15, 265–293. Disponível em: <https://doi.org/10.5194/essd-15-265-2023>.

4 OBJETIVOS

Objetivo geral:

O objetivo geral de pesquisa foi realizar uma caracterização molecular taxonômica da comunidade procariótica, eucariótica, e peixes da Baía de Aratu, por meio do uso do *metabarcoding* de DNA ambiental em amostras de água e sedimento.

Objetivos específicos:

1. Avaliar a composição taxonômica das comunidades procarióticas e eucarióticas em diferentes áreas da Baía de Aratu;
2. Investigar o perfil taxonômico das comunidades procarióticas em diferentes matrizes ambientais na Baía de Aratu;
3. Realizar análise das comunidades de peixes marinhos encontradas via *metabarcoding* 12S rRNA;
4. Identificar a presença de espécies eucarióticas potencialmente não indígenas;
5. Utilizar ferramentas em captura de eDNA para detecção rápida e eficiente de espécies na Baía de Aratu.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia geral do trabalho será apresentada a seguir, e as metodologias mais específicas são apresentadas em detalhe nos artigos.

5.1.1 Área de estudo

A Baía de Aratu, situada na parte nordeste da Baía de Todos os Santos (BTS), constitui-se num pequeno sistema que inclui a própria baía e um canal de 4km de extensão (Canal de Cotegipe), apesar de estreito (largura menor que 500 m), o canal é suficientemente profundo (profundidade ~ 40 m) para permitir a passagem de grandes embarcações que escoam a produção industrial da região. A baía possui uma área de aproximadamente 24,5 km² sendo que 5,7 km² (24% da área total) são ocupadas por áreas intermarés, disposta entre as coordenadas ($-12^{\circ}46'58.97''\text{S}$ - $38^{\circ}27'22.22''\text{W}$) se comunicando com a Baía de Todos os Santos (BTS) através do canal de Cotegipe (Figura 3).

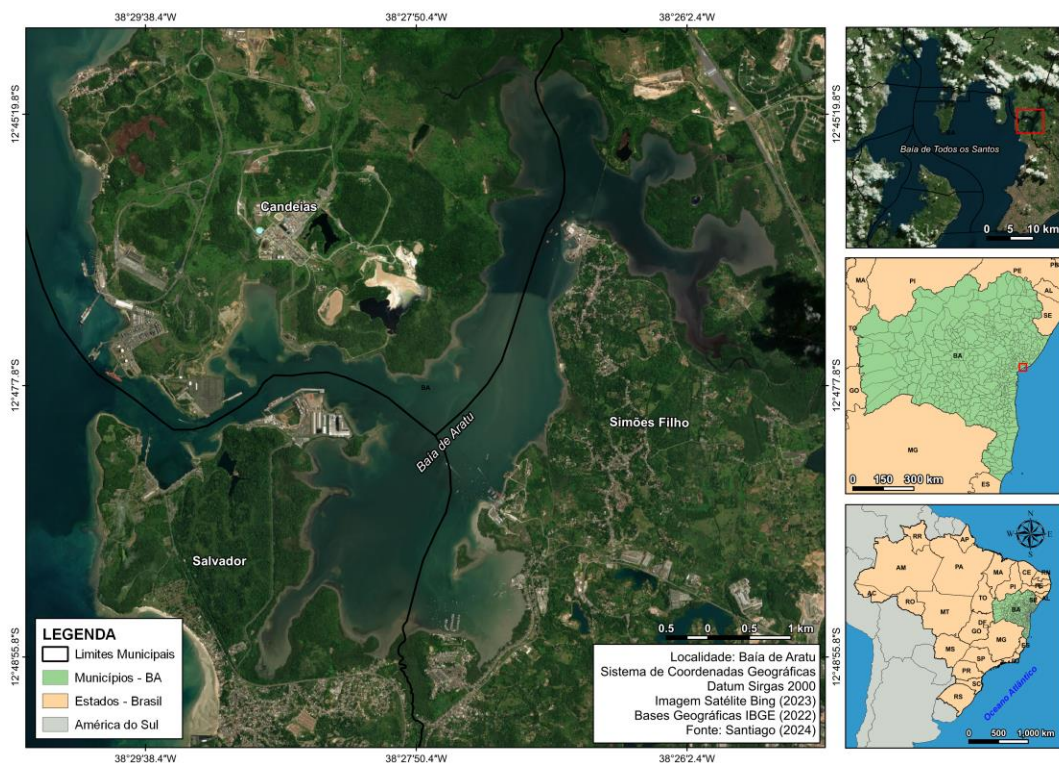


Figura 3: Localização da Baía de Aratu, situada na Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil.

Fonte: Santiago, 2024.

A Baía de Aratu, uma das áreas de maior pressão antrópica na Baía de Todos os Santos, é cercada por diversas atividades humanas, incluindo marinas, indústrias como a Dow Química S.A. e M. Dias Branco, a Base Naval de Aratu e o Porto de Aratu. As zonas intermareais, que se estendem por grande parte da costa da baía (4,4 km²), juntamente com as áreas não vegetadas (1,3 km²), são características predominantes, especialmente nas enseadas e nas desembocaduras dos pequenos rios (Cirano & Lessa, 2007).

A hidrodinâmica da baía é influenciada pela entrada de água doce de três pequenas bacias de drenagem: Macaco (9,57 km²), St. Maria (23,19 km²) e Engenho de Baixo (20,71 km²) (Cirano & Lessa, 2007). Essa dinâmica permite a entrada de substâncias em suspensão na coluna d'água através do Canal de Cotegipe, enquanto exporta apenas aquelas que permanecem na metade superior. Como resultado, a Baía de Aratu atua como um depósito final para várias substâncias, o que pode alterar a qualidade da água e do substrato, afetando o ecossistema local.

A vegetação de manguezal, composta por espécies como o mangue-vermelho (*Rhizophora mangle*) 12°47'46.13" S 38°27'15.83" O, mangue-preto (*Avicennia schaueriana*) 12°47'5.28"S 38°27'47.94" O e mangue-branco (*Laguncularia racemosa*) 12°48'15.27"S 38°28'32.13" O, desempenham um papel crucial na proteção da costa contra erosão, no ciclo de nutrientes e como habitat para uma diversidade de espécies (Figura 4).



Figura 4: Espécies de plantas encontradas na Baía de Aratu: a) Mangue-vermelho; b) Mangue-preto; c) Mangue-branco. Fonte: Santiago, 2024.

No que tange à geomorfologia, pode ser classificada como uma baía de maré, que é um estuário diferenciado, formado por processos tectônicos de larga escala (Queiroz &

Celino, 2008). O clima da região, é caracterizado como tropical úmido, com um marcante ciclo sazonal, possuindo duas estações bem definidas ao longo do ano, uma estação chuvosa (março a julho) e outra seca englobando no restante do ano (Queiroz & Celino, 2008).

5.1.2 Coleta de amostras

Foi realizado um recorte da área da Baía de Aratu, onde foram coletadas amostras de sedimento e água distribuídas por 12 pontos pela Baía de Aratu. As viagens de campo ocorreram em três campanhas, nos meses de março, junho e setembro de 2023. Foram coletadas as amostras de sedimentos próximos as rizosferas em áreas de manguezais, sendo (5 ~ 10 cm) de profundidade da zona superficial, e amostras de água foram coletadas (1 ~ 2 m) da coluna d'água.

5.1.3 Preparação das amostras e sequenciamento dos amplicons

O DNA genômico total das matrizes ambientais (água e sedimento) foi extraído através do kit comercial Quick-DNA/ RNA Viral (*Zymo Research*), seguindo as orientações do fabricante. Após a extração do DNA, foi realizado o PCR para amplificar as regiões. O sequenciamento foi realizado na empresa de biotecnologia Neoprospecta, localizada em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. Foram utilizados os seguintes primers para sequenciamento das amostras (Tabela 1).

Tabela 1: Primers utilizados no presente estudo.

	NOME DO PRIMER	SEQUÊNCIA DO PRIMER	REGIÃO
EUCARIOTOS	F-1183	AATTTGACTCAACACGGG	V9
	R-1631	TACAAAGGGCAGGGACG	
PROCARIOTOS	341F	CCTACGGGRSGCAGCAG	V3/V4
	806R	GGACTACHVGGGTWTCTAAT	
PEIXES	MiFish_UF	GTCGGTAAAACTCGTGCCAGC	V5
	MiFish_EF	GTTGGTAAATCTCGTGCCAGC	
	MiFish_tunaF	CATAGTGGGGTATCTAATCCCAGTTTG	
	MiFish_ER	CATAGTGGGGTATCTAATCCTAGTTTG	
	MiFish_tunaR	TTGCCAGTGGCAGCTACGATC	

As bibliotecas foram sequenciadas utilizando o equipamento *MiSeq Sequencing System* (Illumina Inc., USA), seguindo os protocolos do fabricante, sendo sequenciamento

single-end. Após a demultiplexação, os dados foram armazenados na plataforma BaseSpace para subsequente análise bioinformática.

5.1.4 Tratamento dos dados

Os dados genômicos obtidos foram analisados por meio de ferramentas de bioinformática. As sequências foram submetidas a filtros de qualidade e eliminação de adaptadores com o uso da ferramenta *Trimmomatic* (Cock *et al.*, 2009). Os passos posteriores foram realizados através de ferramentas estatísticas, para visualização gráfica dos dados de abundância por amostra, foi utilizado o programa *SigmaPlot* versão 14.5 (Systat Software Inc., San Jose, Califórnia, EUA), para testes estatísticos e criação de gráficos taxonômicos das amostras. Por fim, as taxas de *reads* (sequências) por amostras, foram tabuladas e plotadas no Excel.

6 BIODIVERSIDADE ICTIOLÓGICA DA BAÍA DE ARATU, BAHIA, BRASIL, POR MEIO DO *METABARCODING* 12S rRNA

Artigo seguindo as normas de submissão para revista Environmental DNA.

[Environmental DNA - Wiley Online Library](#)

6.1 RESUMO

Compreender a biodiversidade de macroorganismos em ambientes estuarinos através de múltiplas dimensões, é um aspecto importante o para avanço de nosso entendimento das comunidades de peixes, bem como, promover a conservação da diversidade. Com o advento da tecnologia do *metabarcoding* de DNA Ambiental (eDNA), conseguimos o exame simultâneo de aspectos genéticos e não genéticos da diversidade destes animais. Neste estudo, nosso foco foi caracterizar a comunidade de peixes na Baía de Aratu, Bahia, Brasil, com ênfase na diversidade filogenética e composição de espécies, através do *metabarcoding* 12S rRNA. Para a coleta das amostras, adotamos um método não invasivo com o uso de uma mini lavadora portátil acoplada a filtros de membrana de celulose de 0,47 µm, que retiveram o eDNA, garantindo sua integridade. Obtivemos um total de 23.414 sequências de uma assembleia diversificada de peixes, abrangendo 22 táxons. Espécies como *Ctenogobius sp.* e *Mugil curema* foram encontradas em mais de um período, enquanto outras, como *Sphoeroides testudineus* e *Gerres cinereus*, apareceram em momentos específicos, sugerindo respostas às variações ambientais. Nossa abordagem, tem o potencial de servir como uma ferramenta de escolha (ou aditiva) para o monitoramento da biodiversidade de peixes de ecossistemas de manguezal. Pois, as amostras marinhas contêm assinaturas moleculares características do habitat e o monitoramento do eDNA pode cobrir eficientemente a diversidade de vertebrados em escalas relevantes para a conservação de peixes. Por fim, destacamos a eficácia da técnica de *metabarcoding* como uma ferramenta sensível e não invasiva para o monitoramento da biodiversidade de peixes na Baía de Aratu, permitindo a detecção de espécies de difícil acesso ou baixa abundância.

Palavras chave: Baía de Todos os Santos, Manguezal, Ictiofauna, Monitoramento ambiental, Metagenômica, DNA ambiental.

6.2 INTRODUÇÃO

Devido ao estresse global da pesca e ao declínio das populações de peixes, faz-se necessário a investigação de novas técnicas para um biomonitoramento sobre a dinâmica populacional e conservação dessas espécies (Todd *et al.*, 2019; Zhen Li *et al.*, 2021; Kume *et al.*, 2021). As abordagens de um monitoramento das populações de peixes marinhos, são geralmente baseadas em métodos tradicionais (captura, sonar e visual) (Lacoursière-Roussel *et al.*, 2018; Stoeckle *et al.*, 2021). No entanto, essas técnicas são invasivas e possuem um impacto ecológico negativo, em que estressam o habitat e as comunidades e, na maioria dos casos, são letais para os organismos. Além disso, possuem custos relativamente altos, pois, precisam de pessoal e equipamentos especializados (Lacoursière-Roussel *et al.*, 2016).

A coleta e análise do DNA ambiental (eDNA) tornou-se uma adição valiosa às técnicas de pesquisa atuais para o estudo das comunidades biológicas (Ficetola & Taberlet, 2023). Transformando rapidamente a forma como ecologistas e gestores conduzem avaliações de biodiversidade (Takahashi *et al.*, 2023). O eDNA refere-se ao material genético que é derramado pelos organismos em seu ambiente (escamas, tecidos, urina, fezes, gametas) (Taberlet *et al.*, 2012; Deiner *et al.*, 2017). Ele pode persistir no ambiente por dias a semanas (Thomsen *et al.*, 2012; Collins *et al.*, 2018), e a análise de eDNA fornece uma resposta rápida dos organismos que habitaram recentemente a área. Essa característica do eDNA é benéfica para monitorar peixes altamente móveis.

Entre as técnicas baseadas em eDNA, o *metabarcoding* de DNA ambiental avançou como uma ferramenta valiosa na identificação para espécies de peixes, abrangendo uma riqueza simultânea taxonômica mais ampla destas comunidades (Deiner *et al.*, 2021). Por meio dessa técnica, o eDNA de amostragem é extraído, amplificado, sequenciado e identificado com base nos códigos de barras de DNA gerados para identificação de várias espécies presentes em uma determinada amostra (sedimento ou água) (Stoeckle *et al.*, 2010; Miya *et al.*, 2015, 2020).

Nesse contexto, a Baía de Aratu, Bahia, Brasil, localizada em uma área estuarina e de manguezal, é um ambiente de alta biodiversidade e relevância ecológica, onde a preservação das espécies de peixes é fundamental tanto para a conservação ambiental quanto para a sustentabilidade das comunidades locais que dependem desses recursos. Neste estudo, avaliamos de forma abrangente a diversidade da ictiofauna da Baía de Aratu, por meio do *metabarcoding* de eDNA. Para isso, empregamos os primers universais MiFish altamente

recomendados, especificamente projetados para atingir a região 12S rRNA das mitocôndrias de peixes (Miya *et al.*, 2015).

Analizamos o eDNA de peixes marinhos em amostras de água coletadas durante os meses de março, junho e setembro de 2023. Utilizando uma metodologia acessível (lavadora mini wap portátil), para amostragem de coleta do DNA ambiental. Procuramos inspirar iniciativas semelhantes na pesquisa da biodiversidade de peixes marinhos para uma melhor compreensão da biodiversidade em grupos taxonômicos e ecossistemas de manguezais.

6.3 MATERIAIS E MÉTODOS

6.3.1 Local de amostragem

O presente estudo foi realizado na Baía de Aratu, situada na parte nordeste da Baía de Todos os Santos (BTS), Bahia, Brasil (Figura 1). A BTS é a maior baía do Brasil, e um dos ecossistemas mais importantes do país. A Baía de Aratu, constitui-se num pequeno sistema que inclui a própria baía e um canal de 4km de extensão (Canal de Cotegipe), apesar de estreito (largura menor que 500 m), o canal é suficientemente profundo (profundidade ~ 40 m) (Cirano & Lessa, 2009) para permitir a passagem de grandes embarcações que escoam a produção industrial da região.

A Baía possui uma área de aproximadamente 24,5 km² sendo que 5,7 km² (24% da área total) são ocupadas por áreas intermarés, disposta entre as coordenadas 12°47'1"S e 38°28'2"W, se comunicando com a Baía de Todos os Santos (BTS) através do canal de Cotegipe (Cirano & Lessa, 2009). Abrigando assim, uma combinação de atividades industriais e uma rica biodiversidade.

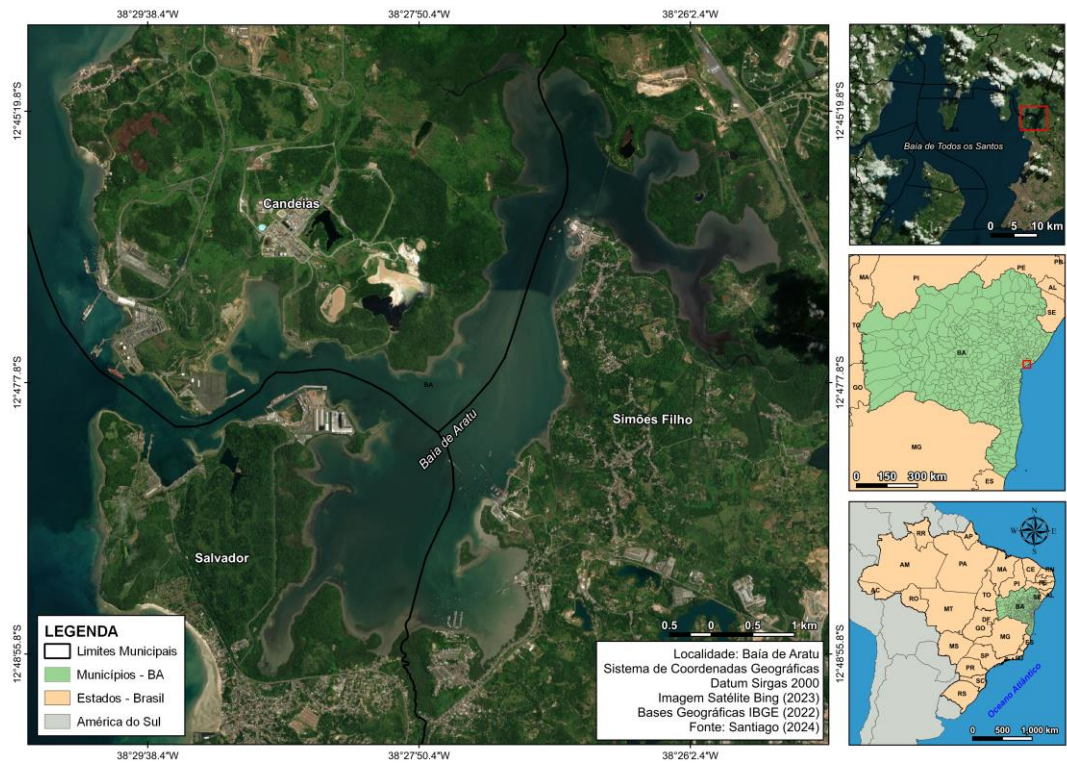


Figura 1. Mapa de localização da Baía de Aratu, Bahia, Brasil. Fonte: Santiago, 2024.

6.3.2 Coleta de amostras de água e filtragem de eDNA

Para amostragem do eDNA, foram realizadas 3 campanhas, nos meses de março, junho e setembro de 2023, sendo selecionados 12 pontos na Baía (Tabela 1).

Tabela 1. Coordenadas dos pontos coletados e datas das campanhas realizadas.

Pontos	Latitude	Longitude	Datas
1	12°47'51.11"S	38°27'21.20"O	1ª coleta 13/março/2023
1,1	12°47'58"S	38°27'23"O	
2	12°48'3.37"S	38°27'30.03"O	
2,1	12°48'9.35"S	38°27'28.04"O	
3	12°48'15.27"S	38°28'32.13"O	2ª coleta 05/junho/2023
3,1	12°48'25.68"S	38°28'35"O	
4	12°47'39.70"S	38°28'10.86"O	
4,1	12°47'43.62"S	38°28'31.68"O	3ª coleta 14/setembro/2023
4,2	12°47'30.24"S	38°28'28.54"O	
5	12°47'5.86"S	38°27'59.72"O	
5,1	12°47'5.28"S	38°27'47.94"O	
6	12°47'46.13"S	38°27'15.83"O	

Os locais de amostragem foram selecionados com base na entrada e saída de embarcações na Baía, bem como, locais que possuíam ações antrópicas (área de pesca, industrial, marina) (Figura 2).

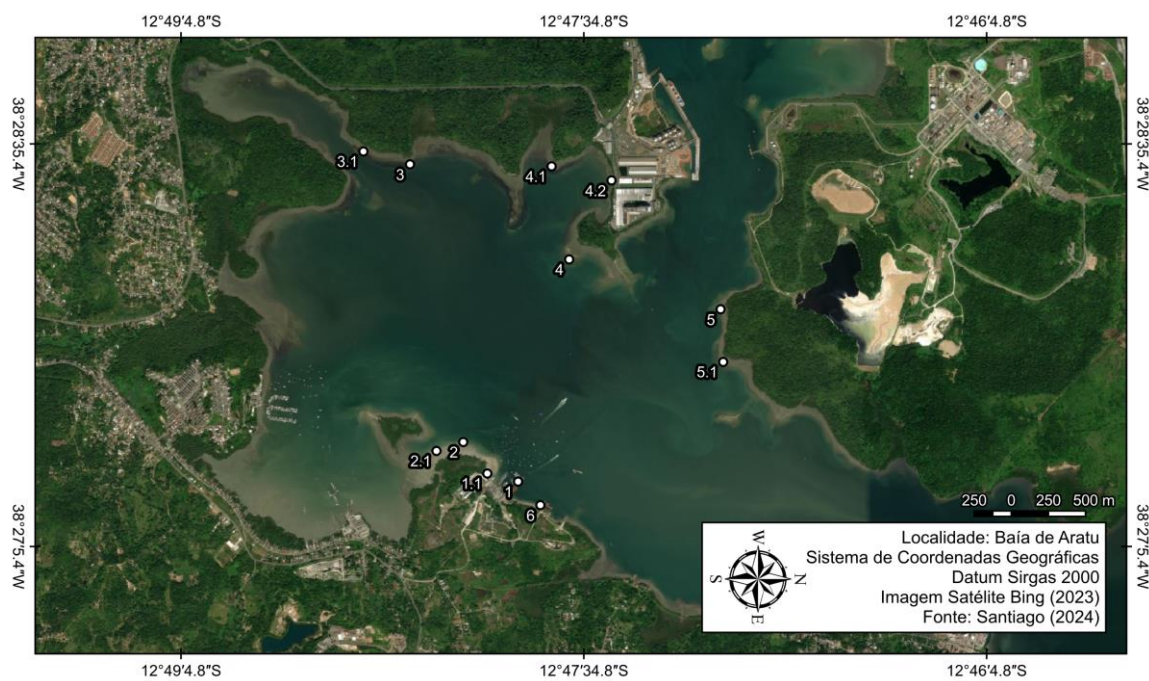


Figura 2. Locais de amostragem na Baía de Aratu. No total, foram amostrados 12 locais para coleta de água. Fonte: Santiago, 2024.

As amostras de água foram coletadas através de um sistema de bombeamento de sucção modificado (lavadora mini wap portátil, com uma mangueira acoplada e na saída um sistema de irrigação) com especificações de 10,5 x 36,5 x 28,5 cm; 2,09 quilogramas, modelo DS12719, bivolt, com bateria lítio de 96VF. Sendo o volume padrão de captação de água de 1L por amostra (Figura 3).

A filtração foi realizada utilizando filtros de membrana de celulose – *Sartorius* (0.47 mm) de diâmetro e tamanho de poro de 0,45 μ M. Ao final de cada coleta, foi adicionado 500 uL de *shield* (solução estabilizante de DNA e RNA para preservação da integridade genética da amostra) em cada microtubo com os filtros, e em seguida foram acondicionados em uma caixa térmica com gelo, sendo transferidas para o Laboratório de Microbiologia Ambiental e Saúde Pública (LAMASP) da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Bahia. Onde foram armazenados em -20°C antes da extração de DNA.

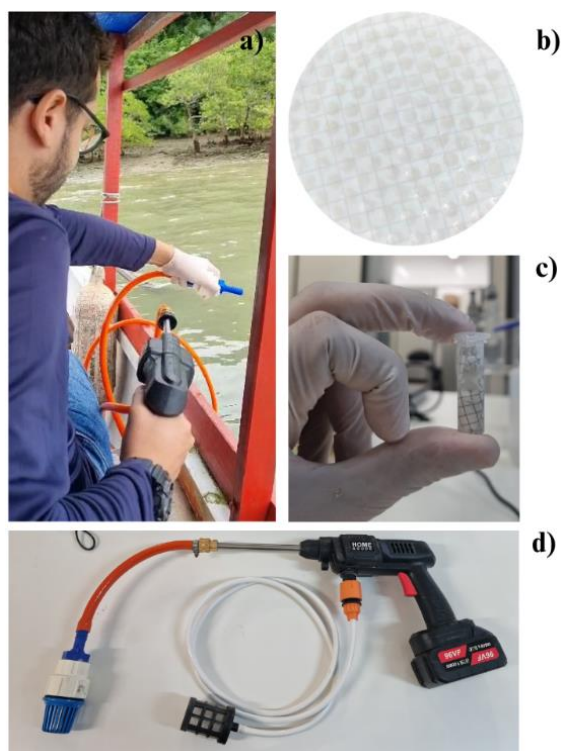


Figura 3. a) Demonstração da captura do eDNA em amostras de água; b) filtro saturado após atingir 1L de água coletada; c) filtros armazenados com *shield* para conservação d) ferramenta utilizada para captura de amostras.

É importante destacar que, nenhum animal foi alojado ou experimentado como parte deste estudo e nenhuma espécie ameaçada ou protegida foi coletada.

6.3.3 Extração de DNA

Foi utilizado um pool de amostras de água para a captura de eDNA de peixes marinhos para extração de DNA. Os 12 pontos de coleta foram agrupados em seus respectivos meses (março, junho e setembro), totalizando em 3 extrações. Buscou-se essa metodologia para um aumento na detecção das espécies, ao combinar amostras de diferentes pontos, melhoramos as chances da detecção da presença dos peixes, especialmente aqueles de baixa abundância. Os filtros foram cortados ao meio, uma metade sendo usada para extração, e a outra metade foi deixada em *shield* em seu respectivo microtubo previamente identificado, para eventual necessidade de se fazer uma nova extração em futuros trabalhos. As extrações foram realizadas em capela de fluxo laminar esterilizada por UV e todos os instrumentos de extração e espaços de bancada foram esterilizados com luz UV e álcool 95%. Toda a pipetagem foi realizada utilizando-se ponteiras estéreis de filtro de barreira.

Para extração de DNA, resumidamente, foram pipetados 400 µL de *shield* por microtubo com os filtros das amostras coletadas, e adicionados em tubos tipo eppendorf de 1.5 mL, previamente identificados, seguidos por 400 µL de tampão de DNA/ RNA viral e 25 µL de proteinase K, vórtice e incubados a 40°C durante a noite. Nesse contexto, utilizamos uma estante magnética para facilitar e otimizar os procedimentos de extração e seguimos o protocolo do kit *Quick-DNA/ RNA Viral MagBead* (Zymo Research) para próximas etapas de extração. Ao final, cada extração de eDNA foi diluída em 20 µL de água ultra pura para quantificação em espectrofotômetro (Thermo Scientific Série NanoDrop), a serem armazenadas a -80°C.

6.3.4 Preparação da biblioteca para os amplicons

Para preparação das bibliotecas para sequenciamento de amplicons de peixes foi realizada uma seleção de 3 (três) pares de oligonucleotídeos (primers) (Tabela 2) para a região V5 do gene 12S rRNA em um protocolo de PCR de duas etapas (Miya *et al.*, 2015). Eles identificam regiões conservadas no DNA mitocondrial de centenas de espécies de peixes e amplificam regiões hipervariáveis, fornecendo um “código de barras” que permite identificar os peixes com um refinamento taxonômico a nível de espécie. Dois dos pares, considerados universais para peixes em geral e elasmobrânquios (tubarões e raias), amplificam uma sequência curta (< 200 bp) do gene de RNA ribossômico 12S. O terceiro par de primers foi desenhado especificamente para diferenciar espécies muito proximamente relacionadas de atum, baseado em um fragmento (180 pb) da sequência de outro gene, ND5. Ele é usado para analisar relações evolutivas e diversidade genética. Sendo assim, o ND5 complementa o 12S rRNA no sentido de fornecer diferentes tipos de informações genéticas para detecção de peixes.

Tabela 2. Conjuntos de primers utilizados para amplificação da PCR.

Nome do primer	Sequência do primer	Região
MiFish_UF	GTCGGTAAACTCGTGCCAGC	V5
MiFish_EF	GTTGGTAAATCTCGTGCCAGC	
MiFish_tunaF	ATGTCCTTCCTCCTTATCGGCTG	
MiFish_UR	CATAGTGGGGTATCTAATCCCAGTTTG	
MiFish_ER	CATAGTGGGGTATCTAATCCTAGTTTG	
MiFish_tunaR	TTGCCAGTGGCAGCTACGATC	

O processo de PCR de ciclagem térmica utilizou 95 °C para desnaturação, 65 °C para recozimento e 30 ciclos para amplificação. Os primers utilizados na primeira PCR, além de conterem região alvo específica para a região V5, possuem também uma região correspondente a um adaptador Illumina parcial, baseado na estrutura TruSeq (Illumina, EUA). A presença deste adaptador permite uma segunda PCR que adiciona as sequências de indexação, que é feita com índices duplos exclusivos para cada amostra na segunda PCR. Os produtos foram visualizados em gel de agarose E-Gel EX a 2% executado em um dispositivo de eletroforese Power Snap (Thermo Fisher) para verificar faixas de tamanho. As bibliotecas passaram por uma avaliação de qualidade antes de serem sequenciadas utilizando o equipamento *MiSeq Sequencing System* (Illumina Inc., USA).

6.3.5 Sequenciamento e tratamento dos dados

O sequenciamento foi realizado na empresa de biotecnologia Neopropecta, localizada em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. Foi usado um *MiSeq Sequencing System* (Illumina Inc., USA), com um sequenciamento do tipo single-end, com cobertura mínima necessária estimada de 45.000 *reads*. Após o sequenciamento, os dados foram enviados para o Basespace e para bancos de dados da Neopropecta, onde são armazenados antes de serem analisados com o pipeline Sentinel. Este é um programa próprio da Neopropecta responsável por realizar a identificação metataxonômica de dados de sequenciamento de amplicons de marcadores genéticos para plataformas Illumina. Esse software foi construído em Python 3.6, e tem como uma das principais funcionalidades o pacote BioPython (Cock *et al.*, 2009).

O pipeline implementado administrou uma série de etapas que processaram os dados recebidos do sequenciamento, como avaliação de qualidade, *trimming* de sequências, filtragem de abundância, atribuição de taxonomia, filtragem de controles, etc. Inicialmente, os arquivos fastq foram avaliados quanto a qualidade Phred (QP) utilizando o programa FastQC v.0.11.8 (Andrews, 2010), e, depois, submetidos à trimmagem de primers e remoção de sequências com baixa qualidade (Phred < 20). Os *reads* que passam pelos filtros de qualidade são agrupados de forma a eliminar a redundância de sequências idênticas, formando clusters. Com isso, clusters com abundância menor do que 5, são removidos das análises, já que tais estruturas normalmente são relacionadas a sequências quimeras (Smyth *et al.*, 2010).

As identificações taxonômicas foram realizadas através do BLASTN v.2.6.0+, usando como referência um banco de dados proprietário ou público (Neopropecta). Quanto a definição da espécie, dentre os 20 hits retornados para cada cluster, uma instrução em Python

avalia se um dos três quesitos foram atendidos pelos hits: 1) maior bit-score; 2) menor e-value; e 3) taxonomias com maior representação. Os hits que atenderam um dos itens anteriores, são escolhidos como espécie representante, utilizando o valor de 99% de identidade como corte de identidade. Todas análises foram realizadas na plataforma computacional do Google Cloud Platform, onde a estrutura de bioinformática da Neoprospecta está hospedada.

6.3.6 Análise de dados

Os dados obtidos foram tabulados e analisados por meio dos algoritmos do programa estatístico Sigma Plot versão 14.5 (Systat Software Inc., San Jose, Califórnia, EUA). Inicialmente, os dados foram testados quanto a sua normalidade e homogeneidade e, então, submetidos ao teste de Análise de variância (One Way ANOVA) para medidas repetidas, com objetivo de investigar se havia diferenças estatisticamente significativas entre as médias dos valores nos diferentes meses. Posteriormente, foi realizado o teste de Tukey para realizar comparações múltiplas pós ANOVA, para identificar especificamente quais pares de grupos diferem entre si de maneira estatisticamente significativa. O diagrama de Venn foi gerado usando o programa Venny 2.0.

6.4 RESULTADOS

6.4.1 Intensidade de leituras por espécie

O sequenciamento do amplicon resultou em 7.847 leituras para o mês de março, 6.576 em junho e 8.891 em setembro, resultando em 23.414 leituras brutas totais. O uso combinado dos três conjuntos de pares de primers derivou na identificação de um total de 22 táxons únicos de peixes (Figura 6).

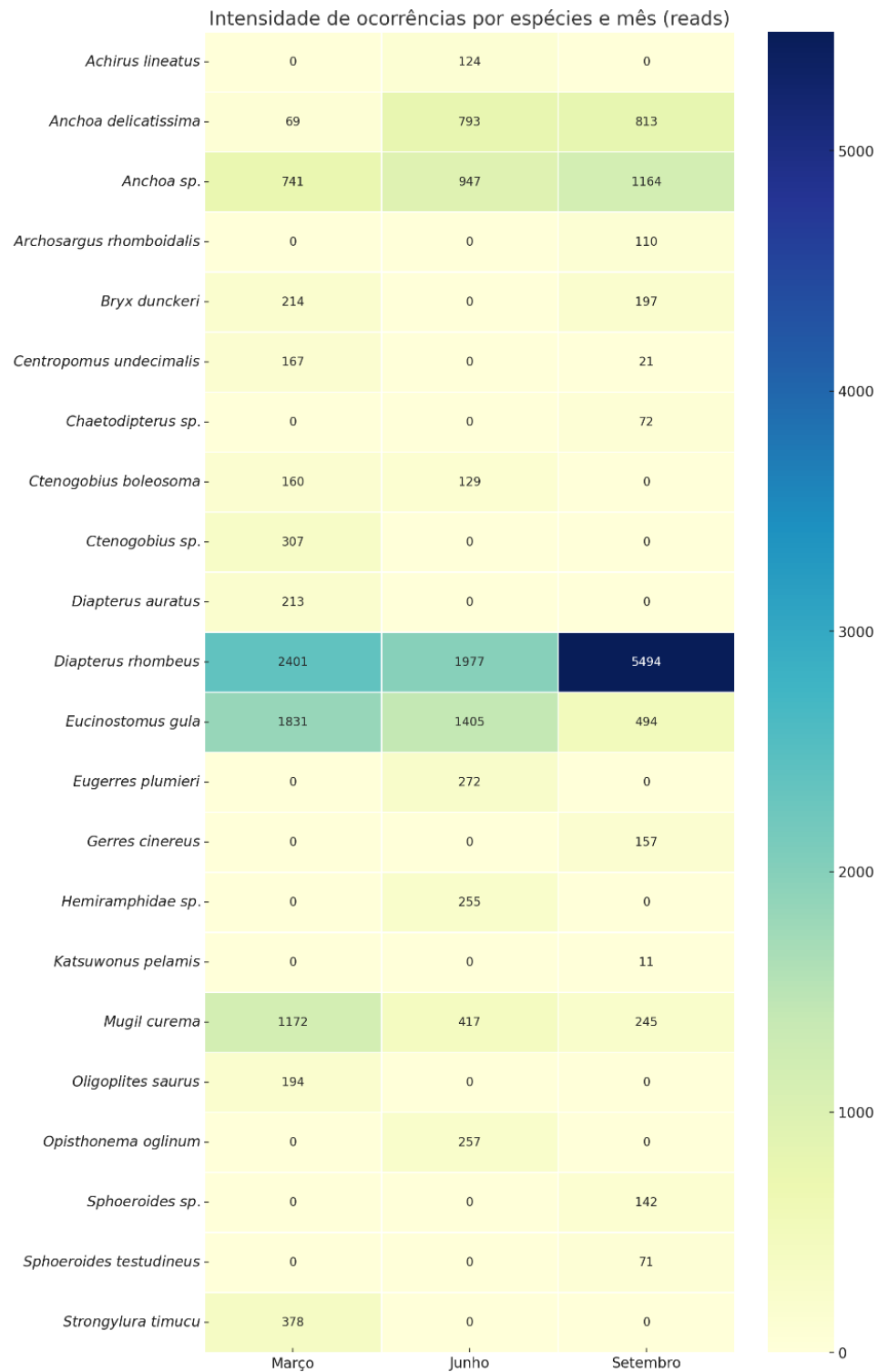


Figura 4. Visão detalhada sobre a distribuição temporal e a abundância relativa das espécies de peixes na Baía de Aratu ao longo dos meses.

6.4.2 Taxonomia e abundância

Diante os dados obtidos, nota-se uma variação na composição e abundância das ordens, famílias, gêneros e espécies de peixes na Baía de Aratu ao longo dos três períodos analisados (Figura 4). Observou-se uma dominância consistente de grupos taxonômicos específicos, como Gerreiformes e Gerreidae, o que indica sua importância ecológica neste ecossistema de manguezal. Além disso, a variação sazonal sugere que fatores ambientais, como temperatura, salinidade e disponibilidade de recursos, influenciam diretamente a estrutura das comunidades de peixes.

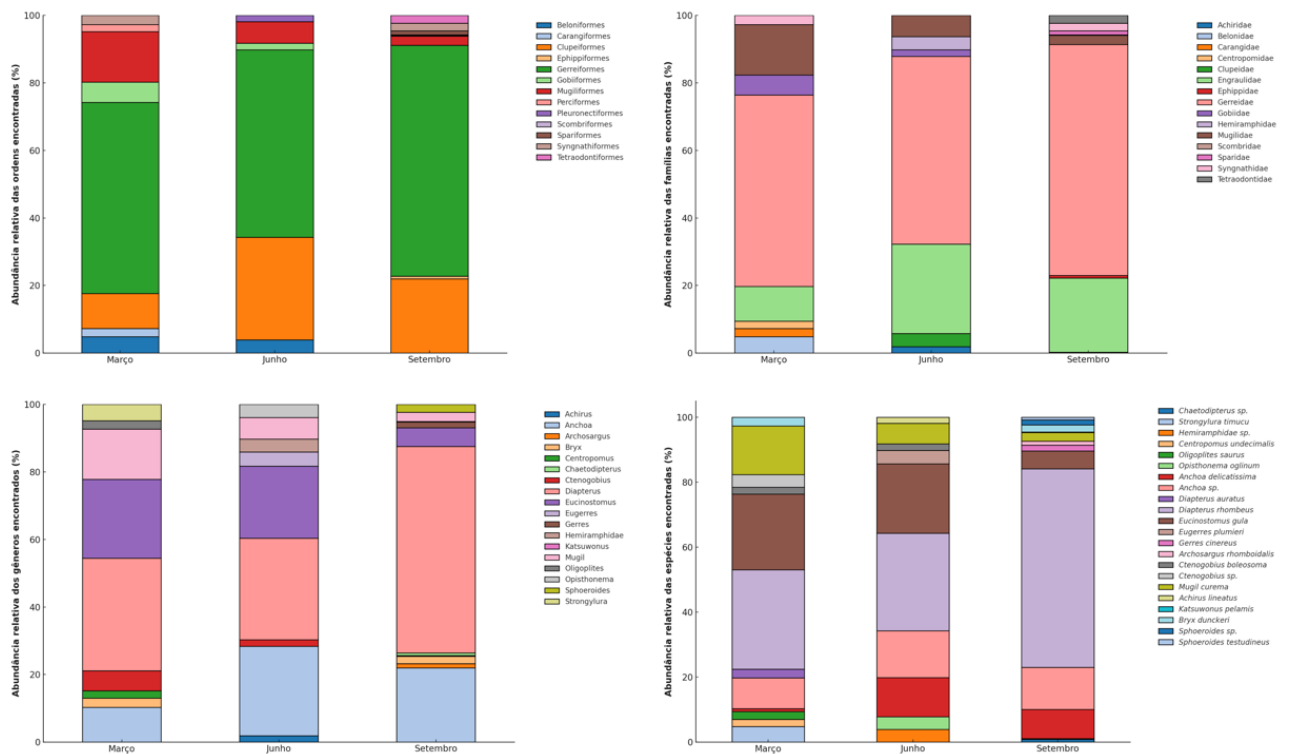


Figura 5. Distribuição da abundância relativa dos diferentes grupos taxonômicos de peixes marinhos identificados na Baía de Aratu.

A riqueza de espécies revela alterações na composição dos peixes (Figura 5). Em março, a riqueza de espécies é caracterizada por *Ctenogobius sp.*, *Strongylura timucu*, *Oligoplites saurus* e *Diapterus auratus*, observadas apenas neste mês, sugerindo uma alta capacidade de adaptação a condições específicas do mês. Em junho, a riqueza é representada por outras espécies, incluindo *Eugerres plumieri*, *Opisthonema oglinum*, *Hemiramphidae sp.*, e *Achirus lineatus*, que podem responder sazonalmente às variações de temperatura e disponibilidade de recursos. Setembro também caracteriza uma riqueza composta por

Sphoeroides testudineus, *Archosargus rhomboidalis*, *Sphoeroides* sp., *Chaetodipterus* sp., *Katsuwonus pelamis* e *Gerres cinereus*, observados exclusivamente neste mês. Além das espécies exclusivas de cada mês, destaca-se a espécie *Ctenogobius boleosoma*, única espécie encontrada nos meses de junho e setembro, isso provavelmente reflete uma combinação de fatores sazonais, ambientais e ecológicos que regulam o comportamento e a distribuição da espécie ao longo do ano. Por fim, notou-se a presença constante de *Mugil curema*, *Diapterus rhombeus*, *Eucinostomus gula*, *Anchoa delicatissima* e *Anchoa* sp., espécies comuns em habitats de manguezal. Isso reflete em uma resiliência e adaptação as variações sazonais do ambiente ao longo do ano.

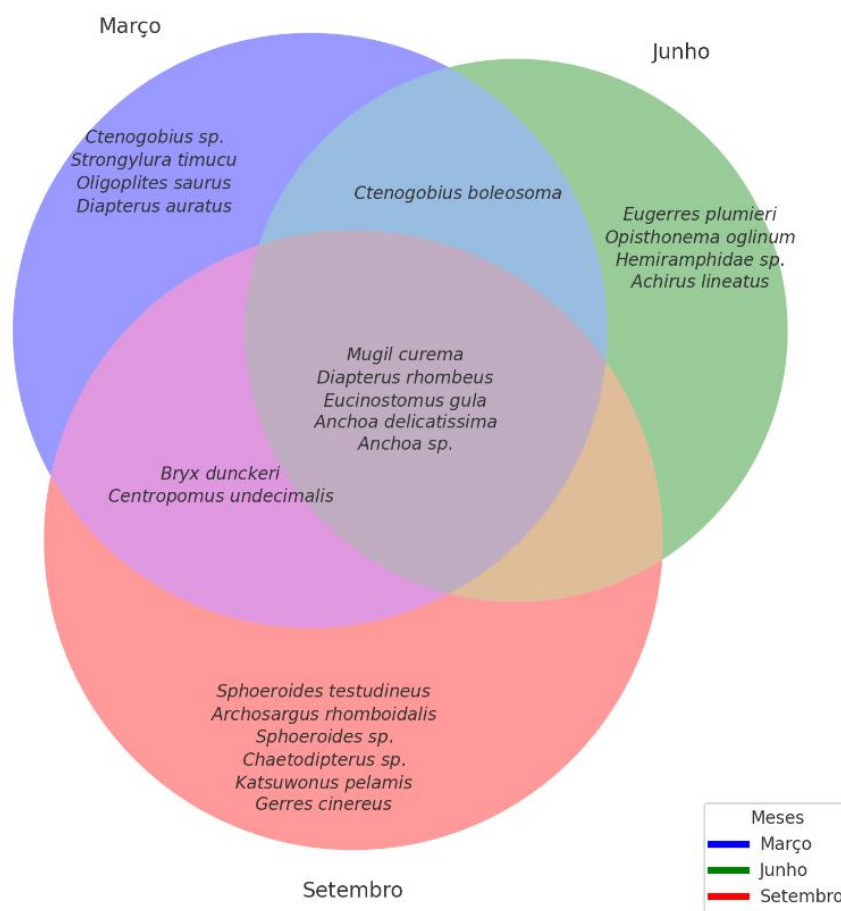


Figura 6. Distribuição das espécies identificadas, evidenciando as exclusividades mensais e a presença contínua de determinados táxons.

Nesse contexto, compreender esses padrões de distribuição é essencial para o manejo e a conservação das espécies de peixes da Baía de Aratu, os resultados obtidos servirão como estratégias para o biomonitoramento local e conservação, além do manejo sustentável dos recursos pesqueiros locais, contribuindo para uma gestão eficaz no habitat.

6.4.3 Análise estatística

Foi realizado o teste Análise de Variância (One Way ANOVA), indicando diferenças estatisticamente significativas entre as médias dos 22 táxons encontrados ($F = 7,315$). A variabilidade entre as médias dos grupos foi substancialmente maior do que a variabilidade dentro dos grupos, sugerindo que as diferenças observadas não são devidas ao acaso ($P < 0,001$) (Tabela 3).

Tabela 3. Resultados obtidos através do teste de análise de variância (One Way ANOVA).

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Entre grupos	21	33883034,788	1613477,847	7,315	<0,001
Residual	44	9704529,333	220557,485		
Total	65	43587564,121			

Os resultados de comparações múltiplas (Tukey,1949) indicaram que a espécie *Diapterus rhombeus* possui características significativamente diferentes, em termos da variável analisada, quando comparada aos outros táxons encontrados (Tabela 4). A consistência dos baixos valores p ($< 0,001$) em todas as comparações envolvendo a espécie, indica que essas diferenças são uma variação real nas médias dos grupos.

Tabela 4. Resultados do teste de comparações múltiplas de Tukey.

Comparações	Diferença das médias	P	Q (teste tukey)	P	P > 0,050
<i>Diapterus rhombeus</i> vs <i>Katsuwonus pelamis</i>	3287,000	22	12,123	<0,001	Sim
<i>Diapterus rhombeus</i> vs <i>Sphoeroides sp.</i>	3267,000	22	12,049	<0,001	Sim
<i>Diapterus rhombeus</i> vs <i>Chaetodipterus sp.</i>	3266,667	22	12,048	<0,001	Sim
<i>Diapterus rhombeus</i> vs <i>Archosargus rhomboidalis</i>	3254,000	22	12,001	<0,001	Sim
<i>Diapterus rhombeus</i> vs <i>Achirus lineatus</i>	3249,333	22	11,984	<0,001	Sim
<i>Diapterus rhombeus</i> vs <i>Sphoeroides testudineus</i>	3243,333	22	11,962	<0,001	Sim
<i>Diapterus rhombeus</i> vs <i>Gerres cinereus</i>	3238,333	22	11,943	<0,001	Sim
<i>Diapterus rhombeus</i> vs <i>Centropomus undecimalis</i>	3228,000	22	11,905	<0,001	Sim
<i>Diapterus rhombeus</i> vs <i>Oligoplites saurus</i>	3226,000	22	11,898	<0,001	Sim
<i>Diapterus rhombeus</i> vs <i>Diapterus auratus</i>	3219,667	22	11,874	<0,001	Sim
<i>Diapterus rhombeus</i> vs <i>Hemiramphidae sp.</i>	3205,667	22	11,823	<0,001	Sim
<i>Diapterus rhombeus</i> vs <i>Opisthonema oglinum</i>	3205,000	22	11,820	<0,001	Sim
<i>Diapterus rhombeus</i> vs <i>Eugerres plumieri</i>	3200,000	22	11,802	<0,001	Sim
<i>Diapterus rhombeus</i> vs <i>Ctenogobius sp.</i>	3194,333	22	11,781	<0,001	Sim

<i>Diapterus rhombeus</i> vs <i>Ctenogobius boleosoma</i>	3188,333	22	11,759	<0,001	Sim
<i>Diapterus rhombeus</i> vs <i>Strongylura timucu</i>	3164,667	22	11,672	<0,001	Sim
<i>Diapterus rhombeus</i> vs <i>Bryx dunckeri</i>	3153,667	22	11,631	<0,001	Sim
<i>Diapterus rhombeus</i> vs <i>Anchoa delicatissima</i>	2732,333	22	10,077	<0,001	Sim
<i>Diapterus rhombeus</i> vs <i>Mugil curema</i>	2679,333	22	9,882	<0,001	Sim
<i>Diapterus rhombeus</i> vs <i>Anchoa sp.</i>	2340,000	22	8,630	<0,001	Sim
<i>Diapterus rhombeus</i> vs <i>Eucinostomus gula</i>	2047,333	22	7,551	<0,001	Sim

O destaque significativo de *Diapterus rhombeus* nas análises, pode ser descrito por suas características ecológicas ou biológicas que os diferenciam das outras espécies encontradas. Por exemplo, essa espécie pode apresentar uma vantagem adaptativa a habitats estuarinos e de manguezais superiores quando comparada as outras espécies de peixes encontradas, ao contrário do *Katsuwonus pelamis*, essa espécie de atum é oceânica e não é típica de manguezais, sendo encontrada em mar aberto.

6.4.4 Lista descritiva das espécies encontradas

A partir dos resultados encontrados, foi elaborada uma lista de todas as espécies de peixes que foram detectados na Baía de Aratu por meio do *metabarcoding* 12S rRNA. Isso totalizou 22 espécies, entre as quais foram encontradas espécies comuns em habitats de manguezal, áreas costeiras, estuarinas e, associadas a mar aberto (Tabela 5). Para cada espécie, foram incluídas informações adicionais, como o status da Lista Vermelha da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN) (IUCN, 2017), nome autoral, distribuição, habitat, faixa de profundidade, dieta, reprodução e comportamento migratório com base no compilado de dados de Holzer (2008).

Tabela 5. Lista dos peixes encontrados na Baía de Aratu.

Nome científico	Autoral	Distribuição	Habitat	Faixa de profundidade	Dieta	Reprodução	Comportamento migratório	Status IUCN
<i>Achirus lineatus</i>	Linnaeus, 1758	Atlântico Ocidental	Estuários e águas costeiras	0-30m	Carnívoro	Ovíparo	Limitado	LC
<i>Anchoa delicatissima</i>	Girard, 1858	Costa do Atlântico Norte	Águas costeiras	0-20m	Planctívoro	Ovíparo	Limitado	LC
<i>Anchoa sp.</i>	Autoridades variadas	Cosmopolita em águas tropicais e subtropicais	Águas costeiras	0-30m	Planctívoro	Ovíparo	Limitado	LC
<i>Archosargus rhomboidalis</i>	Linnaeus, 1758	Atlântico Ocidental	Estuários, recifes e manguezais	0-50m	Onívoro	Ovíparo	Limitado	LC
<i>Bryx dunckeri</i>	Metzelaar, 1919	Atlântico Ocidental	Estuários e recifes de coral	0-50m	Onívoro	Ovíparo	Limitado	LC
<i>Centropomus undecimalis</i>	Bloch, 1792	Atlântico Ocidental	Estuários e rios	0-30m	Carnívoro	Ovíparo	Costeiro	LC
<i>Chaetodipterus sp.</i>	Autoridades variadas	América Tropical	Costeiro, recifes de coral	0-50m	Onívoro	Desova pelágica	Limitado	LC
<i>Ctenogobius sp.</i>	Autoridades variadas	Cosmopolita em águas tropicais e subtropicais	Estuários e manguezais	0-20m	Carnívoro	Ovíparo	Limitado	NE
<i>Ctenogobius boleosoma</i>	DeKay, 1842	Atlântico Ocidental	Estuários e manguezais	0-20m	Carnívoro	Ovíparo	Limitado	LC
<i>Diapterus auratus</i>	Ranzani, 1842	Atlântico Ocidental	Estuários e águas costeiras	0-50m	Onívoro	Ovíparo	Costeiro	LC
<i>Diapterus rhombeus</i>	Cuvier, 1829	Atlântico Ocidental	Estuários e águas costeiras	0-50m	Onívoro	Ovíparo	Costeiro	LC
<i>Eucinostomus gula</i>	Quoy & Gaimard, 1824	Atlântico Ocidental	Estuários e águas costeiras	0-30m	Onívoro	Ovíparo	Limitado	LC

Nome científico	Autoral	Distribuição	Habitat	Faixa de profundidade	Dieta	Reprodução	Comportamento migratório	Status IUCN
<i>Eugerres plumieri</i>	Cuvier, 1830	Atlântico Ocidental	Estuários e águas costeiras	0-50m	Onívoro		Ovíparo	Limitado LC
<i>Gerres cinereus</i>	Walbaum, 1792	Atlântico Ocidental	Estuários e águas costeiras	0-50m	Onívoro		Ovíparo	Limitado LC
<i>Hemiramphidae sp.</i>	Autoridades variadas	Cosmopolita em águas tropicais e subtropicais	Costeiro, águas superficiais	0-20m	Onívoro		Ovíparo	Limitado NE
<i>Katsuwonus pelamis</i>	Linnaeus, 1758	Cosmopolita em águas tropicais e subtropicais	Oceânico, pelágico	0-200m	Piscívoro		Ovíparo	De longo alcance LC
<i>Mugil curema</i>	Valenciennes, 1836	Atlântico Ocidental	Estuários e águas costeiras	0-30m	Detritívoro		Ovíparo	Entre estuários e águas abertas LC
<i>Oligoplites saurus</i>	Bloch & Schneider, 1801	Atlântico Ocidental	Águas costeiras	0-50m	Piscívoro		Ovíparo	Não migratório LC
<i>Opisthonema oglinum</i>	Lesueur, 1818	Atlântico Ocidental	Águas costeiras	0-30m	Planktívoro		Ovíparo	Não migratório LC
<i>Sphoeroides sp.</i>	Autoridades variadas	Cosmopolita em águas tropicais e subtropicais	Estuários e recifes de coral	0-50m	Onívoro		Ovíparo	Limitado LC
<i>Sphoeroides testudineus</i>	Linnaeus, 1758	Atlântico Ocidental	Estuários e recifes de coral	0-50m	Onívoro		Ovíparo	Limitado LC
<i>Strongylura timucu</i>	Walbaum, 1792	Atlântico Ocidental	Estuários e águas costeiras	0-10m	Piscívoro		Vivíparo	Curtos em estuários LC

Explicação sobre a categoria IUCN:

LC (Least Concern): Espécie considerada em risco baixo de extinção;

NE (Not Evaluated): Uma espécie não é avaliada quando ainda não foi submetida aos critérios de avaliação de risco.

6.5 DISCUSSÃO

Neste estudo mostramos que nossa abordagem foi eficaz para coleta de DNA ambiental, conseguimos capturar uma rica diversidade de espécies de peixes. O sistema de sucção pela lavadora portátil, permitiu a coleta de grandes volumes de água de forma rápida e eficiente. Isso garantiu um aumento na probabilidade de captura de eDNA, especialmente em ambientes complexos como a Baía de Aratu, uma área estuarina e de manguezal, em que o DNA pode estar mais disperso devido às correntes e ao fluxo de água. Os filtros de 0,45 mm forneceram uma filtragem precisa e sensível das amostras, garantindo uma retenção eficaz de partículas de DNA suspensas na água, que foram essenciais para a identificação das espécies encontradas. Essa precisão na coleta é bastante importante para o sucesso do *metabarcoding*, que depende da integridade e qualidade das amostras de DNA para fornecer resultados confiáveis.

6.5.1 Comparação com outros métodos para captura de peixes

Estudos realizados com *metabarcoding* de eDNA, mostraram que há uma detecção maior de espécies de peixes quando comparadas a outros métodos tradicionais, principalmente em ambientes complexos como os ecossistemas de manguezais (Thomsen *et al.*, 2012; Valentini *et al.*, 2016). Nossos resultados reforçam esses achados, demonstrando principalmente que o eDNA não só amplia a detecção de espécies, mas também oferece uma maneira menos perturbadora para monitoramento da biodiversidade.

Santos (2003), usou redes-de-abalo em seu estudo na Baía de Todos os Santos (BTS), identificando a presença das espécies *Centropomus undecimalis* e *Diapterus rhombeus*. Reis Filho (2010) por meio de redes de emalhar, identificou as espécies *Mugil curema* e *Oligopites saurus*. Barreto (2010) por meio de redes de arrasto, encontrou as espécies *Opisthonema oglinum*, *Eucinostomus gula*, *Archosargus rhomboidalis*. Silva (2016), por meio de redes de arrasto, encontrou a espécie *Achirus lineatus* em seu estudo. Visto isso, todas essas espécies citadas também foram encontradas em nosso estudo, evidenciando a eficácia do *metabarcoding* de eDNA na detecção de espécies ecologicamente importantes, além do menor esforço amostral exigido através da coleta. Por outro lado, Santos (2005), através de linhadas de mão e puçás, identificou a presença de *Omobranchus punctatus* um peixe do Indo-pacífico, não endêmico da BTS. Duarte (2017), por meio de mergulho livre

identificou a espécie *Scarus trispinosus*, um peixe ameaçado de extinção, nosso estudo não detectou a presença das espécies.

A metodologia desenvolvida no presente trabalho para caracterização da comunidade de peixes presentes na Baía de Aratu, permitiu a detecção de um espectro amplo de espécies. O *metabarcoding* de eDNA demonstrou ser mais sensível para a detecção de espécies menos abundantes e também daquelas que habitam áreas de difícil acesso. Por exemplo, espécies como *Ctenogobius sp.* e *Bryx dunckeri* que podem não ser capturadas por redes ou armadilhas frequentemente, devido serem de pequeno porte e possuírem comportamentos crípticos, foram detectadas em nosso estudo.

6.6 CONCLUSÃO

Nosso estudo destaca a eficácia no uso do *metabarcoding* de eDNA em termos de sensibilidade e abrangência na detecção de espécies de peixes marinhos na Baía de Aratu. O método de coleta representa um avanço significativo na monitorização de espécies aquáticas em ambientes estuarinos, quando comparado com métodos tradicionais de captura de peixes, oferece vantagens claras em termos de sensibilidade, amplitude e não invasividade. A lavadora portátil, permitiu uma avaliação abrangente e menos perturbadora da diversidade de espécies na Baía de Aratu, sendo uma ferramenta promissora para futuros estudos de conservação e monitoramento da biodiversidade local.

6.7 REFERÊNCIAS

- Andrews, S. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. 2010.
- Barreto, Aline Ferreira. Composição e estrutura da ictiofauna capturada por rede de calão na praia de Cabuçu, Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil. 2010. 76 f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2010.
- Cirano, M., & Lessa, G. C. (2009). Oceanographic processes in the Todos os Santos Bay (BTS), Brazil. *Revista Brasileira de Geofísica*, 27(2), 185-202. <https://doi.org/10.1590/S0102-261X2007000400002>.
- Cock, P. J. A *et al.* Biopython: freely available Python tools for computational molecular biology and bioinformatics. *Bioinformatics*, v. 25, n. 11, p. 1422–1423, 2009.
- Collins, R. A., Wangenstein, O. S., O’Gorman, E. J., Mariani, S., Sims, D. W., & Genner, M. J. (2018). Persistence of environmental DNA in marine systems. *Communications Biology*, 1, 185. <https://doi.org/10.1038/s42003-018-0192-6>.

- Deiner, K., Bik, H. M., Mächler, E., Seymour, M., Lacoursière-Roussel, A., Altermatt, F., Bernatchez, L. (2017). Environmental DNA *metabarcoding*: Transforming how we survey animal and plant communities. *Molecular Ecology*, 26, 5872–5895. <https://doi.org/10.1111/mec.14350>.
- Deiner, K., Yamanaka, H., & Bernatchez, L. (2021). The future of biodiversity monitoring and conservation utilizing environmental DNA. *Environmental DNA*, 3, 3–7. <https://doi.org/10.1002/edn3.178>.
- Duarte, L. A. G., Oliveira, E. J. F., Amorim, A., Silva, D. A., Carvalho, E. F., Mazzoni, R., & Amaral, C. R. L. (2017). DNA Barcoding and Atlantic reef fishes: The molecular identification of a reef fish community from the Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 6, e435–e436.
- Ficetola, G. F., & Taberlet, P. (2023). Towards exhaustive community ecology via DNA *metabarcoding*. *Molecular Ecology*, 32(23), 6320–6329. <https://doi.org/10.1111/mec.16881>.
- Holzer, S. (2008). European fish species: Taxa and guilds classification regarding fish-based assessment methods (Master's thesis). University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, Austria. <https://doi.org/10.1016/j.fsigs.2017.09.140>.
- Kume, M., Lavergne, E., Ahn, H., Terashima, Y., Kadowaki, K., Ye, F., Kameyama, S., Kai, Y., Henmi, Y., Yamashita, Y., & Kasai, A. (2021). Factors structuring estuarine and coastal fish communities across Japan using environmental DNA *metabarcoding*. *Ecological Indicators*, 121, 107216. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.107216>.
- Lacoursière-Roussel, A., Howland, K., Normandeau, E., Grey, E. K., Archambault, P., Deiner, K., Lodge, D. M., Hernandez, C., Leduc, N., & Bernatchez, L. (2018). eDNA *metabarcoding* as a new surveillance approach for coastal Arctic biodiversity. *Ecology and Evolution*, 8(16), 7763–7777. <https://doi.org/10.1002/ece3.4213L>.
- Lacoursière-Roussel, A., Rosabal, M., & Bernatchez, L. (2016). Estimating fish abundance and biomass from eDNA concentrations: Variability among capture methods and environmental conditions. *Molecular Ecology Resources*, 16(6), 1401–1414. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12522>.
- Li, Z., Li, F., Qin, S., Guo, F., Wang, S., & Zhang, Y. (2024). Environmental DNA biomonitoring reveals the human impacts on native and non-native fish communities in subtropical river systems. *Journal of Environmental Management*, 349, 119595. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.119595>.
- Miya, M., Gotoh, R. O., & Sado, T. (2020). MiFish *metabarcoding*: A high-throughput approach for simultaneous detection of multiple fish species from environmental DNA and other samples. *Fisheries Science*, 86, 939–970. <https://doi.org/10.1007/s12562-020-01461-x>.
- Miya, M., Sato, K., Fukunaga, T., Sado, T., Poulsen, J. Y., Sato, K., Minamoto, T., Yamamoto, S., Yamanaka, H., Araki, H., Kondoh, M., & Iwasaki, W. (2015). MiFish, a set of universal PCR primers for *metabarcoding* environmental DNA from fishes: Detection of more than 230 subtropical marine species. *Royal Society Open Science*, 2(7), 150088. <https://doi.org/10.1098/rsos.150088>.

- Neoprosperta. Neoprosperta - Soluções em Diagnóstico Molecular. Disponível em: <https://www.neoprosperta.com/>. Acesso em: 20 de agosto de 2024.
- Oliveros, J.C. (2007-2015) Venny. An interactive tool for comparing lists with Venn's diagrams. Disponível em: <https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>. Acesso em 19 de agosto de 2024.
- Reis Filho, J.A., Nunes, J.A., C.C. & Ferreira, A. Estuarine ichthyofauna of the Paraguaçu River, Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil. *Biota Neotrop.* 10(4): <http://www.biotaneotropica.org.br/v10n4/en/abstract?inventory+bn03610042010>.
- Santos, A. C. A.; Nunan, G. W.; Mendonca, H. S.; Santos, S. R.; Bandeira, W. D. Ocorrência de *Omobranchus punctatus* (Valenciennes, 1836) (Teleostei, Blenniidae) na Baía de Todos os Santos, Bahia: Primeiro registro da invasão de uma espécie exótica de peixe marinho em águas brasileiras. In: I Simpósio brasileiro sobre espécies exóticas invasoras, 2005, Brasília. <http://www.mma.gov.br/port/sbf/invasoras/index.cfm>, 2005.
- Santos, C. A.; Nunan, G. W.; Sena, M. P. Composição da ictiofauna da enseada de caboto, na Baía de Todos os Santos, Bahia, com registro do gênero *Omobranchus ehrenberg* (Perciformes, Blenniidae) para o Brasil. In: XV encontro brasileiro de ictiologia, 2003, São Paulo, SP. XV EBI, Encontro brasileiro de ictiologia, rumos da ictiologia brasileira, resumos, 2003. P. 139-139.
- Silva E, Viana ZC, Souza NF, Korn MG, Santos VL. Assessment of essential elements and chemical contaminants in thirteen fish species from the Bay Aratu, Bahia, Brasil. *Braz J Biol.* 2016 Oct-Dec;76(4):871-877. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.02415>.
- Smyth, R. P. *et al.* Reducing chimera formation during PCR amplification to ensure accurate genotyping. *Gene*, v. 469, p. 45–51, 2010.
- Stoeckle, M. Y., Adolf, J., Charlop-Powers, Z., Dunton, K. J., Hinks, G., & VanMorter, S. M. (2021). Trawl and eDNA assessment of marine fish diversity, seasonality, and relative abundance in coastal New Jersey, USA. *ICES Journal of Marine Science*, 78(1), 293. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsaa225>.
- Stoeckle, T., Bass, D., Nebel, M., Christen, R., Jones, M. D. M., Breiner, H.-W., & Richards, T. A. (2010). Multiple marker parallel tag environmental DNA sequencing reveals a highly complex eukaryotic community in marine anoxic water. *Molecular Ecology*, 19(Suppl 1), 21–31. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04480.x>.
- Taberlet, P., Coissac, E., Pompanon, F., Brochmann, C., & Willerslev, E. (2012). Towards next-generation biodiversity assessment using DNA *metabarcoding*. *Molecular Ecology*, 21(8), 2045–2050. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05470.x>.
- Takahashi, M., M. Saccò, J. Kestel, *et al.* 2023. “Aquatic Environmental DNA: A Review of the Macro-Organismal Biomonitoring Revolution.” *Science of the Total Environment* 873: 1–23. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162322>.
- Thomsen, P. F., Kielgast, J., Iversen, L. L., Wiuf, C., Rasmussen, M., Gilbert, M. T. P., & Willerslev, E. (2012). Monitoring endangered freshwater biodiversity using

environmental DNA. *Molecular Ecology*, 21, 2565–2573.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05418.x>.

Todd, P. A., Heery, E. C., Loke, L. H. L., Thurstan, R. H., Kotze, D. J., & Swan, C. (2019). Towards an urban marine ecology: Characterizing the drivers, patterns and processes of marine ecosystems in coastal cities. *Oikos*, 128(9), 1215–1242.
<https://doi.org/10.1111/oik.05946>.

Tukey, J. W. (1949). Comparing individual means in the analysis of variance. *Biometrics*, 5, 99–114.

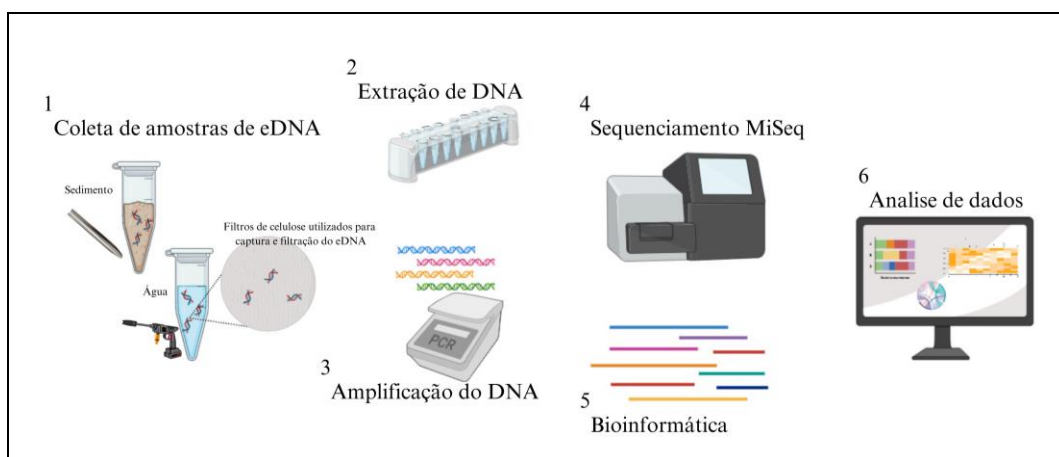
Valentini, A., Taberlet, P., Miaud, C., Civade, R., Herder, J., Thomsen, P. F., Dejean, T. (2016). Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA *metabarcoding*. *Molecular Ecology*, 25(4), 929–942.
<https://doi.org/10.1111/mec.13428>.

7 USO DO METABARCODING 18S rRNA PARA DETECÇÃO DE ESPÉCIES NÃO INDÍGENAS NA BAÍA DE ARATU, BAHIA, BRASIL

Artigo seguindo as normas de submissão para revista Marine Pollution Bulletin.

[Marine Pollution Bulletin | Journal | ScienceDirect.com by Elsevier](#)

RESUMO GRÁFICO



7.1 RESUMO

A Baía de Aratu, localizada na Baía de Todos os Santos, na Bahia, Brasil, é um estuário de significativa importância ecológica e econômica, abrigando uma vasta biodiversidade, incluindo manguezais e recifes de corais, além de ser um polo de atividades portuárias, industriais, pesqueiras e turísticas. Entretanto, a intensa atividade antropica torna a baía vulnerável a impactos ambientais, como a introdução de espécies exóticas por meio da água de lastro despejada por embarcações, um dos principais fatores que contribuem para a perda de biodiversidade nos ecossistemas marinhos. Este estudo tem como objetivo investigar a presença de grupos eucarióticos potencialmente não indígenas na Baía de Aratu, utilizando o *metabarcoding* 18S rRNA de DNA ambiental, uma técnica avançada que permite identificar espécies a partir de amostras de água e sedimento de maneira precisa e não invasiva as espécies e ao habitat. Os resultados indicaram uma alta diversidade de grupos eucarióticos na baía, com diferenças significativas entre as amostras de água e sedimento, evidenciando que o despejo de água de lastro por navios é um vetor importante para a entrada de espécies não indígenas. O estudo concluiu que o *metabarcoding* de DNA ambiental é uma ferramenta

importante para o monitoramento e gestão ambiental, fornecendo dados essenciais para o desenvolvimento de estratégias de manejo que visem mitigar os efeitos das bioinvasões e preservar os serviços ecossistêmicos da Baía de Aratu.

Palavras chave: Não nativas, Manguezal, Eucariotos, 18S rRNA, Baía de Todos os Santos, Metagenômica.

7.2 INTRODUÇÃO

Na última década, o *metabarcoding* de DNA ambiental provou ser uma poderosa abordagem baseada em moléculas para avaliar a diversidade de grupos taxonômicos em escalas espaciais e temporais, sendo uma técnica não invasiva ao ecossistema e as espécies. No *metabarcoding*, a sequência de DNA alvo é considerada um proxy para a detecção de espécies. Uma vantagem do *metabarcoding* é a capacidade de identificar táxons incultiváveis ou morfologicamente indistinguíveis (Gaonkar & Campbell, 2024).

Nesse contexto, nosso estudo buscou detectar a presença de grupos eucarióticos não indígenas na Baía de Aratu, localizada na Baía de Todos os Santos (BTS), Bahia, Brasil, por meio do *metabarcoding* de DNA ambiental. A área é um dos maiores estuários do nordeste brasileiro, altamente afetado pelas atividades antrópicas (Dias, 2004; Hatje & Barros, 2016). A Baía de Aratu abriga diversas indústrias e portuárias, possuindo grande relevância regional e nacional. A atividade portuária, aliada a outras atividades econômicas (indústrias, pesca, turismo), torna a baía um centro econômico crucial (Hatje & Barros, 2012). Contudo, essas atividades também trazem riscos ambientais, particularmente relacionados entrada de espécies não indígenas, ocasionando numa bioinvasão, que pode ocorrer através da água de lastro despejada por embarcações (Simberloff *et al.*, 2013).

A rede global de navegação oceânica é responsável pela alta conectividade entre as regiões costeiras em todo o mundo (Costello *et al.*, 2022). Cerca de 80% do volume do comércio internacional é transportado por via marítima ao longo das rotas marítimas em todo o mundo (Unctad, 2014). Contudo, no ambiente marinho, o transporte mediado por embarcações é o principal vetor para estabelecimentos aquáticos de espécies não endêmicas por meio da água de lastro e a inscrutação do casco (Cheng *et al.*, 2019; Bailey *et al.*, 2020; Tamburri *et al.*, 2020). A água de lastro é levada a bordo dos navios para melhora da manobrabilidade, estabilidade e segurança (Galil *et al.*, 2009). Globalmente, ~ 3,1 bilhões de toneladas de água de lastro são descarregadas por ano (David *et al.*, 2015).

As espécies não indigênas figuram entre os fatores mais significativos para a redução da biodiversidade local (Dueñas *et al.*, 2018), especialmente em ambientes marinhos (Clavero & García-Berthou, 2005). A introdução dessas espécies pode impactar diretamente as populações nativas por meio de diversos mecanismos, como predação (Albins & Hixon, 2013; Jänes *et al.*, 2015; Pratchett *et al.*, 2017), competição por recursos (Katsanevakis *et al.*, 2014; Pyšek *et al.*, 2017), parasitismo (Dunn *et al.*, 2012; Goedknecht *et al.*, 2016; Costello *et al.*, 2021) e alterações complexas nos ecossistemas (Zeug *et al.*, 2014; David *et al.*, 2017; Kotta *et al.*, 2018).

Para combater o problema de espécies invasoras por meio de água de lastro, a Convenção da Organização Marítima Internacional (IMO) adotou a Convenção Internacional para o Controle e Gestão da Água de Lastro e Sedimentos dos Navios em 2004. Em 8 de setembro de 2017, a Convenção entrou em vigor (IMO, 2004). Em março de 2024, a IMO adotou a Resolução MEPC.387(81) que tem objetivo orientar os navios a cumprir o gerenciamento de água de lastro (IMO, 2024).

Segundo a Companhia das Docas do Estado da Bahia - CODEBA (2024), o Porto de Aratu movimentou 6.684.911 toneladas de carga em 2023, recebendo 515 navios de diversos países, como Singapura, Libéria, Ilhas Marshall e Malta. Durante os meses analisados, o porto recebeu 124 navios, com maior movimentação em março, junho e setembro, totalizando 1.620.672 toneladas de carga. Essa intensa atividade portuária, levanta preocupações sobre bioinvasões devido à descarga de água de lastro, que pode introduzir espécies exóticas, destacando a necessidade de práticas rigorosas de gerenciamento para proteger a biodiversidade local.

Visto isso, foi utilizada a técnica de sequenciamento genômico em amostras ambientais (água e sedimento) coletadas em diversos pontos da Baía de Aratu. O gene do *metabarcoding* 18S rRNA, é um dos marcadores mais comumente usados para identificação e delineamento de espécies eucarióticas devido às suas regiões conservadas e hipervariáveis (V1-V9) (Kooistra *et al.*, 2010). Dessa forma, nossas hipóteses são: 1) o trânsito de navios contribui para a introdução de organismos e microrganismos invasores na baía por meio da água de lastro; 2) as espécies não indígenas competem com as espécies nativas, alterando a estrutura da comunidade biológica local. Assim, os objetivos deste estudo foram analisar os organismos eucarióticos presentes na baía e sua relação com o não endemismo, utilizando o *metabarcoding* do 18S rRNA, e comparar as diferenças taxonômicas entre as amostras de água e sedimento.

7.3 MATERIAIS E MÉTODOS

7.3.1 Local de amostragem

A Baía de Aratu constitui-se numa pequena baía, com área de aproximadamente 20 km², disposta entre as coordenadas 12°47'4"S e 38°27'42"W, se comunicando com a Baía de Todos os Santos através do canal de Cotegipe (Cirano & Lessa, 2007). Detentora de um habitat costeiro que abriga rica biodiversidade, com manguezais e recifes de corais. Sua área hospeda diversas atividades portuárias e industriais, possuindo assim, grande importância ecológica e econômica (Figura 1). O local é composto pela vegetação de manguezal, prevalecendo por espécies como o mangue-vermelho (*Rhizophora mangle*) 12°47'46.13" S 38°27'15.83" O, mangue-preto (*Avicennia schaueriana*) 12°47'5.28"S 38°27'47.94" O e mangue-branco (*Laguncularia racemosa*) 12°48'15.27"S 38°28'32.13" O, desempenhando um papel crucial na proteção da costa contra erosão, no ciclo de nutrientes e como habitat para uma diversidade de espécies.

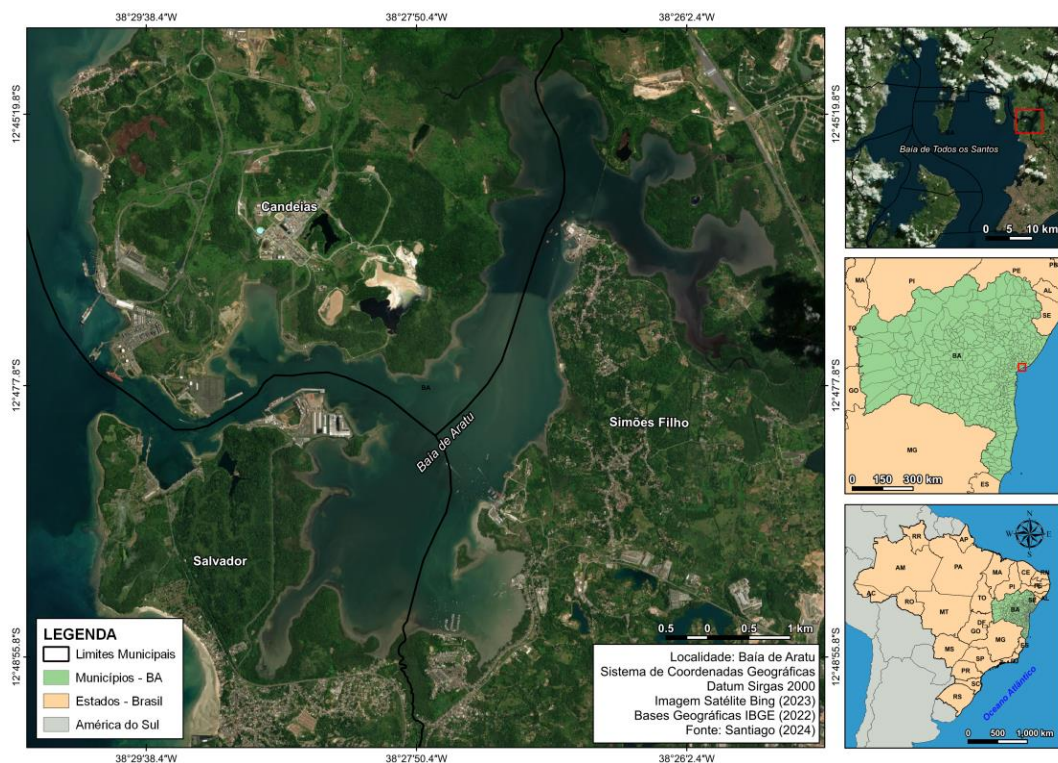


Figura 1. Mapa de localização da Baía de Aratu, Bahia, Brasil. Fonte: Santiago, 2024.

7.3.2 Coleta das amostras e filtragem do eDNA

Foram coletadas as matrizes de (água e sedimento) nos meses de março, junho e setembro de 2023. As amostras foram coletadas em 12 pontos (Tabela 1) na Baía de Aratu, sendo organizadas em 4 áreas para uma análise espacial do ambiente. A partir do agrupamento das amostras em diferentes áreas da baía, buscou-se identificar regiões de alta ou baixa diversidade eucariótica.

Tabela 1. Coordenadas dos pontos de coleta na Baía de Aratu.

Pontos	Latitude	Longitude	Datas
1,1	12°47'58"S	38°27'23"O	
2	12°48'3.37"S	38°27'30.03"O	
2,1	12°48'9.35"S	38°27'28.04"O	
3	12°48'15.27"S	38°28'32.13"O	
3,1	12°48'25.68"S	38°28'35"O	1ª coleta 13/março/2023
4	12°47'39.70"S	38°28'10.86"O	2ª coleta 05/junho/2023
4,1	12°47'43.62"S	38°28'31.68"O	3ª coleta 14/setembro/2023
4,2	12°47'30.24"S	38°28'28.54"O	
5	12°47'5.86"S	38°27'59.72"O	
5,1	12°47'5.28"S	38°27'47.94"O	
6	12°47'46.13"S	38°27'15.83"O	

Os locais de amostragem foram selecionados com base na entrada e saída de embarcações na Baía, bem como, locais que possuíam ações antrópicas, como área de pesca, industrial e marina (Figura 2).



Figura 2. Área 1: Marina e proximidades; Área 2: Potencial local de depósito final de organismos; Área 3: Próximo a indústria alimentícia e locais com ações pesqueiras; Área 4: Ligação da Baía de Aratu com a Baía de Todos os Santos. Fonte: Santiago, 2024.

As amostras de sedimentos foram coletadas por uma cavadeira manual, em áreas de manguezal próximas às rizosferas das plantas. As amostras coletadas foram armazenadas em tubos tipo falcon, previamente descritas e separadas por ponto. As amostras de água foram coletadas na coluna d'água da baía, através de um sistema de bombeamento de sucção modificado (lavadora mini wap portátil, com uma mangueira acoplada e na saída um sistema de irrigação) com especificações de 10,5 x 36,5 x 28,5 cm; 2,09 quilogramas, modelo DS12719, bivolt, com bateria lítio de 96VF. Sendo o volume padrão de captação de água de 1L por amostra. A filtração foi feita usando filtros de membrana de celulose – *Sartorius* (0.47 mm) de diâmetro e tamanho de poro de 0,45 μm . Ao final de cada coleta, foi adicionado 500 μL de *shield* (solução estabilizante de DNA e RNA para preservação da integridade genética da amostra) em cada microtubo com os filtros.

As amostras de sedimento e água, foram acondicionadas em uma caixa térmica com gelo, sendo transferidas para o Laboratório de Microbiologia Ambiental e Saúde Pública (LAMASP) da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Bahia. Onde foram armazenados em -20°C antes da extração de DNA (Figura 3).

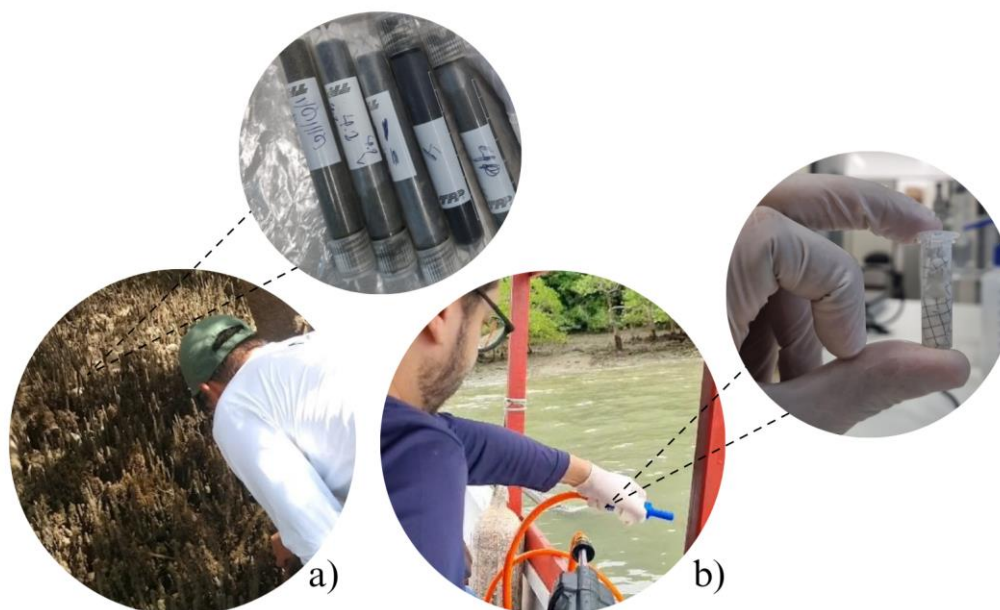


Figura 3. a) Coleta de sedimento próximo as rizosferas por meio de uma cavadeira manual; b) Ferramenta utilizada para captura e filtração do eDNA em amostras de água.

7.3.3 Extração de DNA

Foi utilizada como metodologia a análise composta de amostras de sedimento e água coletadas na baía. A combinação de amostras de diferentes pontos (uma amostra por cada mês amostrado) teve o objetivo de aumentar a representatividade, capturando uma maior diversidade de organismos presentes em diversos micro-habitats. Isso é fundamental no ecossistema estudado, pois a comunidade biológica varia significativamente entre as diferentes áreas.

Assim, as amostras foram combinadas e organizadas em quatro áreas distintas, com base em características específicas de cada região. A primeira área incluiu os pontos 1, 1.1, 2, 2.1 e 6, selecionados pela proximidade à Marina Aratu, marina conhecida pelo fluxo de pessoas, turismo, pesca. A segunda área abrangeu os pontos 3 e 3.1, definidos pela proximidade às outras marinas da região, bem como um possível local de depósito final de organismos e microrganismos por conta de sua geografia. A terceira área, composta pelos pontos 4, 4.1 e 4.2, foi organizada com base na atividade pesqueira ao redor e na presença da indústria alimentícia Moinho Dias Branco. Por fim, a quarta área, que incluiu os pontos 5 e 5.1, foi estabelecida em função da ligação entre a Baía de Aratu e a Baía de Todos os Santos.

A extração de DNA em amostras de sedimento de rizosferas de manguezal foi realizada utilizando o kit *Quick-DNA/RNA Viral MagBead* (Zymo Research), que é

especialmente projetado para a purificação de ácidos nucleicos de amostras complexas. Para cada amostra, foi utilizada 1g de sedimento, garantindo uma quantidade suficiente de material para capturar a diversidade genética presente. O protocolo de extração seguiu as instruções do kit, aproveitando as partículas magnéticas para isolar o DNA de alta qualidade, essencial para subsequentes análises moleculares, como *metabarcoding*, que visam entender a composição e a dinâmica das comunidades eucarióticas associadas às rizosferas na Baía de Aratu.

Para as amostras de água, os filtros foram cortados ao meio, uma metade sendo usada para extração, e a outra metade foi deixada em *shield* em seu respectivo microtubo previamente identificado, no caso de precisarmos fazer uma nova extração em futuros trabalhos. As extrações foram realizadas em capela de fluxo laminar esterilizada por UV e todos os instrumentos de extração e espaços de bancada foram esterilizados com luz UV e álcool 95%. Toda a pipetagem foi realizada utilizando-se ponteiros estéreis de filtro de barreira. Para extração de DNA, resumidamente, foram pipetados 400 µL de *shield* por microtubo com os filtros das amostras coletadas, e adicionados em tubos tipo eppendorf de 1.5 mL, previamente identificados, seguidos por 400 µL de tampão de DNA/ RNA viral e 25 µL de proteinase K, vórtice e incubados a 40°C durante a noite. Nesse contexto, utilizamos uma estante magnética para facilitar e otimizar os procedimentos de extração e seguimos o protocolo do kit *Quick-DNA/ RNA Viral MagBead* (Zymo Research) para próximas etapas de extração. Ao final, cada extração de eDNA de sedimento e água foi diluída em 20 µL de água ultra pura para quantificação em espectrofotômetro (Thermo Scientific Série NanoDrop), a serem armazenadas a -80°C.

7.3.4 Preparação das bibliotecas

As bibliotecas foram sequenciadas utilizando-se o equipamento MiSeq Sequencing System (Illumina Inc., USA) e o kit V3, com 500 ciclos e sequenciamento single-end. As sequências foram analisadas por meio do pipeline Sentinel. Os primers foram desenhados especificamente para o gene 18S rRNA de eucariotos, minimizando a amplificação de DNA de procariotos (Tabela 2). A amplificação do gene 18S rRNA contém variações suficientes entre diferentes grupos e espécies de eucariotos, fornecendo uma boa resolução na taxonomia destes.

Tabela 2. Primers utilizados na identificação da comunidade eucariótica.

Nome do primer	Sequência do primer	Região
F-1183	AATTTGACTCAACACGGG	V9
R-1631	TACAAAGGGCAGGGACG	

7.3.5 Sequenciamento do amplicon 18S

O ensaio “NGS - Sequenciamento do amplicon 18S” é baseado no sequenciamento de alto desempenho de produtos de amplificação da região V9 do gene 18S, um marcador genético que visa identificar diferentes espécies de organismos eucariotos. O sequenciamento foi realizado em amostras compostas das matrizes ambientais, sendo 4 para as amostras de água e para sedimentos utilizamos de triplicatas, totalizando em 12 sequenciamentos agrupados em 4 áreas. Esta etapa foi realizada na empresa de biotecnologia Neopropecta, localizada em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. Foi usado um *MiSeq Sequencing System* (Illumina Inc., USA). O ensaio para o marcador 18S-V9 requereu um sequenciamento do tipo single-end e, cobertura mínima estimada de 100 mil *reads*. Após o sequenciamento, os dados foram enviados para o Basespace e para bancos de dados da Neopropecta, onde são armazenados antes de serem analisados com o pipeline Sentinel. Ele é um programa proprietário da Neopropecta responsável por realizar a identificação metataxonômica de dados de sequenciamento de amplicons de marcadores genéticos para plataformas Illumina. Esse software foi construído em Python 3.6, e tem como uma das principais funcionalidades o pacote *BioPython*.

7.3.6 Bioinformática

No pipeline Sentinel os arquivos fastq foram avaliados quanto a qualidade Phred (QP) usando o programa FastQC v.0.11.8 (Andrews, 2010). A seguir, os arquivos fastq foram submetidos à trimagem de primers e sequências com baixa qualidade (Phred < 20). O software proprietário utilizado para tal finalidade foi construído em Python v.3.6, sendo este inspirado nas funcionalidades do projeto BioPython (Cock *et al.*, 2009). Clusters com abundância menor do que 5, foram removidos das análises, pois tais estruturas normalmente são relacionadas a sequências quimeras (Smyth *et al.*, 2010). As identificações taxonômicas são realizadas com BLASTN v.2.6.0+, usando como referência o banco de dados públicos nt/nr do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Quanto a definição de uma espécie, dentre os 20 hits retornados para cada cluster, uma instrução em Python avalia se um

dos três quesitos seriam atendidos pelos hits: 1) maior bit-score; 2) menor e-value; e 3) taxonomias com maior representação. Os hits que atenderam um dos itens anteriores, foram escolhidos como espécie representante, essas análises foram realizadas na plataforma computacional da Amazon, onde a estrutura de bioinformática da Neoprospecta está hospedada.

7.3.7 Banco de dados

Para esse estudo em questão, o pipeline utilizou o banco de dados público “NR/NT” do *National Center for Biotechnology Information*, em sua versão mais atual. O banco conta com milhões de sequências nucleotídicas não ambíguas, recuperadas de genomas e depósitos de sequenciamentos de amplicons. Devido a natureza diversa da origem das sequências depositadas em bancos públicos, as identificações de espécies realizadas nesse ensaio passaram por uma cuidadosa revisão e curadoria por parte da equipe de Bioinformática da Neoprospecta para evitar atribuições inadequadas ou não confiáveis.

7.3.8 Tratamento dos dados

Foi utilizado o programa *SigmaPlot* versão 14.5 (Systat Software Inc., San Jose, Califórnia, EUA), para testes estatísticos e criação de gráficos taxonômicos das amostras. O diagrama de Venn foi gerado usando o programa Venny 2.0. Por fim, as taxas de *reads* (sequências) por amostras, foram tabuladas e plotadas no Excel.

7.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.4.1 Detecção de comunidades eucarióticas baseadas no eDNA na Baía de Aratu

A aplicação bem-sucedida da técnica de sequenciamento de DNA genômico ambiental em amostras de água e sedimento revelou uma enorme diversidade eucariótica no ecossistema de manguezal da Baía de Aratu. O sequenciamento de *metabarcoding* 18S rRNA resultou em um total de 1.063.935 sequências (*reads*) de alta qualidade, sendo 563.747 (*reads*) em amostras de água e 500.188 (*reads*) para as amostras de sedimento. Os resultados destacam a grande diversidade biológica das áreas investigadas e revelam a complexidade das comunidades eucarióticas presentes. Estes achados sublinham a importância de intensificar os

estudos voltados para uma gestão eficaz e o monitoramento de bioinvasões, fundamentais para a preservação do ecossistema da Baía de Aratu.

7.4.2 Diversidade taxonômica

As abundâncias relativas dos filos eucarióticos, obtidas a partir do *metabarcoding* 18S rRNA nas amostras de água e sedimento, mostraram diferenças notáveis em suas composições nas quatro áreas estudadas (Figura 4). Nas amostras de água, houve uma predominância marcante de diatomáceas Bacillariophyta, indicando a alta adaptabilidade e presença desse filo na coluna d'água dos manguezais. Em contraste, as amostras de sedimento, especialmente aquelas coletadas próximas às rizosferas, apresentaram uma composição distinta, com a dominância de Annelida em várias áreas, refletindo a adaptação desses organismos ao ambiente bentônico.

Essas diferenças evidenciam a diversidade de nichos ecológicos ocupados pelos organismos entre a coluna d'água e o sedimento, sublinhando a importância de ambos os habitats para a manutenção da biodiversidade nos ecossistemas de manguezal, particularmente na Baía de Aratu.

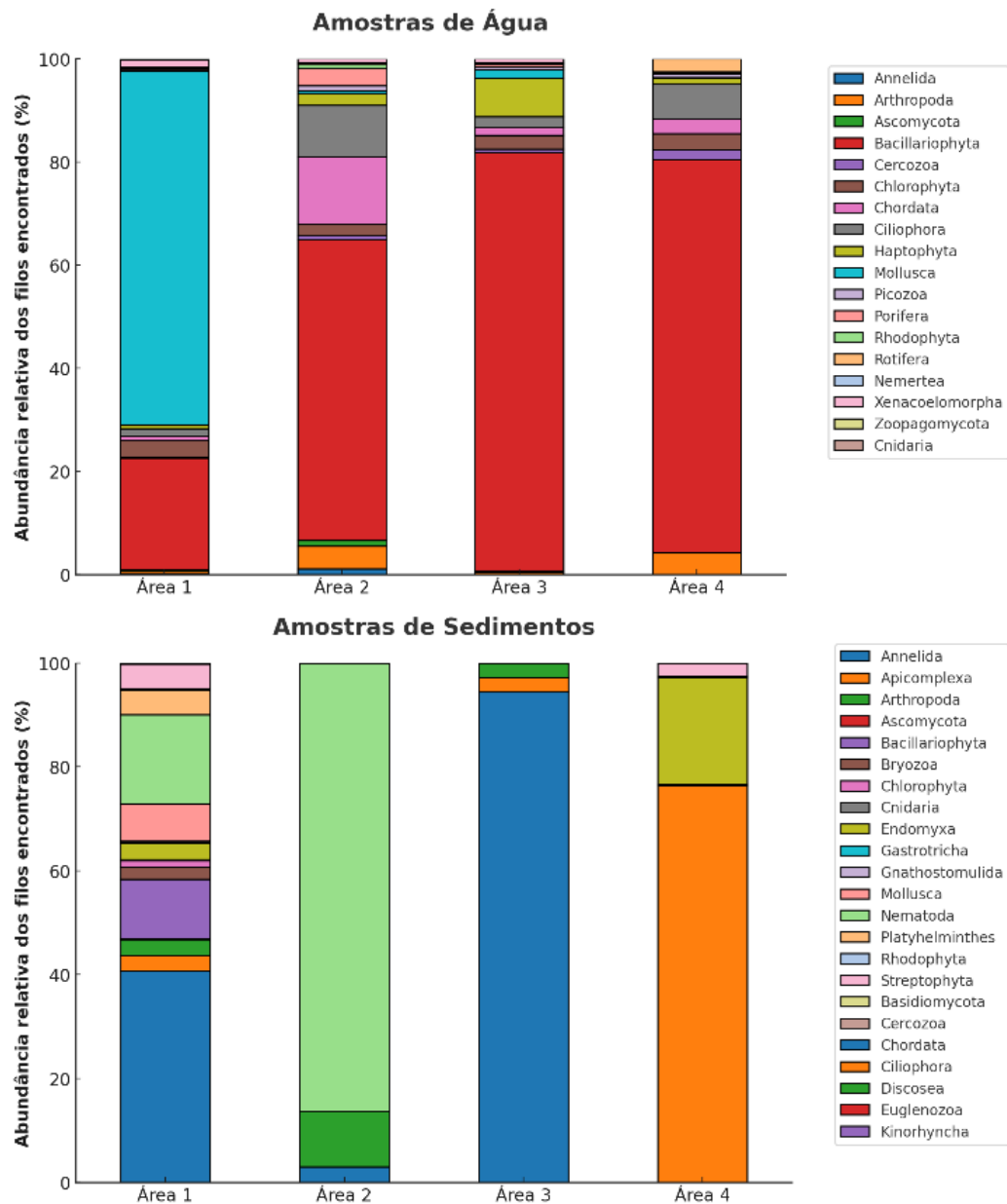


Figura 4. Composição taxonômica dos filos eucarióticos encontrados através das matrizes ambientais.

A abundância relativa dos filos eucarióticos nas áreas de amostragem, relevaram uma maior biodiversidade na Área 1 (Marina), tanto nas amostras de água quanto de sedimento, com a presença de uma ampla variedade de filos representados em ambas as matrizes. Essa alta diversidade eucariótica, pode ser atribuída à maior heterogeneidade ambiental da área, que inclui uma mistura de microhabitats e uma maior disponibilidade de nichos ecológicos, corroborando numa coexistência de diferentes grupos. Em contraste, as outras áreas apresentam uma dominância mais acentuada de poucos filos, indicando menor diversidade e possivelmente condições ambientais menos variadas ou mais estressantes.

O diagrama de Venn ilustra a exclusividade dos filos eucarióticos encontrados nas amostras (Figura 5). Observa-se que há uma porção significativa de filos compartilhados entre as duas matrizes, como Annelida, Arthropoda e Rhodophyta, sugerindo que alguns grupos têm uma adaptabilidade ecológica que lhes permitem colonizar tanto a coluna d'água quanto o sedimento. Todavia, há também uma diversidade considerável de filos exclusivos a cada matriz ambiental. Por exemplo, filos como *Xenacoelomorpha* e *Haptophyta* foram exclusivos na água, enquanto Nematoda e Euglenozoa foram encontrados apenas no sedimento.

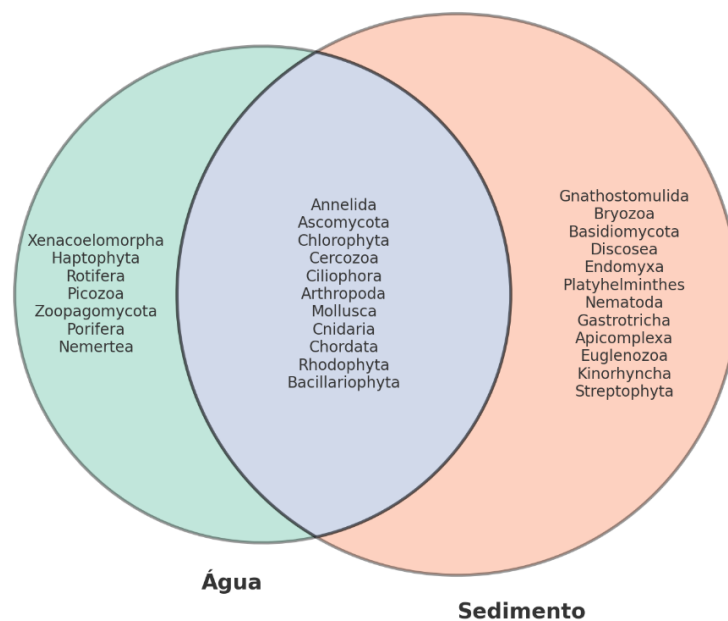


Figura 5. Diversidade de filos eucarióticos entre as matrizes ambientais.

7.4.3 Grupos potencialmente não indígenas encontrados

A análise da distribuição dos grupos eucarióticos nas matrizes ambientais de água e sedimento, revelou a presença de padrões distintos de distribuição. Gêneros como *Dendostrea* e *Amoebophya* destacam-se pela sua elevada abundância nas amostras de água, enquanto *Erinaceusyllis* e *Exogone* mostraram uma maior predominância no sedimento. O gráfico de Pareto (Figura 6) revelou que uma pequena fração dos gêneros domina a comunidade eucariótica da Baía de Aratu, com os primeiros grupos representando a maior parte da abundância relativa encontrada por meio do *metabarcoding* 18S rRNA.

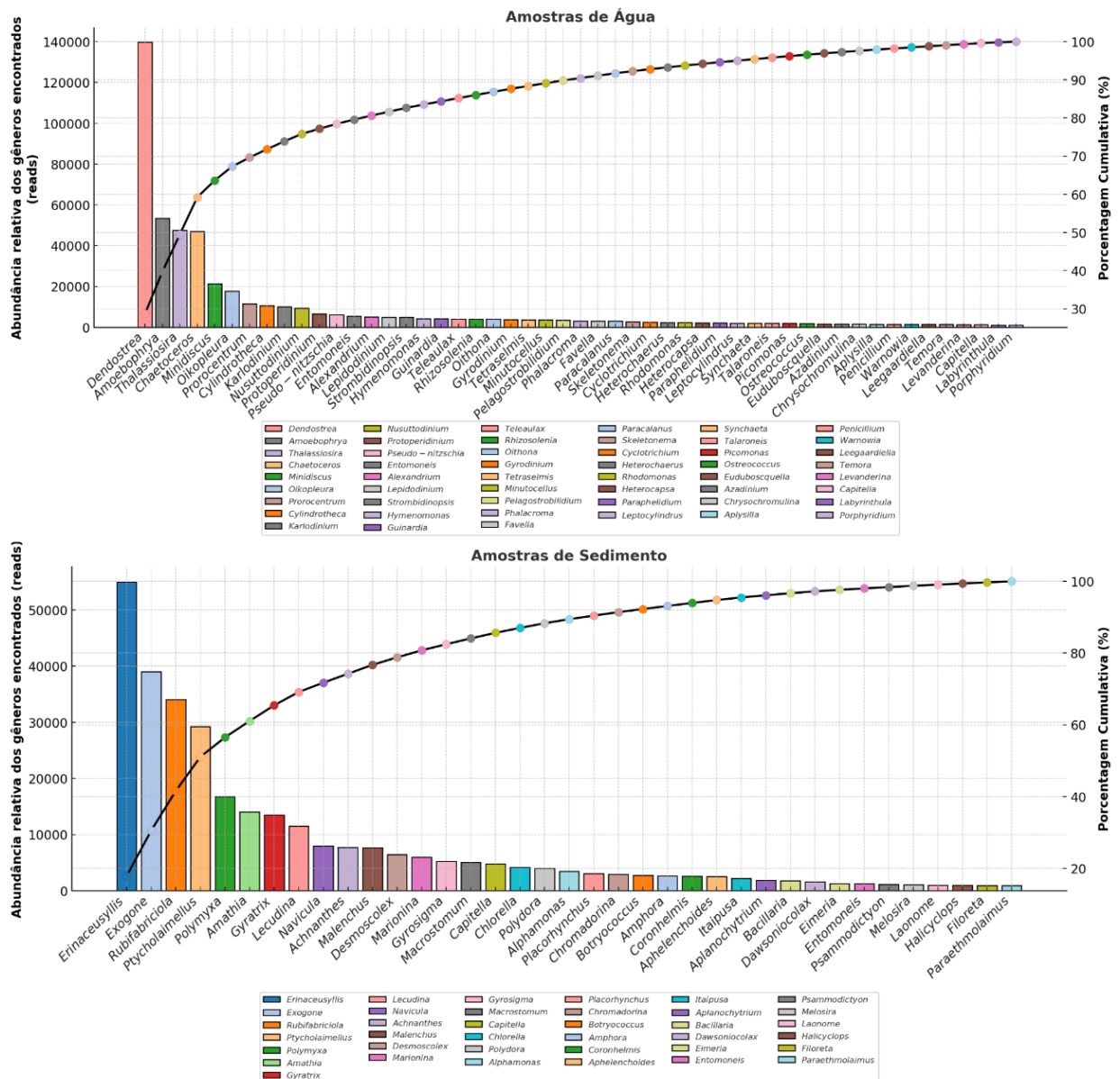


Figura 6. Abundância relativa dos gêneros eucarióticos encontrados entre ambas matrizes.

A curva de Pareto demonstrou uma dominância inicial de poucos grupos, seguida por uma queda mais gradual, indicando uma distribuição menos concentrada. O gênero *Dendostrea* foi o mais abundante em nossos resultados via *metabarcoding* do gene 18S rRNA em amostras de água na Baía de Aratu. Embora menos estudado que outros gêneros de ostras, como *Crassostrea* e *Ostrea*, *Dendostrea* demonstrou alta adaptabilidade ao ambiente da baía, sugerindo uma possível competição por nichos ecológicos dentro da comunidade aquática local.

A presença significativa de *Amoebophrya*, particularmente na água, indica a capacidade adaptativa desse dinoflagelado, conhecido por sua habilidade de infectar uma

variedade de organismos marinhos e resultar em declínios rápidos nas florações de dinoflagelados (Velo-Suárez *et al.*, 2013). Estudos anteriores (Mazillo *et al.*, 2011; Park *et al.*, 2013) corroboram sua alta prevalência em águas costeiras, destacando seu papel ecológico.

Foi detectado o gênero *Thalassiosira*, associado a processos de bioinvasão por meio de água de lastro. Este grupo é conhecido por seu rápido crescimento e produção de mucilagem, que pode obstruir as brânquias dos peixes, causando mortalidade por hipóxia (Granéli & Turner, 2006; DellAgnolo *et al.*, 2021). De forma similar, *Chaetoceros* foi identificado, sendo frequentemente encontrado em águas de lastro e conhecido por sua toxicidade, o que pode levar à competição com espécies nativas e à alteração das cadeias alimentares locais (Klein *et al.*, 2009).

A presença de *Prorocentrum*, outro gênero com histórico de bioinvasão, foi detectada em nossas amostras de água. Esse dinoflagelado é responsável por florações de algas nocivas e marés vermelhas, com sérios impactos econômicos na aquicultura, pesca e turismo, além de consequências ambientais e para a saúde humana (Heil *et al.*, 2005; Khanaychenko *et al.*, 2019). A sua capacidade de gerar grandes biomassas de algas e alterar o pH da água sublinha a necessidade de monitoramento contínuo (Zheng *et al.*, 2024).

Os gêneros *Erinaceusyllis*, *Exogone*, *Rubifabriziella*, e *Ptycholaimellus* foram os mais abundantes nas amostras de sedimento da Baía de Aratu. Embora a literatura não forneça uma base de dados específica sobre bioinvasão para esses grupos, a alta abundância observada sugere que eles podem estar se beneficiando das condições ambientais particulares da baía (Hongwei *et al.*, 2024). Estas condições, potencialmente influenciadas por distúrbios antrópicos, como a introdução de espécies não endêmicas através da água de lastro oriunda do transporte marítimo, podem favorecer a proliferação desses gêneros. A presença desses organismos em grande número indica que eles estão bem adaptados ao ambiente alterado, possivelmente tirando vantagem da disponibilidade de nichos ecológicos resultantes dessas atividades humanas.

Por fim, a distribuição dos grupos nas amostras de água mostrou uma diversidade relativa, mas com uma concentração notável de abundância em poucos gêneros, indicando uma possível dominância ecológica. Em contraste, as amostras de sedimento apresentaram uma distribuição mais uniforme entre os gêneros, refletindo uma maior equitabilidade na comunidade eucariótica. Esses padrões sugerem diferentes dinâmicas ecológicas nos ambientes de água e sedimento da Baía de Aratu, com implicações para a estrutura e a resiliência das comunidades locais frente a distúrbios ambientais.

7.4.4 Comparação entre áreas

Foi realizada uma comparação da biodiversidade eucariótica nas quatro áreas distintas da Baía de Aratu (Figura 7). A Marina (Área 1), é predominantemente voltada para o turismo, caracterizando-se por intensa atividade recreativa e uso de embarcações, oferecendo um ambiente favorável para espécies que se adaptam a condições variáveis, devido ao tráfego de embarcações e presença humana. A Área 2 é um ponto de acúmulo de matéria orgânica, favorecendo espécies adaptadas a ambientes eutróficos, sendo crucial para estudar a dinâmica dos sedimentos. A Área 3, próxima à indústria alimentícia, sofre influência significativa da atividade industrial e pesqueira, o que altera as condições ambientais e afeta a biodiversidade. Por fim, a Área 4, no canal que conecta a BTS, atua como um corredor ecológico, facilitando o transporte e mistura de espécies, além de ser estratégico para monitoramento de espécies não endêmicas e impactos humanos.

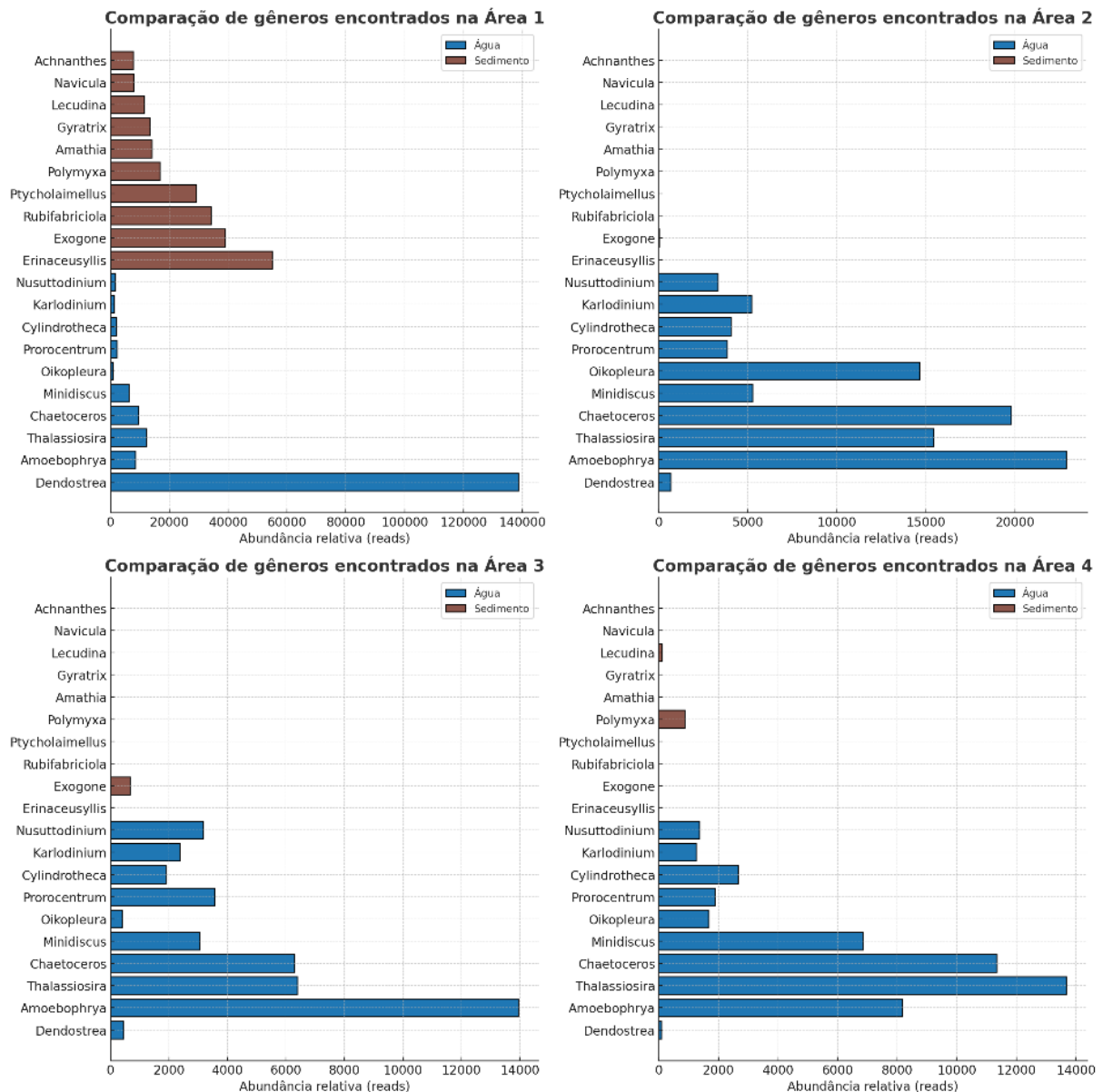


Figura 7. Comparação dos gêneros mais abundantes entre as matrizes ambientais nas áreas estudadas.

A primeira área (Marina e proximidades) demonstrou uma maior riqueza de grupos encontrados nas matrizes ambientais, com alta abundância de *Dendostrea*. Isso sugere que esses bivalves estão prosperando em um ambiente onde a intervenção humana é frequente, mas controlada. No sedimento, a presença de *Erinaceusyllis* e *Exogone* indica um ambiente bentônico ativo e saudável, possivelmente beneficiado por uma menor contaminação em comparação com outras áreas.

A segunda área, (possível local atuante como depósito final), por outro lado, pode atuar como um "sumidouro" ecológico, onde a acumulação de matéria orgânica e outros

detritos cria um habitat rico em nutrientes. Esse acúmulo favorece a proliferação de espécies adaptadas a ambientes eutróficos. A presença de *Dendostrea* na coluna d'água também sugere uma comunidade aquática resiliente, capaz de suportar altas cargas orgânicas.

Nas áreas 3 e 4, próximas à indústria e ao canal que conecta as baías, respectivamente, a composição de gêneros reflete as influências antropogênicas e hidrodinâmicas. A ausência de gêneros como *Rubifabriziola* e *Ptycholaimellus* pode indicar que as condições de fluxo dinâmico nessas áreas são menos favoráveis para a manutenção desses organismos, que preferem habitats mais estáveis e ricos em matéria orgânica. A abundância de *Thalassiosira* na última área pode ser um indicativo de bioinvasão, possivelmente introduzida por água de lastro, encontrando condições favoráveis para se proliferar.

Esses resultados sublinham a necessidade urgente de um monitoramento contínuo na Baía de Aratu, considerando o potencial disruptivo desses grupos. A caracterização das comunidades eucarióticas em diferentes matrizes ambientais (água e sedimento) evidencia a complexidade das interações ecológicas resultantes das ações antrópicas. Isso ressalta a importância de implementar estratégias de gestão que não apenas mitiguem os impactos imediatos, mas que também levem em conta as implicações a longo prazo para a biodiversidade e os serviços ecossistêmicos locais.

7.4.5 Espécies não indígenas potencialmente invasoras do Brasil

Foram registrados, ao todo, 143 táxons por meio do *metabarcoding* de DNA ambiental com o gene 18S rRNA, além de 6 táxons não identificados. A partir disso, foi realizado um recorte das 15 espécies mais abundantes, com base nas leituras brutas, para as amostras de água e sedimento. Nesse contexto, foi realizada uma busca em diversos bancos de dados globais contendo informações sobre as espécies eucarióticas encontradas, com foco principal na verificação do registro dessas espécies no Brasil (Tabela 3).

Tabela 3. Listagem sobre as espécies potencialmente invasoras encontradas em base de dados. + Encontrado registro da espécie com distribuição no Brasil; - Registro não encontrado sobre distribuição no Brasil; SR Não há registros no banco de dados sobre a espécie no site.

Espécies potencialmente invasoras encontradas via <i>metabarcoding</i> 18S rRNA de DNA ambiental de amostras de água				
Banco de dados				
Espécies	WORMS (World Register of Marine Species)	GBIF (Global Biodiversity Information Facility)	AlgaeBase	CABI (Compendium Invasive Species)
<i>Dendostrea frons</i>	-	+	SR	-
<i>Karlodinium veneticum</i>	-	+	-	-
<i>Chaetoceros tenuissimus</i>	+	+	+	
<i>Minidiscus variabilis</i>	-	-	+	
<i>Oikopleura dioica</i>	+	+		
<i>Thalassiosira lundiana</i>	-	+	-	
<i>Cylindrotheca closterium</i>	+	+	+	
<i>Chaetoceros millipedaris</i>	-	-	-	
<i>Prorocentrum micans</i>	+	+	+	SR
<i>Entomoneis punctulata</i>	-	-	-	
<i>Strombidinopsis acuminata</i>	-	-	-	
<i>Hymenomonas globosa</i>	-	-	-	
<i>Guinardia striata</i>	+	+	+	
<i>Rhizosolenia setigera</i>	+	+	+	
<i>Protoperdinium pellucidum</i>	-	+	-	
Espécies potencialmente invasoras via <i>metabarcoding</i> 18S rRNA de DNA ambiental de amostras de sedimento				
Banco de dados				
Espécies	WORMS (World Register of Marine Species)	GBIF (Global Biodiversity Information Facility)	AlgaeBase	CABI (Compendium Invasive Species)
<i>Botryococcus braunii</i>		+	+	
<i>Entomoneis punctulata</i>	-	-	-	
<i>Amphora coffeiformis</i>		+	-	
<i>Erinaceusyllis bidentata</i>	-	-		
<i>Lecudina pellucida</i>	-	-		
<i>Aphelenchoides giblindavisi</i>		-		
<i>Gyratrix hermaphroditus</i>	+	-		
<i>Paraethmolaimus appendixocaudatus</i>	-	-	SR	SR
<i>Macrostomum hystricinum</i>	-	-		
<i>Macrostomum pusillum</i>	-	-		
<i>Macrostomum shekouense</i>	-	-		
<i>Marionina coatesae</i>	-	-		
<i>Chromadorina germanica</i>	-	-		
<i>Gyrosigma limosum</i>	-	-	-	
<i>Melosira dubia</i>	+	+	-	

Os dados tabulados, serão importantes para futuros trabalhos descritivos em espécies potencialmente invasoras. Todavia, destacamos a necessidade de uma busca mais aprofundada na literatura, para um melhor embasamento sobre quais são não endêmicas e seus impactos em áreas costeiras, principalmente na Baía de Aratu.

7.4.6 Limitações

O *metabarcoding* apresenta algumas limitações, a qualidade do DNA extraído pode ser comprometida pela degradação natural das amostras, a presença de inibidores na amostra ou a baixa abundância de determinadas espécies. Além disso, a técnica depende de bases de dados de referência bem estabelecidas; a ausência de sequências de espécies específicas pode resultar em identificação imprecisa ou incompleta. Também há desafios relacionados à quantificação precisa das espécies presentes, pois o *metabarcoding* pode identificar a presença, mas nem sempre fornece uma estimativa exata de abundância.

7.5 CONCLUSÃO

O *metabarcoding* do gene 18S rRNA proporcionou uma visão detalhada dos grupos eucarióticos presentes na Baía de Aratu e suas relações com o não endemismo na área. Os dados apresentados revelam a presença de uma variedade de espécies tanto na água quanto no sedimento da baía, sugerindo uma diversidade de organismos potencialmente influenciada pelo tráfego marítimo. Os resultados indicam a existência de várias espécies, algumas possivelmente não nativas da região, sugerindo que a estrutura da comunidade biológica local está sendo alterada pela introdução de novas espécies através de práticas antrópicas. Por fim, a comparação das diferenças taxonômicas entre as amostras de água e sedimento, permitiu compreender como esses ambientes diferem em termos de composição de espécies e como isso se relaciona com a introdução de espécies invasoras. Ao identificar e comparar essas diferenças, foram fornecidas informações críticas para o desenvolvimento de estratégias eficazes de gestão e controle de bioinvasões na Baía de Aratu, além de contribuir para trabalhos voltados à conservação de ecossistemas de manguezal.

7.6 REFERÊNCIAS

- Albins, M. A., & Hixon, M. A. (2013). Worst case scenario: Potential long-term effects of invasive predatory lionfish (*Pterois volitans*) on Atlantic and Caribbean coral-reef communities. *Environmental Biology of Fishes*, 96(10), 1151–1157. <https://doi.org/10.1007/s10641-011-9795-1>.
- Andrews, S. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. 2010.
- Bailey SA, Brown L, Campbell ML *et al* (2020) Trends in the detection of aquatic non-indigenous species across global marine, estuarine and freshwater ecosystems: a 50-year perspective. *Divers Distrib* 26:1780–1797. <https://doi.org/10.1111/ddi.13167>.
- Cabi. (2024). CABI – Centre for Agriculture and Bioscience International. Disponível em: <https://www.cabi.org/>. Acesso em: 29 agosto de 2024.
- Cheng M, Liu TK, Olenin S, Su PX (2019) Risk assessment model based on expert's perspective for ballast water management. *Ocean Coast Manag* 171:80–86. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2019.01.009>.
- Cirano, M., Lessa, G.C., 2007. Oceanographic characteristics of Baía de Todos os Santos, Brazil. *Revista Brasileira de Geofísica* 25 (4), 363–387.
- Clavero, M., & García-Berthou, E. (2005). Invasive species are a leading cause of animal extinctions. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(3), 110. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.01.003>.
- Cock, P. J. A *et al*. Biopython: freely available Python tools for computational molecular biology and bioinformatics. *Bioinformatics*, v. 25, n. 11, p. 1422–1423, 2009.
- Companhia das Docas do Estado da Bahia (CODEBA). Movimentação de cargas - Porto de Aratu, 2023. Disponível em: <https://www.codeba.gov.br/eficiente/sites/portalcodedba/pt-br/modulos/inc.movimentacoescargas.php?ano=2023&porto=A>. Acesso em: 25 ago. 2024.
- Costello, K. E., Lynch, S. A., O'Riordan, R. M., McAllen, R., & Culloty, S. C. (2021). The importance of marine bivalves in invasive host–parasite introductions. *Frontiers in Marine Science*, 8, 609248. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.609248>.
- Costello, K. E.; Lynch, S. A.; Mcallen, R.; O'Riordan, R. M.; Culloty, S. C. Assessing the potential for invasive species introductions and secondary spread using vessel movements in maritime ports. *Marine Pollution Bulletin*, v. 177, p. 113496, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113496>.
- David, P., Thebault, E., Anneville, O., Duyck, P. F., Chapuis, E., & Loeuille, N. (2017). Impacts of invasive species on food webs: A review of empirical data. *Advances in Ecological Research*, 56, 1–60. <https://doi.org/10.1016/bs.aecr.2016.10.001>.

- David, P., Thebault, E., Anneville, O., Duyck, P. F., Chapuis, E., & Loeuille, N. (2017). Impacts of invasive species on food webs: A review of empirical data. *Advances in Ecological Research*, 56, 1–60. <https://doi.org/10.1016/bs.aecr.2016.10.001>.
- DellAgnolo, E., Tamanaha, M. S., & Resgalla Junior, C. (2021). Ballast Water: A Polyphasic Approach in the Evaluation of Potential Phytoplanktonic Bioinvasion. *Arquivos de Ciências do Mar*, 54(2), 81–102. <https://doi.org/10.32360/acmar.v54i2.42636>.
- Dias, K., 2004. Reavaliação da distribuição espacial das fácies texturais do leito da Baía de Todos os Santos. Undergraduate Thesis, Curso de Graduação em Geologia da Universidade Federal da Bahia, Salvador. pp. 50.
- Dueñas, M. A., Ruffhead, H. J., Wakefield, N. H., Roberts, P. D., Hemming, D. J., & Diaz-Soltero, H. (2018). The role played by invasive species in interactions with endangered and threatened species in the United States: A systematic review. *Biodiversity and Conservation*, 27(12), 3171–3183. <https://doi.org/10.1007/s10531-018-1595-x>.
- Dunn, A. M., Torchin, M. E., Hatcher, M. J., Kotanen, P. M., Blumenthal, D. M., Byers, J. E., Coon, C. A. C., Frankel, V. M., Holt, R. D., Hufbauer, R. A., Kanarek, A. R., Schierenbeck, K. A., Wolfe, L. M., & Perkins, S. E. (2012). Indirect effects of parasites in invasions. *Functional Ecology*, 26(6), 1262–1274. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2012.02041.x>.
- Galil BS, Gollasch S, Minchin D, Olenin S (2009) Alien marine biota of Europe. In Daisie (eds) *Handbook of Alien Species in Europe*. Springer, 93–104. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8280-1_7.
- Gaonkar CC, Campbell L. A full-length 18S ribosomal DNA *metabarcoding* approach for determining protist community diversity using Nanopore sequencing. *Ecol Evol*. 2024 Apr 10;14(4):e11232. <https://doi.org/10.1002/ece3.11232>.
- Gbif Secretariat. (2024). GBIF – Global Biodiversity Information Facility. Disponível em: <https://www.gbif.org/>. Acesso em: 29 agosto de 2024.
- Georgia, Klein., Irena, Kaczmarska., James, M., Ehrman. (2009). The diatom *Chaetoceros* in ships ballast waters survivorship of stowaways. *Acta Botanica Croatica*, 68(2):325–338. Disponível em: <https://www.abc.botanic.hr/index.php/abc/article/view/125>.
- Goedknegt, M. A., Feis, M. E., Wegner, K. M., Luttikhuizen, P. C., Buschbaum, C., Camphuysen, K. C., van der Meer, J., & Thielges, D. W. (2016). Parasites and marine invasions: Ecological and evolutionary perspectives. *Journal of Sea Research*, 113, 11–27. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2015.12.003>.
- Granéli, E., Turner, J.T. (2006). An Introduction to Harmful Algae. In: Granéli, E., Turner, J.T. (eds) *Ecology of Harmful Algae*. Ecological Studies, vol 189. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-32210-8_1.
- Guiry, M. D., & Guiry, G. M. (2024). *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Disponível em: <https://www.algaebase.org/>. Acesso em: 29 agosto de 2024.

- Hatje V, Barros F (2012) Overview of the 20th century impact of trace metal contamination in the estuaries of Todos os Santos Bay: past, present and future 418 scenarios. *Mar Pollut Bull* 64:2603–2614. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.07.009>.
- Heil C.A., Glibert P.M., Fan C. *Prorocentrum minimum* (Pavillard) Schiller: A review of a harmful algal bloom species of growing worldwide importance. *Harmful Algae*. 2005;4:449–470. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2004.08.003>
- Hongwei, Shi., Chenyu, Wang., Hang, Zhao., Shengling, Wang., Yixian, Chen. (2024). Bioinvasion risk analysis based on automatic identification system and marine ecoregion data. *High-Confidence computing*. <https://doi.org/10.1016/j.hcc.2024.100210>
- International Maritime Organization (IMO). Ballast Water Management. Disponível em: <https://www.imo.org/en/OurWork/Environment/Pages/BallastWaterManagement.aspx>. Acesso em: 25 agosto de 2024.
- International Maritime Organization (IMO). International Convention for the Control and Management of Ships' Ballast Water and Sediments, 2004. London: IMO, 2004.
- Jänes, H., Kotta, J., & Herkül, K. (2015). High fecundity and predation pressure of the invasive *Gammarus tigrinus* cause decline of indigenous gammarids. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 165, 185–189. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2015.05.014>
- Katsanevakis, S., Wallentinus, I., Zenetos, A., Leppäkoski, E., Çinar, M. E., Öztürk, B., Grabowski, M., Golani, D., & Cardoso, A. C. (2014). Impacts of invasive alien marine species on ecosystem services and biodiversity: A pan-European review. *Aquatic Invasions*, 9(4), 391–423. <https://doi.org/10.3391/ai.2014.9.4.01>
- Khanaychenko A.N., Telesh I.V., Skarlato S.O. Bloom-forming potentially toxic dinoflagellates *Prorocentrum cordatum* in marine plankton food webs. *Protistology*. 2019;13:95–125. [10.21685/1680-0826-2019-13-3-1](https://doi.org/10.21685/1680-0826-2019-13-3-1)
- Kooistra, W. H. , Sarno, D. , Hernández-Becerril, D. U. , Assmy, P. , Di Prisco, C. , & Montresor, M. (2010). Comparative molecular and morphological phylogenetic analyses of taxa in the Chaetocerotaceae (Bacillariophyta). *Phycologia*, 49(5), 471–500. <https://doi.org/10.2216/09-59.1>
- Kotta, J., Wernberg, T., Jänes, H., Kotta, I., Nurkse, K., Pärnoja, M., & Orav-Kotta, H. (2018). Novel crab predator causes marine ecosystem regime shift. *Scientific Reports*, 8(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23282-w>
- Mazzillo, F. F. M., Ryan, J. P., & Silver, M. W. (2011). Parasitism as a biological control agent of dinoflagellate blooms in the California Current System. *Harmful Algae*, 10(7), 763–773. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2011.06.009>.
- Neoprosecta. Neoprosecta - Soluções em Diagnóstico Molecular. Disponível em: <https://www.neoprosecta.com/>. Acesso em: 20 de agosto de 2024.
- Oliveros, J.C. (2007-2015) Venny. An interactive tool for comparing lists with Venn's diagrams. Disponível em: <https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>. Acesso em 19 de agosto de 2024.

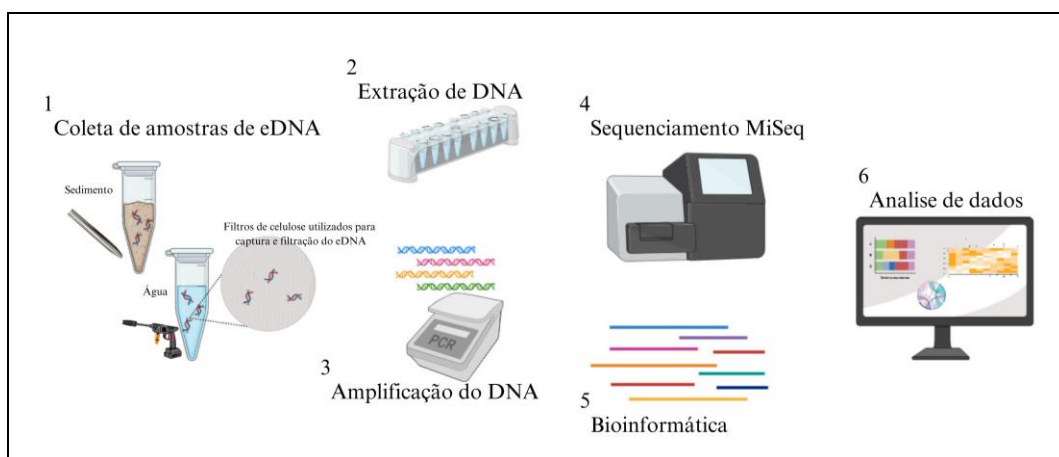
- Park, B. S., Kim, S., Kim, J.-H., Kim, J.-H., & Han, M.-S. (2019). Dynamics of Amoeboophrya parasites during recurrent blooms of the ichthyotoxic dinoflagellate Cochlodinium polykrikoides in Korean coastal waters. *Harmful Algae*, 84, 119-126. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.02.001>.
- Pratchett, M. S., Caballes, C. F., Wilmes, J. C., Matthews, S., Mellin, C., Sweatman, H. P., Nadler, L. E., Brodie, J., Thompson, C. A., Hoey, J., Bos, A. R., Byrne, M., Messmer, V., Fortunato, S. A. V., Chen, C. C. M., Buck, A. C. E., Babcock, R. C., & Uthicke, S. (2017). Thirty years of research on crown-of-thorns starfish (1986–2016): Scientific advances and emerging opportunities. *Diversity*, 9(4), 41. <https://doi.org/10.3390/d9040041>.
- Pyšek, P., Blackburn, T. M., García-Berthou, E., Perglová, I., & Rabitsch, W. (2017). Displacement and local extinction of native and endemic species. In M. Vila, P. E. Hulme, & G. Ruiz (Eds.), *Impact of biological invasions on ecosystem services* (pp. 157–175).
- Simberloff D, Martin JL, Genovesi P, Maris V, Wardle DA, Aronson J, Courchamp F, Galil B, García-Berthou E, Pascal M, Pyšek P, Sousa R, Tabacchi E, Vilà M. Impacts of biological invasions: what's what and the way forward. *Trends Ecol Evol*. (2013) Jan;28(1):58-66. Epub 2012 Aug 10. PMID: 22889499. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.07.013>.
- Smyth, R. P. *et al*. Reducing chimera formation during PCR amplification to ensure accurate genotyping. *Gene*, v. 469, p. 45–51, 2010.
- Tamburri MN, Davidson IC, First MR *et al* (2020) In-water cleaning and capture to remove ship biofouling: an initial evaluation of efficacy and environmental safety. 7:1–14. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00437>.
- United Nation Conference on Trade and Development (UNCTAD), 2014, Review of Maritime Transportation 2014. UNCTAD. Report, Geneva. Disponível em: [Review of Maritime transport 2014 \(unctad.org\)](https://unctad.org/en/publications-and-reports/Review-of-Maritime-transport-2014.aspx).
- Velo-Suárez L, Brosnahan ML, Anderson DM, McGillicuddy DJ Jr. A quantitative assessment of the role of the parasite Amoeboophrya in the termination of Alexandrium fundyense blooms within a small coastal embayment. *PLoS One*. 2013 Dec 4;8(12): e81150. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081150>.
- Worms Editorial Board. (2024). World Register of Marine Species. <https://www.marinespecies.org/>.
- Zeug, S. C., Brodsky, A., Kogut, N., Stewart, A. R., & Merz, J. E. (2014). Ancient fish and recent invaders: White sturgeon Acipenser transmontanus diet response to invasive-species-mediated changes in a benthic prey assemblage. *Marine Ecology Progress Series*, 514, 163–174. <https://doi.org/10.3354/meps11002>.
- Zheng D, Zou L, Zou J, Li Q, Lu S. Refining taxonomic identification of microalgae through molecular and genetic evolution: a case study of Prorocentrum lima and Prorocentrum arenarium. *Microbiol Spectr*. 2024 May 2;12(5): e0236723. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02367-23>.

8 PERFIL TAXONÔMICO DA COMUNIDADE PROCARIÓTICA DA BAÍA DE ARATU, BAHIA, BRASIL, POR MEIO DO *METABARCODING* 16S rRNA

Artigo seguindo as normas de submissão para revista Marine Pollution Bulletin.

[Marine Pollution Bulletin | Journal | ScienceDirect.com by Elsevier](#)

RESUMO GRÁFICO



Palavras chave: Contaminação, Manguezal, Bactérias, Metagenômica, Baía de Todos os Santos, DNA ambiental.

8.1 RESUMO

Este estudo visou investigar as comunidades procarióticas em sedimentos e água da Baía de Aratu, um ecossistema de manguezal crucial na Bahia, Brasil, afetado por atividades industriais e portuárias. A Baía de Aratu é significativa devido à sua biodiversidade e ao papel ecológico dos manguezais na filtragem de nutrientes, fixação de carbono e remediação de poluentes. A pesquisa buscou caracterizar a diversidade e a composição das comunidades bacterianas, utilizando o *metabarcoding* do gene 16S rRNA. Foram coletadas amostras de água e sedimento em 12 pontos distintos da baía, agrupados em quatro áreas diferentes. As amostras foram analisadas para identificar a diversidade taxonômica das comunidades procarióticas. O sequenciamento gerou um total de 792.271 sequências, com *Proteobacteria* sendo o filo mais abundante em ambas as matrizes. Identificaram-se 74 filos, com *Proteobacteria*, *Firmicutes* e *Cyanobacteria* predominando. O estudo também revelou a presença de grupos relacionados à respiração de organohaletos *Dehalococcoides*, indicando

potencial para biorremediação de contaminantes. Além de espécies do gênero *Vibrio*, bactérias relevantes para monitoramento devido seu potencial patogênico. Os resultados destacam a importância dos manguezais da Baía de Aratu na manutenção da saúde ecológica e sugerem que a caracterização das comunidades bacterianas é crucial para compreender o impacto da contaminação e desenvolver estratégias de biorremediação na área.

8.2 INTRODUÇÃO

Os manguezais são ecossistemas estuarinos localizados nas zonas costeiras de regiões tropicais e subtropicais, ocupando um nicho de habitat único entre a interface terra-mar (de Souza Queiroz *et al.*, 2017; Alsharif *et al.*, 2024). Consideravelmente, suas florestas desempenham papéis fundamentais na função do ambiente, filtrando e reduzindo os nutrientes dissolvidos e particulados. Além disso, atuam como reservatórios cruciais de carbono, nitrogênio, fósforo, e são potenciais fitoestabilizadores de poluentes de metais pesados em áreas industriais (Almahasheer *et al.*, 2013; Gomes *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2022; Hu *et al.*, 2024). No entanto, os manguezais estão sob forte perturbação antrópica, tendo experimentado 20% a 35% de perda de habitat no último quarto de século devido às atividades humanas (Duke, 2007; Polidoro *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2023).

Sendo um rico reservatório de diversidade microbiana, o manguezal abriga diversas comunidades bacterianas que representam o maior pool de biodiversidade da Terra. As comunidades microbianas exercem grande influência no ciclo biogeoquímico (carbono, enxofre, nitrogênio e fósforo) desse ambiente por meio de diversas vias metabólicas (Thatoi *et al.*, 2013; Mendes & Tsai, 2018; Flemming & Wuertz, 2019). No entanto, apesar da necessidade de estudos extensivos sobre a comunidade microbiana de manguezais, elas têm sido amplamente negligenciadas (Ghizelini & Mendonça, 2012; Mendes & Garbeva, 2013). Como a maioria dos microrganismos não são cultiváveis, os métodos tradicionais dependentes da cultura e de impressão digital têm sido inadequados para acessar a diversidade taxonômica desses ecossistemas (Basak *et al.*, 2015; Imchen *et al.*, 2024).

Um grande desafio para a remediação dos ecossistemas de manguezais é definir o nível de degradação e medir seu restabelecimento (Peixoto *et al.*, 2011). Os estudos relacionados a contaminação nestes habitats, geralmente são como um poluente afeta a assembléia geral e a abundância da comunidade bacteriana, bem como a presença de genes essenciais relacionados à resistência a poluentes (Cabral *et al.*, 2016; Balakrishnan *et al.*, 2017; Guo *et al.*, 2018). Todavia, ainda são escassas as pesquisas na identificação de

Unidades Taxonômicas Operacionais (OTUs) bacterianas, específicas que podem mudar de acordo com as variações em ambientes contaminados (Fernández-Cadena *et al.*, 2020).

A Baía de Aratu, inserida na Baía de Todos os Santos (BTS), que é a maior baía brasileira e segunda maior baía do mundo, está localizada no Estado da Bahia (BA). Esta baía é afetada pela presença de uma grande área metropolitana, atividades industriais (químicas, alimentícias) e portuárias. Além disso, a Baía de Aratu é um ecossistema diversificado, abrigando manguezais e áreas de proteção ambiental que desempenham um papel de grande relevância na manutenção da biodiversidade local e no equilíbrio dos recursos naturais.

Estudos anteriores relataram que os sedimentos, a água e a biota nesta área possuem altos níveis de poluentes, como metais pesados e persistentes compostos orgânicos (Celino & Queiroz 2006; Costa *et al.* 2011; García *et al.*, 2008; Hatje *et al.*, 2010,2012; Brito *et al.*, 2012, 2016; Santos *et al.*, 2013; Araujo *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2016; Sotão Neto *et al.*, 2020; Paes *et al.*, 2022).

No entanto, existem poucos estudos metagenômicos sobre o perfil taxonômico de comunidades procarióticas em áreas de manguezal no Brasil (de Santana *et al.*, 2020, 2021, 2024). Nossa hipótese é: as comunidades procarióticas presentes nas quatro áreas distintas da Baía de Aratu apresentam diferenças significativas em termos diversidade taxonômica. Visto isso, este estudo tem como objetivo investigar as comunidades procarióticas que habitam a Baía de Aratu, por meio do *metabarcoding* do gene 16S rRNA em amostras de água e sedimento.

8.3 MATERIAIS E MÉTODOS

A Baía de Aratu constitui-se numa pequena baía, com área de aproximadamente 20 km², disposta entre as coordenadas entre 12°46'58.97"S-38°27'22.22"W, se comunicando com a Baía de Todos os Santos através do canal de Cotegipe (Cirano & Lessa, 2007).

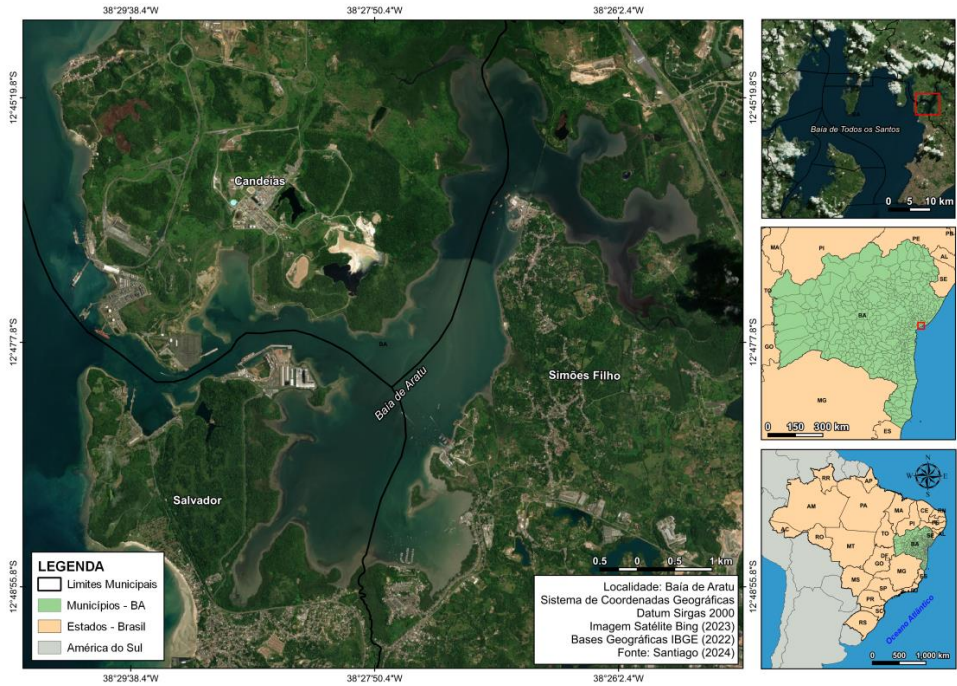


Figura 1. Mapa de localização da Baía de Aratu, Bahia, Brasil. Fonte: Santiago, 2024.

8.3.1 Coleta das amostras e filtragem do eDNA

Foram realizadas 3 campanhas durante o ano de 2023, sendo os meses de março, junho e setembro, onde as amostras foram coletadas em 12 pontos (Tabela 1) na Baía de Aratu, sendo organizadas em 4 áreas para uma análise espacial do ambiente. A partir do agrupamento das amostras em diferentes áreas da baía, buscamos identificar regiões de alta ou baixa diversidade procariótica.

Tabela 1. Coordenadas dos pontos de coleta na Baía de Aratu.

Pontos	Latitude	Longitude	Datas
1,1	12°47'58"S	38°27'23"O	1ª coleta 13/março/2023 2ª coleta 05/junho/2023 3ª coleta 14/setembro/2023
2	12°48'3.37"S	38°27'30.03"O	
2,1	12°48'9.35"S	38°27'28.04"O	
3	12°48'15.27"S	38°28'32.13"O	
3,1	12°48'25.68"S	38°28'35"O	
4	12°47'39.70"S	38°28'10.86"O	
4,1	12°47'43.62"S	38°28'31.68"O	
4,2	12°47'30.24"S	38°28'28.54"O	
5	12°47'5.86"S	38°27'59.72"O	
5,1	12°47'5.28"S	38°27'47.94"O	
6	12°47'46.13"S	38°27'15.83"O	

Os locais de amostragem foram selecionados com base na entrada e saída de embarcações na Baía, bem como, locais que possuíam ações antrópicas (área de pesca, industrial, marina) (Figura 2).



Figura 2. Pontos de coleta realizados na Baía de Aratu. Fonte: Santiago, 2024.

A vegetação de manguezal que prevalece são as espécies do mangue-vermelho (*Rhizophora mangle*) 12°47'46.13" S 38°27'15.83" O, mangue-preto (*Avicennia schaueriana*) 12°47'5.28"S 38°27'47.94" O e mangue-branco (*Laguncularia racemosa*) 12°48'15.27"S 38°28'32.13" O. As amostras de sedimentos foram coletadas por uma cavadeira manual, em áreas de manguezal próximas às rizosferas, associadas a vegetação, pois são mais eficazes na detecção de grupos procarióticos que interagem diretamente com as raízes ou que são atraídas pelos exsudatos das plantas. As amostras coletadas foram armazenadas em tubos tipo falcon, previamente descritas e separadas por ponto.

As amostras de água foram coletadas na coluna d'água da baía, através de um sistema de bombeamento de sucção modificado (lavadora mini wap portátil, com uma mangueira acoplada e na saída um sistema de irrigação) com especificações de 10,5 x 36,5 x 28,5 cm; 2,09 quilogramas, modelo DS12719, bivolt, com bateria lítio de 96VF. Sendo o volume padrão de captação de água de 1L por amostra. A filtração foi feita usando filtros de membrana de celulose – Sartorius (0.47 mm) de diâmetro e tamanho de poro de 0,45 µM. Ao

final de cada coleta, foi adicionado 500 uL de *shield* (solução estabilizante de DNA e RNA para preservação da integridade genética da amostra) em cada microtubo com os filtros.

As amostras de sedimento e água, foram acondicionadas em uma caixa térmica com gelo, sendo transferidas para o Laboratório de Microbiologia Ambiental e Saúde Pública (LAMASP) da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Bahia. Onde foram armazenados em -20°C antes da extração de DNA (Figura 3).

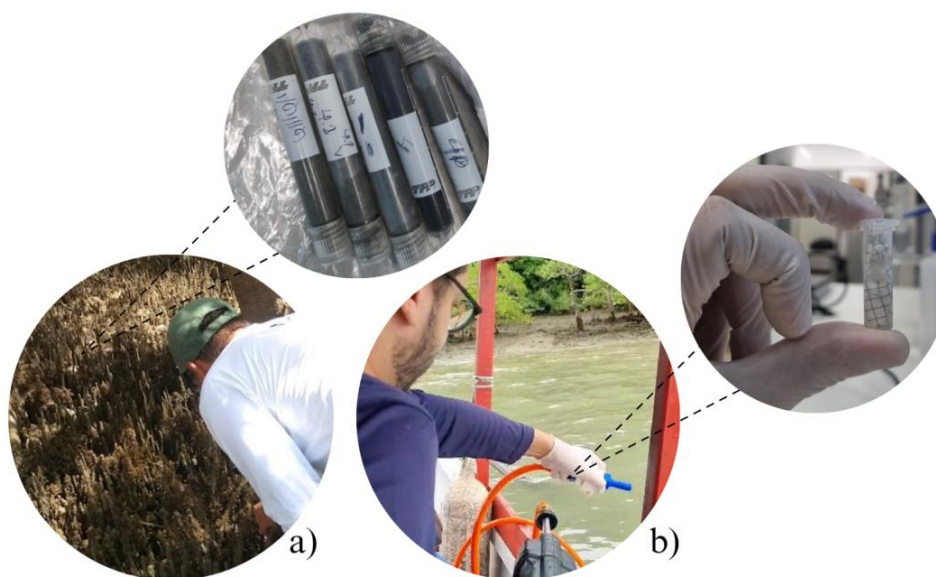


Figura 3. a) Coleta de sedimento próximo as rizosferas por meio de uma cavadeira manual; b) Ferramenta utilizada para captura e filtração do eDNA em amostras de água.

8.3.2 Extração de DNA

Para análise das comunidades microbianas, foi realizada a extração em amostras compostas, nas matrizes ambientais coletadas (sedimento e água). A combinação de amostras dos diferentes pontos, visa aumentar a representatividade da amostra, capturando uma maior diversidade de microrganismos presentes em diferentes micro-habitats. Isso é importante no ecossistema estudado, onde a comunidade biológica varia significativamente em diferentes áreas.

As amostras foram combinadas e organizadas em quatro áreas distintas, com base em características específicas de cada região. A primeira área incluiu os pontos 1, 1.1, 2, 2.1 e 6, selecionados pela proximidade à Marina Aratu, marina conhecida pelo fluxo de pessoas, turismo, pesca. A segunda área abrangeu os pontos 3 e 3.1, definidos pela proximidade às

outras marinas da região, bem como um possível local de depósito final de organismos e microrganismos por conta de sua geografia. A terceira área, composta pelos pontos 4, 4.1 e 4.2, foi organizada com base na atividade pesqueira ao redor e na presença da indústria alimentícia Moinho Dias Branco. Por fim, a quarta área, que incluiu os pontos 5 e 5.1, foi estabelecida em função da ligação entre a Baía de Aratu e a Baía de Todos os Santos.

A extração de DNA em amostras de sedimento de rizosferas de manguezal foi realizada utilizando o kit *Quick-DNA/RNA Viral MagBead* (Zymo Research), que é especialmente projetado para a purificação de ácidos nucleicos de amostras complexas. Para cada amostra, foi utilizada 1g de sedimento, garantindo uma quantidade suficiente de material para capturar a diversidade genética presente. O protocolo de extração seguiu as instruções do kit, aproveitando as partículas magnéticas para isolar o DNA de alta qualidade, essencial para subsequentes análises moleculares, como *metabarcoding*, que visam entender a composição e a dinâmica das comunidades eucarióticas associadas às rizosferas na Baía de Aratu.

Para as amostras de água, os filtros foram cortados ao meio, uma metade sendo usada para extração, e a outra metade foi deixada em *shield* em seu respectivo microtubo previamente identificado, no caso de precisarmos fazer uma nova extração em futuros trabalhos. As extrações foram realizadas em capela de fluxo laminar esterilizada por UV e todos os instrumentos de extração e espaços de bancada foram esterilizados com luz UV e álcool 95%. Toda a pipetagem foi realizada utilizando-se ponteiros estéreis de filtro de barreira. Para extração de DNA, resumidamente, foram pipetados 400 µL de *shield* por microtubo com os filtros das amostras coletadas, e adicionados em tubos tipo eppendorf de 1.5 mL, previamente identificados, seguidos por 400 µL de tampão de DNA/ RNA viral e 25 µL de proteinase K, vórtice e incubados a 40°C durante a noite. Nesse contexto, utilizamos uma estante magnética para facilitar e otimizar os procedimentos de extração e seguimos o protocolo do kit *Quick-DNA/ RNA Viral MagBead* (Zymo Research) para próximas etapas de extração. Ao final, cada extração de eDNA de sedimento e água foi diluída em 20 µL de água ultra pura para quantificação em espectrofotômetro (Thermo Scientific Série NanoDrop), a serem armazenadas a -80°C.

8.3.3 Sequenciamento do amplicon 16S rRNA

A identificação procariótica foi realizada utilizando o sequenciamento de alto desempenho das regiões V3/V4 do gene 16S rRNA. O sequenciamento foi realizado em amostras compostas das matrizes ambientais, sendo 4 para as amostras de água, e em

sedimento utilizamos de triplicatas, totalizando em 12 sequenciamentos, organizados em 4 áreas. O local de sequenciamento ocorreu na empresa de biotecnologia Neopropecta, localizada em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. Sendo realizada a amplificação com primers para região V3-V4 do gene rRNA 16S, 341F com sequência (CCTACGGGGRSGCAGCAG), e 806R com sequência (GGACTACHVGGGTWTCTAAT). As bibliotecas foram sequenciadas utilizando o equipamento *MiSeq Sequencing System* (Illumina Inc., USA). Sendo *single-end*, utilizando kits V3 com 600 ciclos. Após o sequenciamento, os dados foram enviados para o Basespace e para bancos de dados da Neopropecta, onde são armazenados antes de serem analisados com o pipeline Sentinel. Ele é um programa proprietário da Neopropecta responsável por realizar a identificação metataxonômica de dados de sequenciamento de amplicons de marcadores genéticos para plataformas Illumina. Esse software foi construído em Python 3.6, e tem como uma das principais funcionalidades o pacote BioPython.

8.3.4 Preparação das bibliotecas

O preparo das bibliotecas seguiu um protocolo proprietário desenvolvido pela Neopropecta Microbiome Technologies. As amostras enviadas seguem para o recebimento e preparo de bibliotecas, onde é executada a amplificação do material genético com os conjuntos de primers. As bibliotecas passaram por uma avaliação de qualidade antes de serem sequenciadas.

8.3.5 Bioinformática

No pipeline Sentinel os arquivos FASTQ são avaliados quanto a qualidade Phred (QP) usando o programa FastQC v.0.11.8 (Andrews *et al.*, 2010). Em seguida, foram submetidos à trimagem de primers e sequências com baixa qualidade (Phred < 20). O software proprietário utilizado para tal finalidade foi construído em Python v.3.6, sendo este inspirado nas funcionalidades do projeto BioPython (Cock *et al.*, 2009). Clusters com abundância menor do que 5, foram removidos das análises, pois tais estruturas normalmente são relacionadas a sequências quimeras (Smyth *et al.*, 2010). As identificações taxonômicas foram realizadas com BLASTN V.2.6.0+, usando como referência o banco de dados públicos nt/nr do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Quanto a definição de uma espécie, dentre os 20 hits retornados para cada cluster, uma instrução em Python avalia se um

dos três quesitos seriam atendidos pelos hits: 1) maior bit-score; 2) menor e-value; e 3) taxonomias com maior representação. Os hits que atenderam um dos itens anteriores, foram escolhidos como espécie representante, essas análises foram realizadas na plataforma computacional do Google Cloud Platform, onde a estrutura de bioinformática da Neoprospecta está hospedada.

8.3.6 Banco de dados

Para esse estudo em questão, o pipeline utilizou o banco de dados público “NR/NT” do *National Center for Biotechnology Information*, em sua versão mais atual. O banco conta com milhões de sequências nucleotídicas não ambíguas, recuperadas de genomas e depósitos de sequenciamentos de amplicons. Devido a natureza diversa da origem das sequências depositadas em bancos públicos, as identificações de espécies realizadas nesse ensaio passaram por uma cuidadosa revisão e curadoria por parte da equipe de bioinformática da Neoprospecta para evitar atribuições inadequadas ou não confiáveis.

8.3.7 Tratamento dos dados

O programa *SigmaPlot* versão 14.5 (Systat Software Inc., San Jose, Califórnia, EUA) foi utilizado para a realização dos testes estatísticos e elaboração dos gráficos taxonômicos referentes às amostras. Adicionalmente, as taxas de reads (sequências) por amostra foram organizadas e analisadas em planilhas, sendo posteriormente plotadas utilizando o Microsoft Excel para visualização e comparação dos dados.

8.4 RESULTADOS

O sequenciamento do amplicon do gene 16S rRNA procariótico conduzido na Baía de Aratu, abrangendo amostras de DNA ambiental em sedimentos e água em áreas de manguezais, rendeu um total de 792.271 sequências, sendo 446.935 em sedimentos e 345.336 nas amostras de água.

8.4.1 Análise em nível domínio

Todas as amostras de água e sedimento tinham sequências que mapeiam as bactérias, Archaea e Eukaryota. Uma pequena porcentagem das sequências (0,081% a 1,03%) não foi atribuída a nenhum organismo. As bactérias foram o domínio mais abundante recuperado de todos os conjuntos de dados de manguezais, variando de 96,05% a 98,69 % do total (Figura 4).

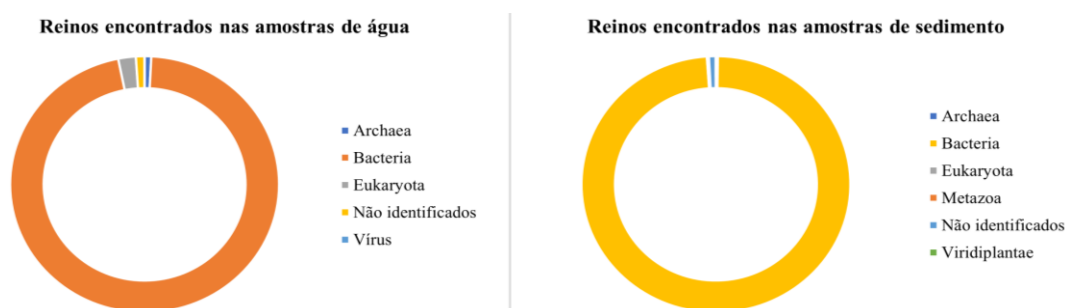


Figura 4. Distribuição dos domínios mais abundantes nas matrizes ambientais.

8.4.2 Distribuição dos filos

Um total de 74 filos foram identificados por meio do sequenciamento das matrizes ambientais. A riqueza dos filos foi bastante semelhante entre as amostras de água e sedimento, com exceção dos filos Bdellovibrionota, Campylobacterota e Thermodesulfobacteriota, que foram encontrados exclusivamente nas amostras de água. Por outro lado, os filos Armatimonadetes, Calditrichaeota, Chlorobiota, Chloroflexota, Deferribacterota, Gemmatimonadota e Nitrospirae foram exclusivos dos sedimentos. O filo mais abundante entre todas as amostras foi o Proteobacteria, representando (44,01%) das sequências nas amostras de água e (51,58%) nos sedimentos. Nas amostras de água, o segundo filo mais abundante foi o Cyanobacteria, com (10,73%), enquanto nos sedimentos o segundo filo mais representativo foi o Firmicutes, com (17,20%). Em ambas as matrizes, o filo Pseudomonadota foi o terceiro mais abundante, com (7,46%) em água e (8,88%) em sedimentos. Para fornecer uma visão mais precisa da composição da comunidade bacteriana, foram selecionados para análise apenas os filos com pelo menos 1% de abundância relativa em cada amostra (Figura 5).

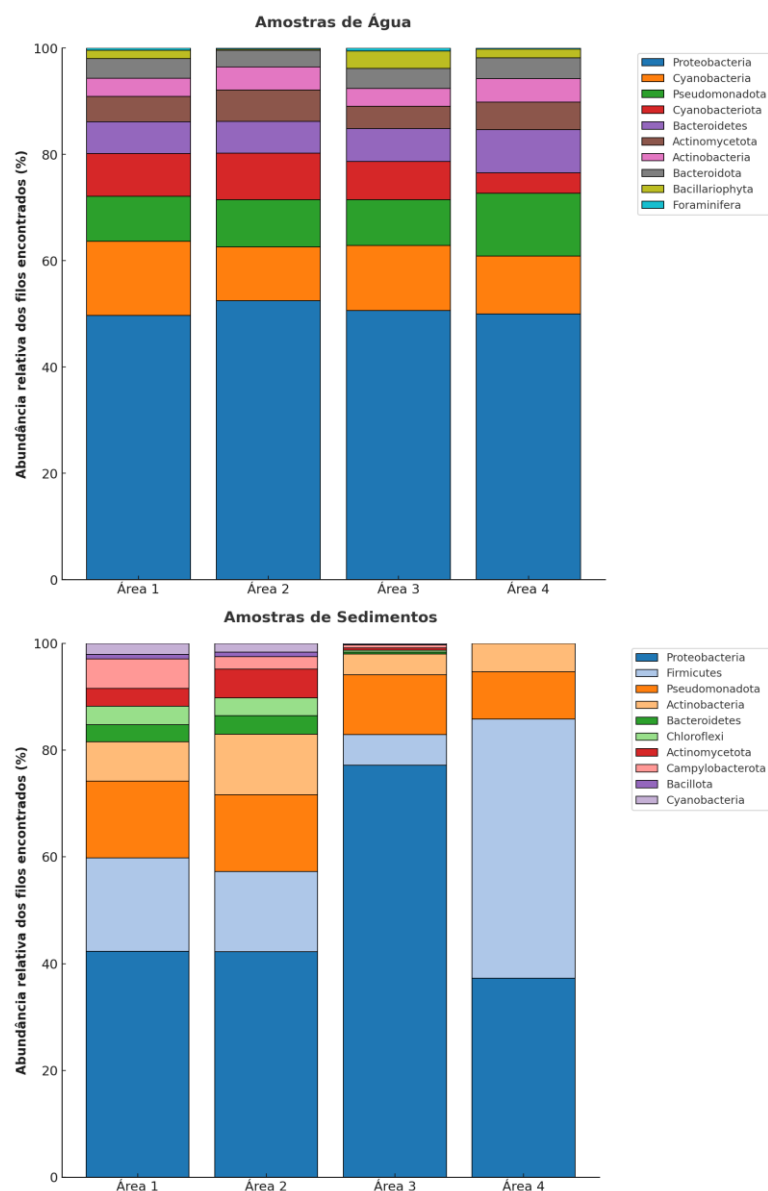


Figura 5. Filos mais abundantes encontrados em ambas matrizes ambientais.

8.4.3 Visão geral dos gêneros mais abundantes encontrados

Um total de 598 gêneros foram identificados nos resultados encontrados, sendo (14,99%) de gêneros não identificados nas amostras de sedimentos e (24,79%) nas amostras de água. A maioria desses gêneros pertencia a Proteobacteria, seguidas por Firmicutes e Cyanobacteria. Para obter uma imagem clara da comunidade bacteriana dominante, apenas os gêneros bacterianos com mais de 1% de abundância em pelo menos uma amostra foram selecionados para análise posterior (Figura 6).

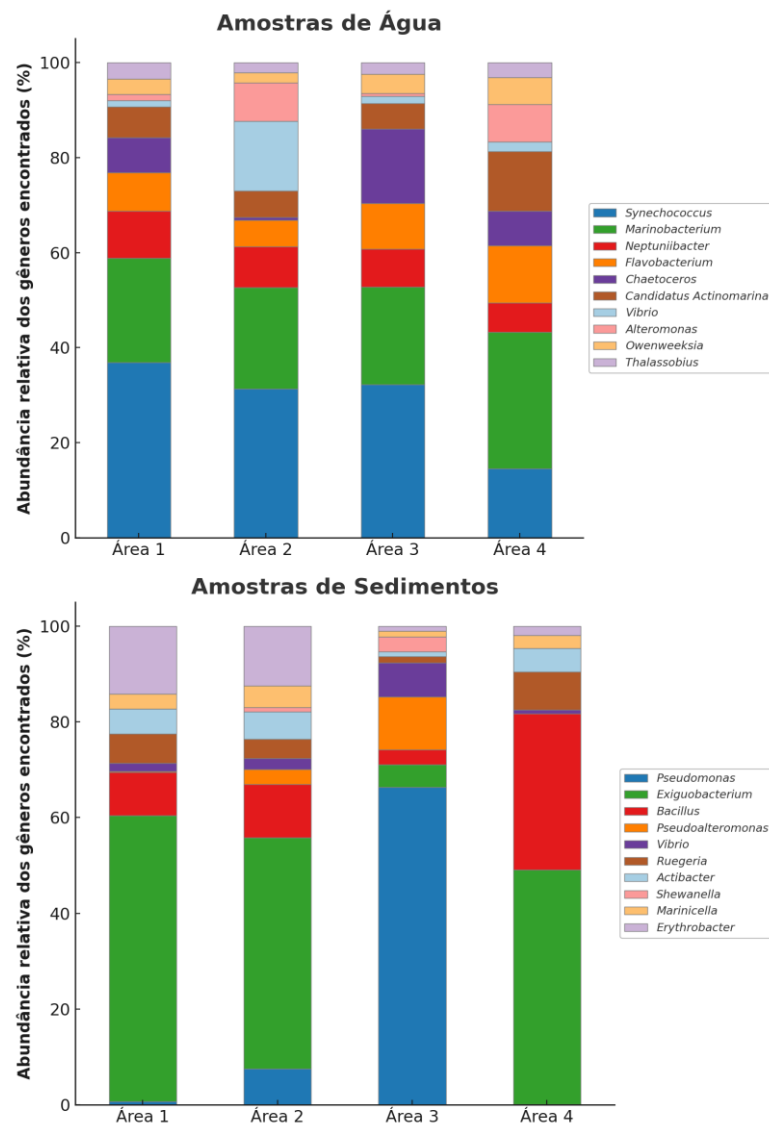


Figura 6. Distribuição dos gêneros mais abundantes identificados em ambas as matrizes ambientais.

O diagrama de Venn (Figura 7) revela um destaque para o gênero *Vibrio*, presente em ambas as amostras, indicando sua capacidade de habitar múltiplos ambientes. No círculo à esquerda, exclusivo para amostras de água, estão gêneros como *Marinobacterium*, *Neptuniibacter*, *Synechococcus* e *Candidatus Actinomarina*, entre outros, que sugerem ser típicos de ambientes aquáticos. No círculo à direita, específico para as amostras de sedimento, encontram-se gêneros como *Bacillus*, *Shewanella*, *Pseudomonas*, e *Exiguobacterium*, sugerindo uma adaptação a condições bentônicas ou de substrato sólido. Essa visualização fornece insights sobre a diversidade microbiana e a distribuição ecológica de diferentes gêneros em ambientes aquáticos e sedimentares.

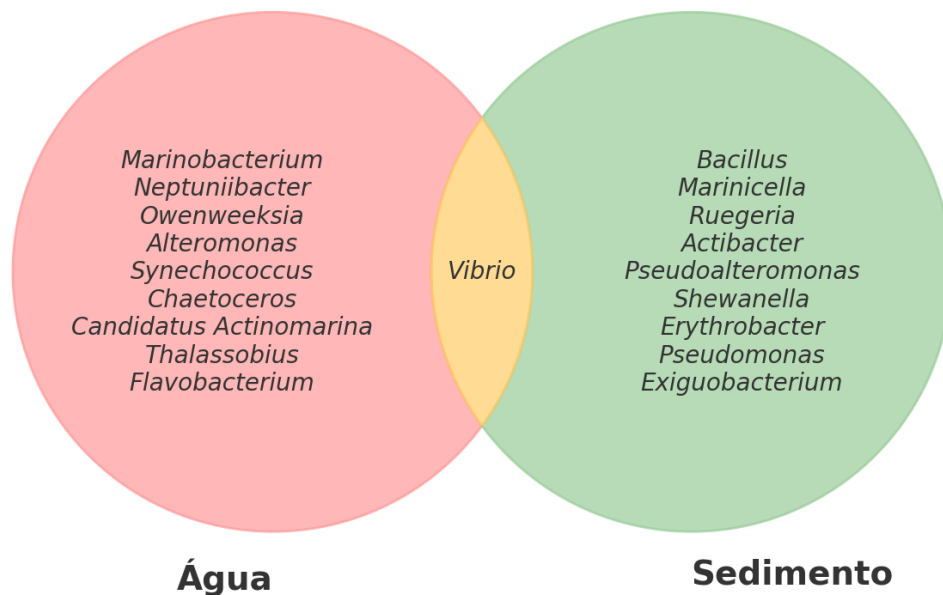


Figura 7. O diagrama de Venn mostra a distribuição de gêneros encontrados em duas matrizes diferentes: água e sedimento em áreas de manguezal.

8.4.4 Espécies encontradas

Foram identificados 1.088 OTUs taxonômicas nas amostras de sedimentos, e 601 nas amostras de sedimentos. Para uma melhor visualização das espécies encontradas, filtramos as 12 mais abundantes de acordo as leituras brutas, a filtragem levou em consideração as espécies identificadas que atingiram mais de 1% de abundância relativa por amostra (Figura 8).

Diante os resultados, notamos uma diversificação nos táxons encontrados, *Pseudomonas marincola* foi a espécie mais abundante nas amostras de sedimentos, sendo encontrada em todas as áreas do estudo. *Pseudomonas* são consideradas membros comuns em ambientes marinhos. Já para amostras de água, *Chaetoceros simplex* foi a espécie mais abundante, aparecendo em todas as áreas do estudo. Por fim, foi detectada a presença de espécies do gênero *Vibrio* em ambas as matrizes ambientais.

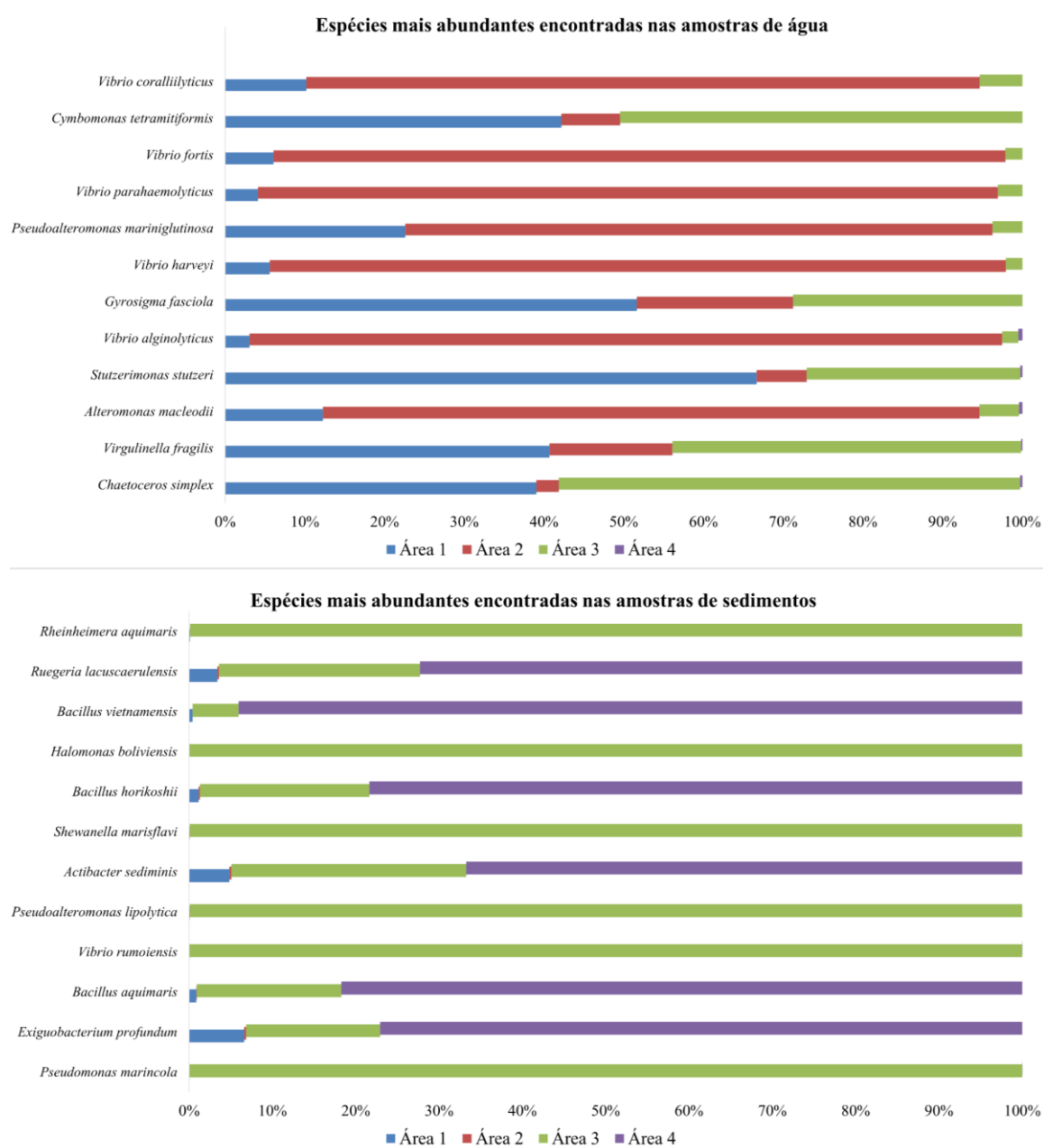


Figura 8. Distribuição das espécies mais abundantes encontradas na Baía de Aratu.

8.5 DISCUSSÃO

8.5.1 Perfil funcional de grupos procarióticos encontrados

Nas matrizes de sedimento e água, *Proteobactéria* foi o filo mais abundante encontrado, isso corresponde aos achados de estudos anteriores (Mendes & Tsai, 2014; Basak *et al.*, 2016). Este filo possui uma alta diversidade metabólica, com ampla distribuição em ambientes marinhos, desempenhando um papel importante na ciclagem de nutrientes

(Kersters *et al.*, 2006). Notavelmente, *Firmicutes* ficou em segundo lugar de abundância em sedimentos, sua alta diversidade e fisiológica permitem a colonização em diversos habitats. Além disso, as bactérias do filo *Firmicutes* estão frequentemente associadas à degradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (dos Santos *et al.*, 2023). Também identificamos a presença dos gêneros *Microbulbifer* e *Sphingomonas*, segundo estudos anteriores, estes grupos possuem a capacidade de biorremediação de hidrocarbonetos nocivos, por exemplo hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) (Machado *et al.*, 2019; Cabral *et al.*, 2019). Por fim, o gênero *Pseudomonas* foi detectado nas amostras de sedimentos, este grupo prospera em muitos ambientes diversos que variam de humanos individuais à rizosfera da vegetação do mangue (Nikel & Martínez-Garcia, 2014). *Pseudomonas* influencia o crescimento das plantas (Nikel & Martínez-Garcia, 2014; Wu *et al.*, 2011; Alzubaidy *et al.*, 2016) liberando sideróforos, antibióticos, biossurfactantes e solubilização de potássio em formas acessíveis para as plantas, e também tem sido conhecido por seu papel crítico de fixação de nitrogênio no ecossistema de mangue (Flores-Meireles *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2008). Além disso, também são tolerantes a hidrocarbonetos aromáticos, contaminantes orgânicos e de metais pesados (Pitondo-Silva & Gonçalves, 2016). Nas amostras de água, detectamos a presença do gênero *Marinobacter*, as bactérias deste grupo possuem potencialidade de sobreviver em águas poluídas por óleo (Singer *et al.*, 2011), além disso podem ser usadas para biomonitoramento de derramamentos de óleo em manguezais (dos Santos *et al.*, 2011). O gênero *Neptuniibacter* foi identificado nas amostras de água, essa bactéria marinha utiliza carbazol como fonte de carbono e nitrogênio (Nagashima *et al.*, 2010; Ahmad *et al.*, 2015). A detecção deste gênero em amostras de água em áreas de manguezal é um indicativo de um ecossistema que pode estar se adaptando a altos níveis de contaminação ou que possui potencial para biodegradação de poluentes.

8.5.2 Grupos relacionados a respiração de organoleitos (OHRB)

Identificamos por meio do *metabarcoding* do gene 16S rRNA a presença de grupos relacionados a atividades de decloração (OHRB) em amostras de sedimentos, especificamente na área 1 (Marina Aratu); área 3 (local próximo a indústria M. Dias Branco) e na área 4 (canal de ligação com a BTS). Os membros do gênero *Dehalococcoides* são bactérias que respiram organohaletos (OHRB), elas desempenham papéis essenciais na desalogenação biológica de uma variedade de contaminantes orgânicos halogenados antropogênicos em ambientes anóxicos. Segundo estudos, *Dehalococcoides* são capazes de desintoxicação

completa ou desalogenação extensiva de contaminantes organohalídeos, incluindo solventes clorados e poluentes orgânicos persistentes no ambiente (Löffler *et al.*, 2013; Liang *et al.*, 2021). Esse achado destaca o papel potencial de táxons bacterianos específicos para biorremediação de áreas contaminadas na Baía de Aratu.

8.5.3 Saúde única

A abordagem de Saúde Única reconhece a interconexão entre a saúde humana, a saúde animal e a saúde ambiental, enfatizando que a sustentabilidade e o bem-estar de cada um desses setores dependem de ações integradas (Norman *et al.*, 2023). Nesse contexto, a descoberta de diversas espécies do gênero *Vibrio* na Baía de Aratu levanta preocupações tanto para o ambiente quanto para a saúde pública. O gênero engloba mais de 100 espécies, com numerosas estabelecendo relações, simbióticas ou patogênicas, com organismos marinhos como peixes, moluscos e crustáceos (Thompson *et al.*, 2004; Romalde *et al.*, 2014).

Através do *metabarcoding* do gene 16S rRNA detectamos ao total 19 espécies de *Vibrio*, sendo os táxons: *V. alfacensis*, *V. alginolyticus*, *V. antiquarius*, *V. areninigrae*, *V. azureus*, *V. caribbeanicus*, *V. coralliilyticus*, *V. fluvialis*, *V. fortis*, *V. harveyi*, *V. hepatarius*, *V. hispanicus*, *V. mediterranei*, *V. parahaemolyticus*, *V. ponticus*, *V. proteolyticus*, *V. rumoiensis*, *V. sinaloensis*, *V. tritonius*. As bactérias encontradas apresentam um perfil funcional diversificado, influenciando tanto o ambiente marinho quanto a saúde animal e humana.

Espécies como *Vibrio coralliilyticus* desempenham papéis críticos em ecossistemas marinhos, particularmente no contexto da simbiose e patogenicidade. *V. coralliilyticus*, por exemplo, é conhecida por causar doenças em corais, como o branqueamento, afetando diretamente a integridade dos recifes de corais e, por consequência, a biodiversidade marinha. Hernández-Pérez (2021), realizou estudos com lagostins infectados por *V. areninigrae*, os resultados identificaram que a espécie é capaz de produzir toxinas extracelulares que fazem parte dos fatores de virulência dessa espécie bacteriana em crustáceos.

Embora os casos de cólera sejam relatados principalmente em áreas onde a qualidade da água é inadequada e o tratamento de esgoto insuficiente, outras espécies de *Vibrio* são agentes relevantes de infecções transmitidas por frutos do mar em escala global. Relatos como *V. harveyi* e *V. mediterranei* em ambientes estuarinos são escassos, eles são patógenos relacionados a infecções de organismos aquáticos, particularmente em fazendas de aquicultura, onde podem levar à mortalidade de camarões e peixes, causando prejuízos

econômicos significativos (Zhang *et al.*, 2020; Montánchez & Kaberdin, 2020). Zhang (2022) identificou a patogenicidade de *Vibrio sinaloensis* em *Epinephelus coioides* (Garoupa-de-pintas-laranja).

Em termos de saúde humana, várias dessas espécies possuem potencial patogênico. *Vibrio parahaemolyticus* e *V. fluvialis*, por exemplo, são associadas a casos de gastroenterite em humanos, geralmente adquiridos através do consumo de frutos do mar contaminados (Pereira *et al.*, 2007; CDC, 2019). *Vibrio alginolyticus*, por outro lado, é um patógeno oportunista comum, associado a infecções em humanos, como otites e infecções de feridas, especialmente em indivíduos expostos à água contaminada (Brumfield *et al.*, 2023). *Vibrio antiquarius* e *V. alfacensis*, embora menos estudadas, podem desempenhar papéis semelhantes em desequilíbrios microbiológicos, especialmente em ambientes costeiros com condições favoráveis à proliferação bacteriana, como alta temperatura e nutrientes abundantes. *V. fortis*, é um patógeno bacteriano conhecido por infectar peixes e uma variedade de invertebrados marinhos (Austin *et al.*, 2005). *Vibrio tritonius* e *V. rumoiensis* são bactérias menos conhecidas, desempenham funções ecológicas importantes na ciclagem de nutrientes (Sawaka *et al.*, 2013; Tanaka *et al.*, 2017).

Essa dualidade reflete a complexidade funcional das espécies de *Vibrio* presentes na Baía de Aratu, que podem ser tanto elementos essenciais para a manutenção de ecossistemas marinhos saudáveis quanto agentes de perturbação ecológica e de saúde pública em situações de desequilíbrio ambiental. Nossos resultados reforçam que o estudo de *Vibrio* é uma ação interessante para o monitoramento de espécies patogênicas e resistência microbiana em ambientes estuarinos.

8.6 CONCLUSÃO

Apesar da importância ecológica dos ecossistemas de manguezal, nosso conhecimento sobre a dinâmica das comunidades procarióticas, bem como diversidade e papéis ecológicos em diferentes habitats, em água e sedimento, são limitados. Este estudo representa o primeiro esforço na Baía de Aratu a realizar uma avaliação tão profunda e das comunidades bacterianas, marcando um avanço significativo no monitoramento ecológico e na gestão de riscos associados à qualidade da água e à saúde pública na região. A aplicação do *metabarcoding* permitiu uma identificação rápida e eficiente, superando limitações de métodos tradicionais e abrindo novas perspectivas para o controle ambiental. A capacidade de contrastar a composição da comunidade procariótica permitirá proteger o estado de saúde em

áreas de manguezal, principalmente da Baía de Aratu. Esse é um avanço significativo para o manejo ambiental, uma vez que permite a identificação de áreas que podem ser priorizadas para recuperação e mitigação de impactos. Por fim, a pesquisa não só reforça a importância ecológica da Baía de Aratu, mas também destaca a necessidade de políticas ambientais mais rigorosas para proteger esse ecossistema sensível.

8.7 REFERÊNCIAS

- Ahmad, B.T., Azizah., Zulkharnain, Azham., Awang, Husaini, Awang, Ahmad, Sallehin. (2015). Substrate specificity of angular dioxygenase from carbazole-degrading bacterium *Neptuniibacter* sp. strain CAR-SF. 8(2):382-388.
- Almahasheer, H.B.; AL-Taisan, W.A.; Mohamed, M.K. (2014) Metals accumulation in grey mangrove (*avicennia marina* (forsk.) vierh.) inhabiting tarut bay, eastern Saudi Arabia. *Journal of Agricultural Science*, v. 6, n. 1, p. 137-149. <http://dx.doi.org/10.5539/jas.v6n1p137>.
- Alsharif, S.M., Ismaeil, M., Saeed, A.M. *et al.* Correction: Metagenomic 16S rRNA analysis and predictive functional profiling revealed intrinsic organohalides respiration and bioremediation potential in mangrove sediment. *BMC Microbiol* 24, 199 (2024). <https://doi--org.ezaccess.ir/10.1186/s12866-024-03360-y>.
- Alzubaidy H., Essack M., Malas T.B., Bokhari A., Motwalli O., Kamanu F.K., Jamhor S.A., Mokhtar N.A., Antunes A., Simões M.F., Alam I., Bougouffa S., Lafi F.F., Bajic V.B., Archer J.A. Rhizosphere microbiome metagenomics of gray mangroves (*Avicennia marina*) in the Red Sea. *Gene*. (2016) Feb 1;576(2 Pt 1):626-36. <https://10.1016/j.gene.2015.10.032>.
- Andrews, S. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. (2010).
- Austin B, Austin D, Sutherland R, Thompson F, Swings J. Pathogenicity of vibrios to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) and *Artemia nauplii*. *Environ Microbiol*. 2005 Sep;7(9):1488-95. <https://10.1111/j.1462-2920.2005.00847.x>.
- Balakrishnan, B., Sahu, B.K., Kothilmozhan Ranishree, J. *et al.* Assessment of heavy metal concentrations and associated resistant bacterial communities in bulk and rhizosphere soil of *Avicennia marina* of Pichavaram mangrove, India. *Environ Earth Sci* 76, 58 (2017). <https://doi.org/10.1007/s12665-016-6378-7>.
- Basak P., Majumder N.S., Nag S., *et al.* Spatiotemporal analysis of bacterial diversity in sediments of Sundarbans using parallel 16S rRNA gene tag sequencing. *Microbial Ecology*. (2015) Apr;69(3):500-511. <https://10.1007/s00248-014-0498-y>.
- Basak P., Pramanik A., Sengupta S., Nag S., Bhattacharyya A., Roy D., Bhattacharyya M. Bacterial diversity assessment of pristine mangrove microbial community from Dhulibhashani, Sundarbans using 16S rRNA gene tag sequencing. *Genom Data*. (2016);7:76–8. <https://doi:10.1016/j.gdata.2015.11.030>.
- Brito, G. B., Souza, T. L., Bressy, F. C., Moura, C. W. N., & Korn, M. G. A. (2012). Levels and spatial distribution of trace elements in macroalgae species from the Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 64, 2238–2244. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.06.022>.
- Brito, G. B., Souza, T. L., Costa, F. N., Moura, C. W. N., & Korn, M. G. A. (2016). Baseline trace elements in the seagrass *Halodule wrightii* Aschers (Cymodoceaceae) from Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 104, 335–342. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.01.044>.

- Brumfield K.D., Usmani M., Santiago S., Singh K., Gangwar M., Hasan N.A., Netherland M., Deliz K., Angelini C., Beatty N.L., Huq A., Jutla A.S., Colwell R.R. (2023). Genomic diversity of *Vibrio* spp. and metagenomic analysis of pathogens in Florida Gulf coastal waters following Hurricane Ian. <https://doi.org/10.1128/mbio.01476-23>.
- Cabral L., Júnior G.V.L., Pereira de Sousa S.T., Dias A.C.F., Lira Cadete L., Andreote F.D., Hess M., de Oliveira V.M. Anthropogenic impact on mangrove sediments triggers differential responses in the heavy metals and antibiotic resistomes of microbial communities. *Environ Pollut.* (2016) Sep;216:460-469. <https://10.1016/j.envpol.2016.05.078>.
- Cabral L., Noronha M.F., de Sousa S.T.P., Lacerda-Júnior G.V., Richter L., Fostier A.H., Andreote F.D., Hess M., Oliveira V.M. The metagenomic landscape of xenobiotics biodegradation in mangrove sediments. *Ecotoxicol Environ Saf.* (2019) Sep 15;179:232-240. <https://10.1016/j.ecoenv.2019.04.044>.
- CDC. (2019). *Vibrio* Species Causing Vibriosis. Disponível em: <https://www.cdc.gov/vibrio/faq.html>. Acesso em 13 de agosto 2024.
- Celino, J. J., & Queiroz, A. F. S. (2006). Source and degree of contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) Low molecular mass of sediment. Todos os Santos Bay, Bahia. REM: Copper Mines School, 59, 265–270.
- Cock, P. J. A *et al.* Biopython: freely available Python tools for computational molecular biology and bioinformatics. *Bioinformatics*, v. 25, n. 11, p. 1422–1423, (2009).
- Costa A.B., Novotny E.H., Bloise A.C., Azevedo E.R., Bonagamba T.J., Zucchi M.R., Santos V.L.C.S., Azevedo A.E.G. (2011) Characterization of organic matter in sediment cores of the Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil, by elemental analysis and ¹³C NMR. *Mar Pollut Bull* 62(8):1883–1890. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.06.005>
- da Araújo C.F.S., Lopes M.V., Vaz Ribeiro M.R., Porcino T.S., Vaz Ribeiro A.S., Rodrigues J.L., do Prado Oliveira S.S., Menezes-Filho J.A. Cadmium and lead in seafood from the Aratu Bay, Brazil and the human health risk assessment. *Environ Monit Assess.* (2016) Apr;188(4):259. <https://doi:10.1007/s10661-016-5262-y>.
- de Santana, C. O., Spealman, P., Melo, V., Gresham, D., De Jesus, T., & Chinalia, F. A. (2021). Effects of tidal influence on the structure and function of prokaryotic communities in the sediments of a pristine Brazilian mangrove. *Biogeosciences*, 18(6), 2259–2273. <https://doi.org/10.5194/bg-18-2259-2021>.
- de Santana, C. O., Spealman, P., Melo, V., Gresham, D., De Jesus, T., Oliveira, E. J. F., & Chinalia, F. A. (2021). Large-scale differences in diversity and functional adaptations of prokaryotic communities from conserved and anthropogenically impacted mangrove sediments in a tropical estuary. *PeerJ*, 9, e12229. <https://doi.org/10.7717/peerj.12229>.
- de Santana, C. O., Spealman, P., Oliveira, E., Gresham, D., de Jesus, T., & Chinalia, F. A. (2024). Prokaryote communities along a source-to-estuary river continuum in the Brazilian Atlantic Forest. *PeerJ*, 12, e17900. <https://doi.org/10.7717/peerj.17900>.

- de Souza Queiroz L., Rossi S, Calvet-Mir L, Ruiz-Mallén I, García-Betorz S, Salvà-Prat J, De Andrade Meireles AJ (2017) Neglected ecosystem services: highlighting the socio-cultural perception of mangroves in decision-making processes. *Ecosystem Services* 26: 137–145. <https://doi.org/10.1016/j.ecoser.2017.06.013>.
- dos Santos H.F., Cury J.C., do Carmo F.L., dos Santos A.L., Tiedje J., van Elsas J.D., Rosado A.S., Peixoto R.S. Mangrove bacterial diversity and the impact of oil contamination revealed by pyrosequencing: bacterial proxies for oil pollution. *PLoS One*. (2011) Mar 2;6(3):e16943. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016943>.
- Fernández-Cadena J.C., Ruíz-Fernández P.S., Fernández-Ronquillo T.E., Díez B., Trefault N., Andrade S., De la Iglesia R. Detection of sentinel bacteria in mangrove sediments contaminated with heavy metals. *Mar Pollut Bull*. (2020) Jan;150:110701. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110701>.
- Flemming, H.C., Wuertz, S. Bacteria and archaea on Earth and their abundance in biofilms. *Nature Rev Microbiol* 17, 247–260 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0158-9>.
- Flores-Mireles A.L., Winans S.C., Holguin G. Molecular characterization of diazotrophic and denitrifying bacteria associated with mangrove roots. *Appl Environ Microbiol*. (2007) Nov;73(22):7308-21. <https://doi.org/10.1128/AEM.01892-06>.
- Garcia, K. S., De Oliveira, O. M. C., & De Araújo, B. R. N. (2008). Leaves of biogeochemistry *Avicennia Schaueriana* in the northern Todos os Santos Bay. In A. F. Queiroz & J. J. Celino (Eds.), *Environment evaluation in Todos os Santos Bay* (pp. 213–232). Salvador: PROAMB, UFBA.
- Ghizelini A.M., Mendonça-Hagler L.C., Macrae A. Microbial diversity in Brazilian mangrove sediments - a mini review. *Braz J Microbiol*. (2012) Oct;43(4):1242-54. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000400002>.
- Gomes, N. C. M. *et al.* Assessing variation in bacterial composition between the rhizospheres of two mangrove tree species. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, v. 139, p. 40-45, (2014).
- Guo Q, Li N, Bing Y, Chen S, Zhang Z, Chang S, Chen Y, Xie S. Denitrifier communities impacted by heavy metal contamination in freshwater sediment. *Environ Pollut*. (2018) Nov;242(Pt A):426-432. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.07.020>.
- Hatje, V., Barros F. (2012) Overview of the 20th century impact of trace metal contamination in the estuaries of Todos os Santos Bay: past, present and future scenarios. *Marine Pollution Bulletin* 64(11):2603–2614. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.07.009>.
- Hatje, V., Macedo S.M., Jesus R.M., Cotrim G., Garcia K.S., Queiroz A.F., Ferreira SLC (2010) Inorganic As speciation and bioavailability in estuarine sediments of Todos os Santos Bay, BA, Brazil. *Marine Pollution Bulletin* 60:2225–2232. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.08.014>.

- Hernández-Pérez A., Söderhäll K., Sirikharin R., Jiravanichpaisal P., Söderhäll I. *Vibrio areninigræ* as a pathogenic bacterium in a crustacean. *J Invertebr Pathol.* 2021 Jan; 178:107517. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2020.107517>.
- Hu C., Liu Y., Fang X., Zhou Z., Yu Y., Sun Y., Shui B. Assessing heavy metal pollution in sediments from the northern margin of Chinese mangrove areas: Sources, ecological risks, and health impacts. *Mar Pollut Bull.* (2024) Mar; 200:116069. <http://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2024.116069>.
- Imchen, M., Kumavath, R., Barh, D. *et al.* Comparative mangrove metagenome reveals global prevalence of heavy metals and antibiotic resistome across different ecosystems. *Sci Rep* 8, 11187 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29521-4>.
- Kerstens, K., De Vos, P., Gillis, M., Swings, J., Vandamme, P., Stackebrandt, E. (2006). Introduction to the Proteobacteria. In: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, KH., Stackebrandt, E. (eds) *The Prokaryotes*. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/0-387-30745-1_1.
- Li, P., X. Li, J. Bai, Y. Meng, X. Diao, K. Pan, G. Lin, and G. Lin. (2022). Effect of land use on the heavy metal pollution in mangrove sediments: Study on a whole island scale in Hainan, China. *Sci. Total. Environ.* 824:153856. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153856>.
- Liang Y., Lu Q., Liang Z., Liu X., Fang W., Liang D., Kuang J., Qiu R., He Z., Wang S. Substrate-dependent competition and cooperation relationships between *Geobacter* and *Dehalococcoides* for their organohalide respiration. *ISME Commun.* (2021) Jun 9;1(1):23. <https://doi.org/10.1038/s43705-021-00025-z>.
- Löffler F.E., Yan J., Ritalahti K.M., Adrian L., Edwards E.A., Konstantinidis K.T., Muller J.A., Fullerton H., Zinder S.H., Spormann A.M. (2013). *Dehalococcoides mccartyi* gen. nov., sp. nov., obligately organohalide-respiring anaerobic bacteria relevant to halogen cycling and bioremediation, belong to a novel bacterial class, *Dehalococcoidia classis* nov., order *Dehalococcoidales* ord. nov. and family *Dehalococcoidaceae* fam. nov., within the phylum *Chloroflexi*. *Int J Syst Evol Microbiol* 63:625–635. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.034926-0>.
- Machado L.F., de Assis Leite D.C., da Costa Rachid C.T.C., Paes J.E., Martins E.F., Peixoto RS, Rosado A.S. Tracking mangrove oil bioremediation approaches and bacterial diversity at different depths in an in situ mesocosms system. *Front Microbiol.* (2019);10: 2107. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02107>.
- Mendes R., Garbeva P., Raaijmakers J.M. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiol Rev.* (2013) Sep;37(5):634-63. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12028>.
- Mendes, L. W. & Tsai, S. M. Variations of bacterial community structure and composition in mangrove sediment at different depths in Southeastern Brazil. *Diversity* 6(4), 827–843 (2014). <https://doi.org/10.3390/d6040827>.
- Mendes, L.W., Tsai, S.M. Distinct taxonomic and functional composition of soil microbiomes along the gradient forest-restinga-mangrove in southeastern Brazil. *Antonie van Leeuwenhoek* 111, 101–114 (2018). <https://doi.org/10.1007/s10482-017>.

- Montánchez I., Kaberdin V.R. *Vibrio harveyi*: A brief survey of general characteristics and recent epidemiological traits associated with climate change. *Mar Environ Res.* 2020 Feb;154:104850. <https://10.1016/j.marenvres.2019.104850>.
- Nagashima H., Zulkharnain A.B., Maeda R., Fuse H., Iwata K., Omori T. Cloning and nucleotide sequences of carbazole degradation genes from marine bacterium *Neptuniibacter* sp. strain CAR-SF. *Curr Microbiol.* (2010) Jul;61(1):50-6. <https://10.1007/s00284-009-9575-8>.
- Nikel P.I., Martínez-García E., de Lorenzo V. Biotechnological domestication of pseudomonads using synthetic biology. *Nat Rev Microbiol.* (2014) May;12(5):368-79. <https://10.1038/nrmicro3253>.
- Paes, E.D.S., Gloaguen T.V., Silva H.D.A.D.C., Duarte T.S., de Almeida M.D.C., Costa O.D.V., Bomfim M.R., Santos J.A.G.. Widespread microplastic pollution in mangrove soils of Todos os Santos Bay, northern Brazil. *Environ Res.* (2022) Jul;210:112952. <https://10.1016/j.envres.2022.112952>.
- Peixoto, R., Chaer, G.M., Carmo, F.L. *et al.* Bacterial communities reflect the spatial variation in pollutant levels in Brazilian mangrove sediment. *Antonie van Leeuwenhoek* 99, 341–354 (2011). <https://doi.org/10.1007/s10482-010-9499-0>.
- Pereira C.S., Possas C. de A., Viana C.M., Rodrigues D. dos P. Características de *Vibrio parahaemolyticus* isolados de mexilhões (*Perna perna*) comercializados em Niterói, Rio de Janeiro. Characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from mussels (*Perna perna*) commercialized at Niterói, Rio de Janeiro]. *Rev Soc Bras Med Trop.* (2007). <https://10.1590/s0037-86822007000100011>.
- Pitondo-Silva A., Gonçalves G.B., Stehling E.G. Heavy metal resistance and virulence profile in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Brazilian soils. *APMIS.* 2016 Aug;124(8):681-8. <https://10.1111/apm.12553>.
- Romalde J.L., Dieguez A.L., Lasa A., Balboa S. New *Vibrio* species associated to molluscan microbiota: a review. *Front Microbiol.* (2014) Jan 2;4:413. <https://10.3389/fmicb.2013.00413>.
- Santos, I. A., De Santana, C. O., Cruz, A. F., & Oliveira, E. J. F. (2023). Bacterial diversity in estuarine sediments in Brazilian coastal: A focus in bacterial resistance. *bioRxiv.* <https://doi.org/10.1101/2023.11.21.568096>.
- Santos, L. F. P., Trigueiro, I. N. S., Lemos, V. A., *et al.* (2013). Assessment of cadmium and lead in commercially important seafood from São Francisco do Conde, Bahia, Brazil. *Food Control.* <https://10.1016/j.foodcont.2013.02.024>.
- Sawabe T, Ogura Y, Matsumura Y, Feng G, Amin AR, Mino S, Nakagawa S, Sawabe T, Kumar R, Fukui Y, Satomi M, Matsushima R, Thompson FL, Gomez-Gil B, Christen R, Maruyama F, Kurokawa K, Hayashi T. Updating the *Vibrio* clades defined by multilocus sequence phylogeny: proposal of eight new clades, and the description of *Vibrio tritonius* sp. nov. *Front Microbiol.* 2013 Dec 27;4:414. <https://10.3389/fmicb.2013.00414>.

- Silva E., Viana Z.C., Souza N.F., Korn M.G., Santos V.L. Assessment of essential elements and chemical contaminants in thirteen fish species from the Bay Aratu, Bahia, Brasil. *Braz J Biol.* (2016) Oct-Dec;76(4):871-877. <https://10.1590/1519-6984.02415>.
- Singer E., Webb E.A., Nelson W.C., Heidelberg J.F., Ivanova N., Pati A., Edwards K.J. Genomic potential of *Marinobacter aquaeolei*, a biogeochemical "opportunotroph". *Appl Environ Microbiol.* (2011) Apr;77(8):2763-71. <https://10.1128/AEM.01866-10>.
- Smyth, R. P. *et al.* Reducing chimera formation during PCR amplification to ensure accurate genotyping. *Gene*, v. 469, p. 45–51, (2010).
- Sotão Neto, B.M.T., Combi T., Taniguchi S., Albergaria-Barbosa A.C.R., Ramos R.B., Figueira RCL, Montone RC. Persistent organic pollutants (POPs) and personal care products (PCPs) in the surface sediments of a large tropical bay (Todos os Santos Bay, Brazil). *Marine Pollution Bulletin.* (2020). <https://10.1016/j.marpolbul.2020.111818>.
- Tanaka M., Endo S., Kotake F., Al-Saari N., Amin A.K.M.R., Feng G., Mino S., Doi H., Ogura Y., Hayashi T., Suda W., Hattori M., Yumoto I., Sawabe T., Sawabe T., Araki T. *Vibrio aphrogenes* sp. nov., in the *Rumoiensis* clade isolated from a seaweed. *PLoS One.* 2017 Jun 29;12(6):e0180053. <https://10.1371/journal.pone.0180053>.
- Thatoi, H., Behera, B.C., Mishra, R.R. *et al.* Biodiversity and biotechnological potential of microorganisms from mangrove ecosystems: a review. *Ann Microbiol* 63, 1–19 (2013). <https://doi.org/10.1007/s13213-012-0442-7>.
- Thompson F.L., Iida T., Swings J. Biodiversity of vibrios. *Microbiol Mol Biol Rev.* (2004) Sep;68(3):403-31, table of contents. <https://10.1128/MMBR.68.3.403-431.2004>.
- Wu X., Monchy S., Taghavi S., Zhu W., Ramos J., van der Lelie D. Comparative genomics and functional analysis of niche-specific adaptation in *Pseudomonas putida*. *FEMS Microbiol Rev.* (2011) Mar;35(2):299-323. <https://10.1111/j.1574-6976.2010.00249.x>.
- Xie, Z-Y., H.U., C-Q., Chen, C., Zhang, L. P.; Ren, C. H. Investigation of seven *Vibrio* virulence genes among *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus* strains from the coastal mariculture systems in Guangdong, China. *Lett. Appl. Microbiol*, v. 41, n. 2, p. 202-207, (2005). <https://10.1111/j.1472-765X.2005.01688.x>.
- Zhang X., Sun J., Zhu Y., Han Z., Hu X., Lv A., Guo Y. 2022. First record of isolation and characterization of *Vibrio sinaloensis* from diseased orange-spotted grouper *Epinephelus coioides*. *Dis Aquat Org* 149: 71- 76. <https://10.3354/dao03665>.
- Zhang X.H., He X., Austin B. *Vibrio harveyi*: a serious pathogen of fish and invertebrates in mariculture. *Mar Life Sci Technol.* 2020;2(3):231-245. <https://10.1007/s42995-020-00037-z>.
- Zhang Y., Dong J., Yang Z., Zhang S., Wang Y. Phylogenetic diversity of nitrogen-fixing bacteria in mangrove sediments assessed by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Arch Microbiol.* (2008) Jul;190(1):19-28. <https://10.1007/s00203-008-0359-5>.

Zhang Z., Ahmed M.R., Zhang Q., Li Y., Li Y. Monitoring of 35-Year Mangrove Wetland Change Dynamics and Agents in the Sundarbans Using Temporal Consistency Checking. Remote Sensing. (2023); 15(3):625. <https://doi.org/10.3390/rs15030625>.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo da biodiversidade da Baía de Aratu, utilizando *metabarcoding* de DNA ambiental, é de grande relevância ecológica e socioeconômica, destacando a importância dos manguezais na filtragem de nutrientes, captura de carbono e proteção contra a erosão costeira. Com a crescente industrialização e tráfego marítimo na região, a pesquisa traz dados essenciais sobre as comunidades biológicas locais, permitindo avaliar os impactos humanos sobre a dinâmica ecológica. A técnica de *metabarcoding* mostrou-se eficiente ao identificar espécies nativas e exóticas, ajudando a detectar grupos não indígenas (ou bioinvasores) e a entender as alterações ambientais causadas pelas atividades humanas.

Como o primeiro estudo a explorar de maneira tão profunda as diversas comunidades biológicas presentes em suas águas e sedimentos. A caracterização detalhada da fauna ictiológica, da flora e dos grupos procarióticos contribui para um entendimento holístico da saúde do ecossistema e das pressões a que ele está submetido. Ao combinar a análise de DNA ambiental com metodologias robustas de bioinformática, o trabalho revela a complexidade e a diversidade das espécies presentes, estudo destacando a importância de estratégias de conservação alinhadas às necessidades ecológicas e socioeconômicas da região.

Por fim, o trabalho reforça a importância da ciência aplicada na tomada de decisões que equilibrem a conservação da biodiversidade com o desenvolvimento econômico, promovendo a sustentabilidade a longo prazo da Baía de Aratu. A continuidade dessa pesquisa é indispensável para a preservação dos manguezais e para garantir um desenvolvimento econômico sustentável na região, sempre em harmonia com a conservação da biodiversidade e a proteção dos serviços ecossistêmicos essenciais.