

ANA CAROLINE RIBEIRO DA CRUZ

INTERAÇÕES ENTRE MICRORGANISMOS E
MINERAIS EM ESTEIRAS MICROBIANAS DA LAGOA
VERMELHA (SAQUAREMA, RJ)



**Monografia apresentada ao Instituto de
Microbiologia Paulo de Góes, da
Universidade Federal do Rio de Janeiro,
como pré-requisito para a obtenção do
grau de Bacharel em Ciências
Biológicas: Microbiologia e Imunologia.**

INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
RIO DE JANEIRO
FEVEREIRO / 2024

Trabalho realizado no Departamento de Microbiologia Geral, do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, UFRJ, sob a orientação da Professora Carolina Neumann Keim.

FICHA CATALOGRÁFICA

CIP - Catalogação na Publicação

C957i Cruz, Ana Caroline Ribeiro da
Interações entre microrganismos e minerais em
esteiras microbianas da Lagoa Vermelha (Saquarema,
RJ) / Ana Caroline Ribeiro da Cruz. -- Rio de
Janeiro, 2024.
73 f.

Orientadora: Keim Carolina Neumann.
Trabalho de conclusão de curso (graduação) -
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto
de Microbiologia, Bacharel em Ciências Biológicas:
Microbiologia e Imunologia, 2024.

1. esteiras microbianas. 2. estromatólitos. 3.
cianobactérias. 4. Lagoa Vermelha. 5.
biomineralização. I. Carolina Neumann, Keim, orient.
II. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Miguel Romeu Amorim Neto - CRB-7/6283.

**INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES / UFRJ
COORDENAÇÃO DE ENSINO DE GRADUAÇÃO**

**ATA DA APRESENTAÇÃO DE MONOGRAFIA PARA APROVAÇÃO NO RCS DE
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO, BACHARELADO EM CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS: MICROBIOLOGIA E IMUNOLOGIA**

ALUNO(A): ANA CAROLINE RIBEIRO DA CRUZ DRE: 116018313

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Diogo de Azevedo Jurelevicius (Presidente)
Prof. Jefferson Bomfim Silva Cypriano
Prof. Maria Teresa Menezes de Széchy
Prof. Fernanda de Ávila Abreu (Suplente)

**Título da Monografia: "Interações entre Microrganismos e Minerais em Esteiras
Microbianas da Lagoa Vermelha (Saquarema, RJ)"**

Local: IMPG / CCS / UFRJ

Data e hora de início: 19 de fevereiro de 2024 às 14:00h

Em sessão pública, após exposição de cerca de 50 minutos, o aluno foi argüido pelos membros da Banca Examinadora, demonstrando suficiência de conhecimentos e capacidade de sistematização no tema de sua Monografia, tendo, então, obtido nota 8,0 neste requisito do RCS de **TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**. Na forma regulamentar, foi lavrada a presente ata que é assinada pelos membros da banca examinadora, aluno, orientador (e/ou coorientador) e pelo coordenador do RCS.

Rio de Janeiro, 19 de fevereiro de 2024.

NOTA: Banca Examinadora:

	_____	Prof. Diogo de Azevedo Jurelevicius (Presidente)
<u>8,0</u>	_____	Prof. Jefferson Bomfim Silva Cypriano
<u>8,0</u>	_____	Prof. Maria Teresa Menezes de Széchy
<u>8,0</u>	_____	Prof. Fernanda de Ávila Abreu (Suplente)
Aluno(a):	_____	Ana Caroline Ribeiro da Cruz
Orientador(a) (e coorientador):	_____	Profª. Carolina Neumann Keim
Coordenadora de TCC:	_____	Profª. Marnella Silva Laport

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pela oportunidade de estudar na UFRJ apesar de todas as dificuldades e por ter me mantido firme frente às adversidades que surgiram ao longo desta jornada.

À minha orientadora Carolina Keim, agradeço por todos os ensinamentos e pela paciência em explicar infinitamente a mesma coisa não importa quantas vezes eu tenha dúvidas. E, claro, por ter me apresentado o incrível mundo da microbiologia ambiental.

Agradeço à minha mãe, Silvia, pelo suporte e por não me deixar desistir mesmo nos momentos de mais dificuldade. Nathalia (ou Kami), minha irmã, obrigada por ter sido uma grande amiga, quase psicóloga, e por chegar ao ponto de cursar disciplinas no IMPG para me incentivar e perguntar coisas até que eu realmente aprendesse. Aliás, sou muito grata a ambas por terem me obrigado a fazer a inscrição no Sisu (e, posteriormente, a matrícula) para a Microbiologia mesmo que eu tivesse certeza de que era impossível que eu passasse na UFRJ. Eu não estaria aqui se não fosse a insistência de vocês. Obrigada.

Ao meu pai, Marcelo, que já não está mais neste mundo, obrigada por ter orgulho de onde eu cheguei e ter me incentivado a continuar nesta jornada.

Agradeço também ao Juan, meu melhor amigo e agora marido, que foi um dos meus maiores incentivadores e hoje me atura dando “palestras” em casa toda vez que surge a menor oportunidade de falar sobre microbiologia. Obrigada por abdicar de tantas coisas para que eu pudesse concluir essa graduação. Vamos conquistar muito mais daqui para frente, juntos.

Obrigada, Alice, minha filha, por trazer o ânimo e o amor de que eu precisava para acreditar que eu poderia ir mais longe. Por todas as risadas, por toda a leveza que um breve sorriso traz em momentos de tristeza e desânimo, obrigada. Você é um anjo que Deus colocou na minha vida. Eu te amo!

Aos colegas de laboratório: Pedro, obrigada por todas as conversas no laboratório, conselhos, caronas e tudo o mais, sua amizade foi importantíssima para que eu continuasse firme nessa jornada. Alex, obrigada pela companhia e conselhos. Adrielly, Ana Luiza, Ana Carolina e Izabel, obrigada pelas conversas e pela companhia, principalmente nos eventos científicos. Queria ter passado mais tempo com vocês!

Agradeço ao professor Marcos Farina, por ceder o espaço em seu laboratório para realização de parte deste trabalho.

Por fim, deixo um agradecimento especial a todos os professores do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes pelo conhecimento transmitido em cada aula, que acendeu em mim uma verdadeira paixão pela microbiologia. Obrigada por terem me apresentado este fascinante universo!

“Um cientista em seu laboratório não é um mero técnico: ele também é uma criança que enfrenta fenômenos naturais que o impressionam como se fossem contos de fadas.”

Marie Curie

RESUMO

ANA CAROLINE RIBEIRO DA CRUZ

INTERAÇÕES ENTRE MICRORGANISMOS E MINERAIS EM ESTEIRAS MICROBIANAS DA LAGOA VERMELHA (SAQUAREMA, RJ)

Orientadora: Carolina Neumann Keim

Resumo da Monografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso.

As esteiras microbianas são ecossistemas laminados complexos que se formam na superfície de sedimentos iluminados, atualmente encontradas apenas em ambientes extremos. São constituídas por microrganismos organizados em camadas de acordo com sua fisiologia. Possuem um registro fóssil de mais de 3 bilhões de anos, sendo provavelmente o tipo de ecossistema mais antigo a existir. As esteiras microbianas podem ser preservadas na forma de estruturas sedimentares como estromatólitos e outros microbialitos. Atualmente, poucos locais no planeta possuem condições adequadas ao desenvolvimento destas comunidades. A Lagoa Vermelha (Saquarema e Araruama, RJ) é um destes ambientes onde ocorrem esteiras microbianas vivas e estromatólitos subfósseis. Há muitas controvérsias sobre como as esteiras microbianas dão origem aos estromatólitos, e sobre quais informações os estromatólitos fósseis podem fornecer sobre as condições em que foram formados. O estudo de esteiras microbianas modernas, as quais são consideradas análogas daquelas existentes no período Pré-Cambriano, pode ajudar a identificar os processos relacionados a formação dos estromatólitos e sobre que tipo de estruturas e assinaturas químicas e estruturais são preservadas, e quais não são. Isso torna as esteiras microbianas da Lagoa Vermelha interessantes para ajudar a compreender os processos envolvidos na organo-mineralização que leva à formação dos estromatólitos, e como eram os primeiros ecossistemas aquáticos deste planeta. Este estudo tem como objetivo observar a diversidade de microrganismos e minerais presentes nas esteiras e nos sedimentos abaixo delas, buscando evidências da influência microbiana na precipitação mineral e da preservação de estruturas microbianas nos minerais. Para isto, foram coletadas amostras de esteiras microbianas e sedimentos em um mesmo ponto da Lagoa Vermelha em 2016 e em 2020, os quais foram observados em microscopia ótica e microscopia eletrônica de varredura (MEV), e analisados por microanálise de raios-X (EDS). Foi encontrada uma grande diversidade de cianobactérias, bactérias púrpuras e microalgas, além de minerais autigênicos, tanto em lupa quanto em microscopia ótica e MEV. Em microscopia ótica de contraste interferencial de Nomarski, foram observadas partículas de minerais birrefringentes impregnando a substância

polimérica extracelular (EPS) ao redor de microcolônias de cianobactérias, mas não no interior das microcolônias. Em MEV, foram observados grãos botrioidais compostos de microcristais apresentando cristalização trigonal. A análise da composição elementar por EDS mostrou três minerais distintos na fração mineral das esteiras microbianas, tendo sido identificadas como calcita magnesiana ($\text{Ca}_{x-1}\text{Mg}_x\text{CO}_3$, $0,10 < x < 0,25$), proto-dolomita ($\text{Ca}_{x-1}\text{Mg}_x\text{CO}_3$, $0,25 < x < 0,45$), e silicato de magnésio. O silicato de magnésio frequentemente aparece ao redor dos grãos de calcita magnesiana e proto-dolomita, o que corrobora achados de outros locais, onde os carbonatos de cálcio e magnésio substituem gradualmente os silicatos de magnésio. Frequentemente, grãos de carbonatos de cálcio e magnésio autigênicos que não estão cobertos por silicatos de magnésio e também conchas apresentaram microp perfurações, provavelmente feitas por cianobactérias perfurantes. Nossos resultados mostram que a precipitação de minerais ainda ocorre nas esteiras microbianas da Lagoa Vermelha, que a interação entre microrganismos e minerais envolve precipitação e dissolução, e que a mineralização se dá por etapas, nas quais o silicato de magnésio é gradualmente substituído por carbonatos de cálcio e magnésio.

Palavras-chave: esteiras microbianas, estromatólitos, cianobactérias, biomineralização, organo-mineralização, Lagoa Vermelha

ABSTRACT

ANA CAROLINE RIBEIRO DA CRUZ

INTERACTIONS BETWEEN MICROORGANISMS AND MINERALS IN MICROBIAL MATS FROM LAGOA VERMELHA (SAQUAREMA, RJ)

Orientadora: Carolina Neumann Keim

Abstract da Monografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso.

Microbial mats are complex laminated ecosystems that form on the surface of illuminated sediments, currently found only in extreme environments. They are composed of microorganisms organized in layers according to their physiology. They have a fossil record of over 3 billion years, likely making them the oldest type of ecosystem to exist. Microbial mats can be preserved in the form of sedimentary structures such as stromatolites and other microbialites. Currently, few locations on the planet have suitable conditions for the development of these communities. Lagoa Vermelha (Saquarema and Araruama, RJ) is one of these environments where live microbial mats and subfossil stromatolites occur. There is much controversy about how microbial mats give rise to stromatolites, and what information fossil stromatolites can provide about the conditions in which they were formed. The study of modern microbial mats, which are considered analogous to those existing in the Precambrian period, can help identify the processes related to stromatolite formation and what type of structural and chemical signatures are preserved, and which are not. This makes the microbial mats of Lagoa Vermelha interesting for understanding the processes involved in organo-mineralization leading to stromatolite formation, and what the first aquatic ecosystems on this planet were like. This study aims to observe the diversity of microorganisms and minerals present in the mats and the sediments beneath them, seeking evidence of microbial influence on mineral precipitation and the preservation of microbial structures in minerals. For this, samples of microbial mats and sediments were collected at the same point in Lagoa Vermelha in 2016 and 2020, which were observed under optical microscopy and scanning electron microscopy (SEM) and analyzed by energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS). A wide diversity of cyanobacteria, purple bacteria, and microalgae, as well as authigenic minerals, were found, both under magnifying glass, optical microscopy, and SEM. Under Nomarski interference contrast microscopy, birefringent mineral particles were observed impregnating the extracellular polymeric substance (EPS) around cyanobacterial microcolonies, but not inside the microcolonies. Under SEM, botryoidal grains composed of microcrystals with trigonal crystallization were observed.

Elemental composition analysis by EDS showed three distinct minerals in the mineral fraction of the microbial mats, identified as magnesian calcite ($\text{Ca}_{x-1}\text{Mg}_x\text{CO}_3$, $0,10 < x < 0,25$), proto-dolomite ($\text{Ca}_{x-1}\text{Mg}_x\text{CO}_3$, $0,25 < x < 0,45$), and magnesium silicate. Magnesium silicate frequently appears around grains of magnesian calcite and proto-dolomite, corroborating findings from other locations where calcium and magnesium carbonates gradually replace magnesium silicates. Often, uncoated autigenic calcium and magnesium carbonate grains and shells presented microperforations, likely made by perforating cyanobacteria. Our results show that mineral precipitation still occurs in the microbial mats of Lagoa Vermelha, that the interaction between microorganisms and minerals involves precipitation and dissolution, and that mineralization occurs in stages, with magnesium silicate gradually being replaced by calcium and magnesium carbonates.

Keywords: microbial mats, stromatolites, cyanobacteria, biomineralization, organomineralization, Lagoa Vermelha.

RESUMO PARA LEIGOS

ANA CAROLINE RIBEIRO DA CRUZ

INTERAÇÕES ENTRE MICRORGANISMOS E MINERAIS EM ESTEIRAS MICROBIANAS DA LAGOA VERMELHA (SAQUAREMA, RJ)

Orientadora: Carolina Neumann Keim



Esquema ilustrado da formação dos estromatólitos e detalhes de estromatólitos atuais. (A-B) Formação dos estromatólitos em Shark Bay, Austrália, e (C) Laguna Figueroa, México. Imagem: Ciência Hoje, nº 222 (2005).

Os estromatólitos são as evidências mais antigas da vida na Terra, com alguns exemplares ultrapassando os 3 bilhões de anos. Muito antes de toda a fauna que conhecemos através de fósseis existir, a vida na Terra consistia em microrganismos. Em locais onde as águas eram límpidas e a luz do sol era capaz de atingir os sedimentos, estes poderiam se fixar ao substrato e formar esteiras microbianas, ecossistemas formados por micróbios que se organizam em camadas, e cujo processo de fossilização dá origem aos estromatólitos. Embora sejam estruturas fascinantes e tragam inúmeros esclarecimentos acerca dos primórdios da vida no nosso planeta, há muitas controvérsias sobre como as esteiras microbianas dariam origem aos estromatólitos, e sobre quais informações os estromatólitos fósseis podem fornecer sobre um passado longínquo. Para ajudar a entendê-los melhor, uma saída é estudar esteiras microbianas atuais, que podem ser encontradas em alguns ambientes extremos. A Lagoa Vermelha, uma lagoa rasa e hipersalina localizada na Região dos Lagos do Rio de Janeiro, é um destes ambientes. Nela podem ser encontradas esteiras

microbianas vivas e estromatólitos calcáreos. Os principais componentes vivos das esteiras são as cianobactérias, bactérias capazes de realizar fotossíntese assim como as plantas. Estes organismos têm como característica liberar grandes quantidades de uma substância pegajosa capaz de proteger as células de dessecação e radiação e manter a comunidade microbiana unida e aderida ao fundo da lagoa. O metabolismo dessas cianobactérias é também capaz de desencadear a precipitação de carbonato de cálcio (calcário) no sistema, o qual permanece entre as camadas da esteira (junto a grãos do sedimento e outros minerais originados fora da esteira) quando a comunidade microbiana sobe em busca de luminosidade formando outra camada. Esta pesquisa teve como objetivo observar a diversidade de microrganismos e de minerais presentes nas esteiras microbianas e sedimentos da Lagoa Vermelha, buscando evidências da influência microbiana na precipitação dos minerais. Para isto, coletamos amostras de esteiras microbianas e sedimentos e observamos utilizando diversos tipos de microscópios. Foi possível observar a organização em camadas da esteira fresca ainda no local de coleta. No microscópio ótico, encontramos uma grande diversidade de cianobactérias e alguns outros microrganismos como bactérias púrpuras (bactérias de coloração roxa ou avermelhada que fazem um tipo especial de fotossíntese) e microalgas eucariontes (algas unicelulares), bem como grãos de minerais autigênicos (originados dentro da esteira). Em microscópio eletrônico de varredura, foram identificados pelo menos três tipos de minerais autigênicos distintos, identificados como calcita magnésiana, proto-dolomita (dois tipos de calcário que diferem pela proporção de magnésio e cálcio), e silicato de magnésio (outro tipo de mineral, contendo principalmente magnésio, silício e oxigênio). Observamos também perfurações em grãos de minerais autigênicos e conchas, aparentemente feitos por cianobactérias perfurantes. Isso nos mostra que a precipitação de minerais ainda ocorre nas esteiras microbianas da Lagoa Vermelha, e que a dinâmica de interação entre os microrganismos e os minerais neste ambiente é complexa, envolvendo tanto a precipitação como a dissolução de minerais. Nossos resultados mostram também que a precipitação dos minerais autigênicos se dá por etapas, sendo o silicato de magnésio precipitado inicialmente, que depois é gradualmente substituído pelos carbonatos de cálcio e magnésio.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Fotografias de estromatólitos da porção leste da Lagoa Vermelha.
- Figura 2 – Representação gráfica dos processos de precipitação de minerais nas esteiras microbianas.
- Figura 3 – Organização das esteiras microbianas.
- Figura 4 – Esquema ilustrado dos processos de mineralização com influência do EPS microbiano.
- Figura 5 – A localização da Lagoa Vermelha nas áreas de proteção ambiental.
- Figura 6 – Imagens da Lagoa Vermelha e da vegetação do entorno
- Figura 7 – Esteiras microbianas da Lagoa Vermelha.
- Figura 8 – Principais grupos de bactérias encontrados na Lagoa Vermelha.
- Figura 9 – Imagem de satélite da Lagoa Vermelha mostrando o ponto de coleta.
- Figura 10 – Esteiras microbianas da Lagoa Vermelha coletadas para este trabalho.
- Figura 11 – Fluxograma mostrando os diferentes processos aos quais as amostras da esteira fresca (2021) foram submetidas para este estudo.
- Figura 12 – Imagem de esteira microbiana fresca ampliada em microscópio estereoscópico.
- Figura 13 – Microcolônias de cianobactérias coexistem com bactérias púrpuras.
- Figura 14 – Cianobactérias mais comuns nas esteiras microbianas da Lagoa Vermelha.
- Figura 15 – Microalgas encontradas nas camadas superficiais da esteira.
- Figura 16 – Bactérias púrpuras sulfurosas da família *Chromatiaceae* encontradas na esteira.
- Figura 17 – Cianobactérias e bactérias púrpuras coexistindo em um mesmo campo.
- Figura 18 – Microscopia ótica de um campo dominado por microcolônias de cianobactérias (*Aphanothece* sp.) em meio a minerais autigênicos birrefringentes.
- Figura 19 – Imagens de amostras polidas de esteiras microbianas mostrando dois campos distintos, cada um deles em campo claro e fluorescência.
- Figura 20 – Microrganismos visualizados em microscópio eletrônico de varredura (MEV) utilizando elétrons secundários.
- Figura 21 – Morfologia de minerais autigênicos das esteiras microbianas, conforme observação por MEV utilizando elétrons secundários.
- Figura 22 – MEV da fração mineral da esteira úmida, polida, utilizando elétrons retro-espalhados.

Figura 23 – MEV da fração mineral do substrato da esteira úmida utilizando elétrons retro-espalhados.

Figura 24 – MEV do substrato da esteira úmida utilizando elétrons retro-espalhados.

Figura 25 – MEV-EDS de um grão da esteira seca.

Figura 26 – MEV-EDS de grãos de minerais da esteira seca.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CBP – carbono biopolimérico

CID – carbono inorgânico dissolvido

COT – carbono orgânico total

CPRM – Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais (Serviço Geológico do Brasil)

EDS – espectroscopia de dispersão de energia de raios-X

EPS – substância polimérica extracelular

INEA – Instituto Estadual do Ambiente

MEV – microscopia eletrônica de varredura

MISS – estruturas sedimentares microbiologicamente induzidas (do inglês *microbially-induced sedimentary structures*)

Nano-SIMS - nanoscale secondary ion mass spectroscopy (espectroscopia de massa de íons secundários em nano-escala)

PIPES – ácido 1,4-piperazinadietanossulfônico

SI – Índice de saturação (do inglês *saturation index*)

ÍNDICE

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
RESUMO PARA LEIGOS	xi
LISTA DE FIGURAS	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xiv
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Estromatólitos.....	1
1.2 Esteiras microbianas.....	2
1.3 Precipitação de minerais em esteiras microbianas	5
1.4 Outros minerais precipitados.....	7
1.5 Precipitação de minerais em esteiras microbianas e a formação de estromatólitos	8
2 LOCAL DE ESTUDO: LAGOA VERMELHA	9
2.1 Aspectos físico-químicos da Lagoa Vermelha.....	12
2.2 Características das esteiras microbianas da Lagoa Vermelha	13
2.3 Lipídeos nas esteiras microbianas e sedimentos da Lagoa Vermelha	19
2.4 Minerais encontrados na Lagoa Vermelha	20
3 JUSTIFICATIVA	20
4 OBJETIVO	21
4.1 Objetivos específicos.....	22
5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
5.1 Coleta das amostras	22
5.2 Observação em microscópio estereoscópico	23
5.3 Preparação a fresco para microscopia ótica.....	23
5.3.1 Preparação de amostras polidas para microscopia ótica.....	23
5.4 Observação de amostras em microscopia ótica	24
5.5 Microscopia eletrônica de varredura	24
6 RESULTADOS	26
6.1 Observações em microscópio estereoscópico	26
6.2. Microscopia ótica	28
6.2.1. Minerais em associação a cianobactérias	33
6.2.2. Lâminas polidas	35
6.3. Microscopia eletrônica de Varredura	35
6.3.1. Morfologia da fração mineral da esteira úmida	39
6.3.2. Morfologia da fração mineral do substrato da esteira úmida	40
6.3.3. Morfologia e análise elementar da fração mineral da esteira seca	40
7 DISCUSSÃO	45
7.1 Diversidade de microrganismos	45
7.2. Os minerais das esteiras microbianas	47
7.3. Comparação com outras lagoas	49
8 CONCLUSÃO	49
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

1. INTRODUÇÃO

Esteiras microbianas foram, provavelmente, os ecossistemas mais antigos a surgir na Terra (Gemerden, 1993; Awramik, 2006; Walsh, 2010), sendo preservadas no registro geológico dos últimos 3,43 bilhões de anos (Allwood *et al.*, 2006) em estruturas geradas por interações biogeoquímicas envolvendo microrganismos e minerais (MISS - *microbially-induced sedimentary structures*), que incluem microbialitos como estromatólitos e trombólitos, dentre outras fácies sedimentares (Gemerden, 1993; Noffke *et al.*, 2003; Allwood *et al.*, 2006; Walsh, 2010).

1.1. Estromatólitos

Estromatólitos são “estruturas organo-sedimentares litificadas formadas pela captura e cimentação de sedimentos e/ou atividade de precipitação de carbonatos por microrganismos” (Dupraz e Visscher, 2005). Diferenciam-se de outros microbialitos (rochas de origem microbiana) devido a sua estrutura interna formada por lâminas constituídas principalmente por carbonatos de cálcio e/ou magnésio (Riding, 2011). Os estromatólitos têm um registro fóssil extremamente longo, ocorrendo em quase todas as eras geológicas, com alguns exemplares apresentando idades superiores a 3,4 bilhões de anos (Awramik, 1991; Allwood *et al.*, 2006). A figura 1 mostra estromatólitos da Lagoa Vermelha.

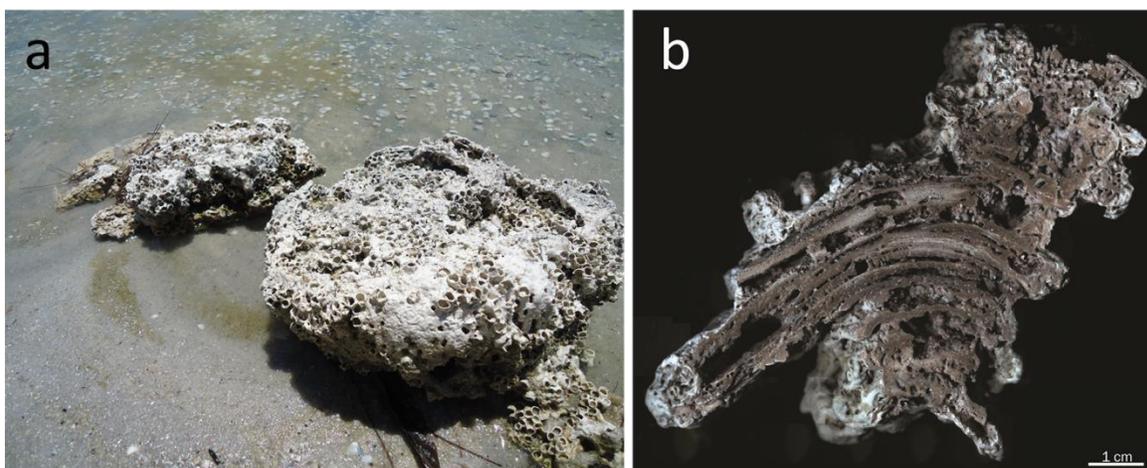


Figura 1 – Fotografias de estromatólitos da porção leste da Lagoa Vermelha. (a) Estromatólitos realocados para a borda da lagoa. (b) corte de estromatólito da Lagoa Vermelha, onde é possível observar as laminações características. (Imagens de Keim *et al.*, 2020 em “a” e Keim e Farina, 2023 em “b”).

Embora a relação entre a estrutura interna dos estromatólitos e atividades microbianas esteja atualmente bem estabelecida (ex. Awramik, 2006; Vasconcelos *et al.*, 2006; Pace *et al.*, 2018; Keim *et al.*, 2020), a escassez de microfósseis no interior dos estromatólitos já fez com que houvessem questionamentos sobre a classificação destas rochas como fósseis, devido à possibilidade de que as laminações ocorressem através de deposição abiótica, sem influência de fatores biológicos (Awramik, 2006; Walsh, 2010). Várias possibilidades para a formação abiótica destas estruturas foram propostas, e é provável que ocorram tanto estromatólitos (de origem biogênica) quanto rochas laminadas com bastante semelhança na aparência macroscópica, porém de origem puramente abiótica (Grotzinger e Rothman, 1996; Allwood *et al.*, 2006; Balci *et al.*, 2020; Porras-Toribio *et al.*, 2022).

Na literatura, é consenso que a formação dos estromatólitos está relacionada a três processos-chave nas esteiras microbianas, mostrados na figura 2: (1) captura de partículas de sedimento, que se ligam ao EPS (substância polimérica extracelular); (2) organomineralização associada a matéria orgânica; e (3) deposição de minerais nas superfícies de organismos e partículas de sedimentos, com consequente cimentação (Riding, 1991). A literatura também afirma que há uma forte relação entre a formação das lâminas estromatolíticas e processos metabólicos como fotossíntese, respiração anaeróbica e degradação de EPS (Vasconcelos *et al.*, 2006; Pace *et al.*, 2018).

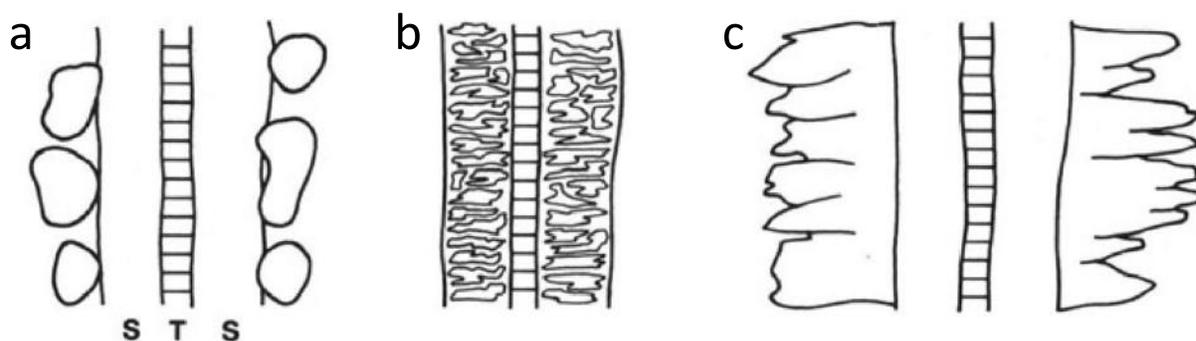


Figura 2 – Representação gráfica dos processos de precipitação de minerais nas esteiras microbianas. Em (a), partículas de sedimento trazidas pela água ou vento são capturadas na superfície do EPS; em (b), a organomineralização ocorre associada ao EPS no interior da bainha, por ação do metabolismo microbiano e da capacidade de ligação do EPS aos ions Ca_2^+ ; e em (c) vemos a deposição de minerais nas superfícies dos microrganismos e partículas de sedimentos, que com o tempo são consolidados. Imagem de Riding (1991).

1.2. Esteiras microbianas

As esteiras microbianas podem ser definidas como ecossistemas microbianos laminados e compactos que crescem na superfície de sedimentos iluminados de ambientes aquáticos, sendo mais comumente encontrados, na atualidade, em ambientes extremos (figura 3). Dentro desses ecossistemas, os microrganismos se organizam de acordo com sua fisiologia, com os fototróficos oxigênicos, como cianobactérias e microalgas, ocupando as camadas superiores da esteira, seguidos por bactérias púrpuras sulfurosas, que realizam fotossíntese anoxigênica utilizando sulfeto (H_2S) em vez de H_2O como fonte de elétrons para a fixação de CO_2 . Heterotróficos aeróbios degradam produtos orgânicos oriundos de outros microrganismos enquanto consomem O_2 , tornando as camadas inferiores anóxicas. Além de um gradiente de luz, há gradientes de O_2 , H_2S e outras substâncias, o que aumenta a segregação das camadas de microrganismos, que incluem também bactérias verdes sulfurosas, bactérias sulfurosas incolores, fermentadores e bactérias redutoras de sulfato, além de outros grupos de heterotróficos anaeróbios e quimiolitotróficos (Stolz, 1990; Gemerden, 1993). Há também, por vezes, camadas de minerais, as quais podem ser formadas por captura de grãos do sedimento trazidos pela água ou vento e/ou pela precipitação de minerais autigênicos (precipitados no interior da esteira por ação do metabolismo microbiano) na esteira microbiana. A precipitação de minerais autigênicos pode ser extensa a ponto de formar lâminas consolidadas de minerais, dando origem aos estromatólitos, os quais são considerados formas fósseis das esteiras microbianas por preservar sua estrutura laminada (Dupraz & Visscher, 2005; Vasconcelos *et al.*, 2006). Processos físicos, químicos e biológicos como dessecação, pH levemente alcalino e/ou degradação de EPS (substância polimérica extracelular), dentre outros, podem contribuir para a litificação (Dupraz & Visscher, 2005).

As esteiras microbianas são constituídas por uma vasta gama de microrganismos, podendo variar de biofilmes pouco diversos até ecossistemas complexos contendo uma grande diversidade de espécies de microrganismos em camadas estratificadas (Prieto-Barajas *et al.*, 2018). As esteiras microbianas crescem mais frequentemente na interface sedimento-água e interagem com os sedimentos incorporando partículas e adicionando matéria orgânica, além de frequentemente induzir a precipitação de partículas minerais e a litificação (Dupraz e Visscher, 2005; Franks e Stolz, 2009).

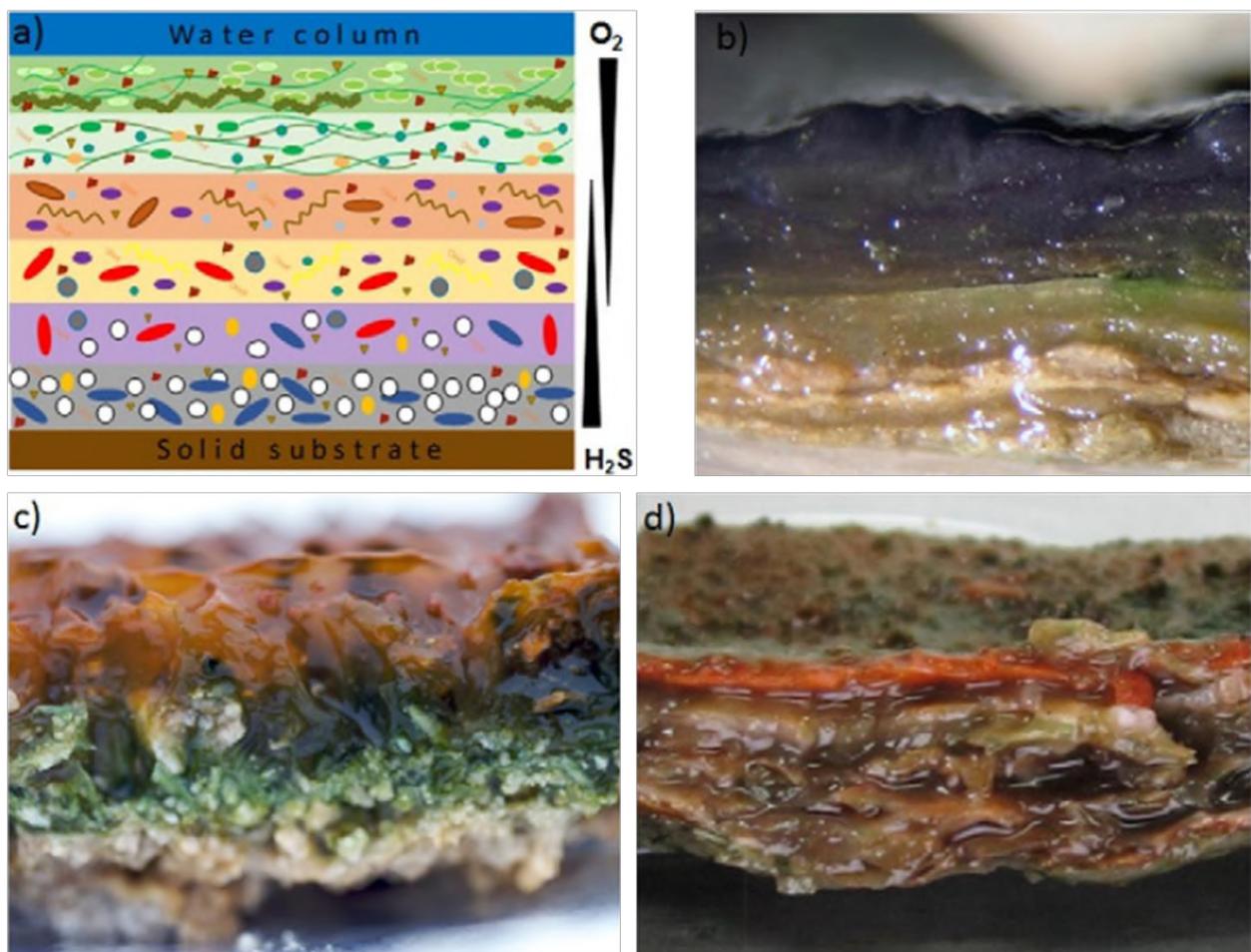


Figura 3 – Organização das esteiras microbianas. (a) Ilustração representando a organização dos microrganismos nas camadas da esteira. As diferentes formas representam grupos variados de microrganismos, mostrando a distribuição heterogênea destes entre as camadas da esteira. (b-d) Imagens de esteiras microbianas de diferente composição, organização e diversidade. O aspecto gelatinoso é resultado da grande quantidade de EPS secretada no interior destas estruturas. Imagens de Prieto-Barajas *et al.*, (2018).

Por prosperar em habitats diversos, incluindo ambientes extremos de pH (tanto ácido como básico), temperatura e salinidade, e também devido à diversidade metabólica e adaptabilidade característica dos domínios *Bacteria* e *Archaea*, as esteiras microbianas modernas são consideradas ótimos modelos para o estudo da ecologia microbiana, evolução da vida terrestre e astrobiologia, por serem prováveis análogos dos ecossistemas predominantes do éon Arqueano (Vasconcelos *et al.*, 2006). A constituição e abundância de espécies nas esteiras microbianas tem relação direta com fatores físicos como luminosidade, temperatura e pressão, e químicos como pH, concentração de O_2 , potencial redox, disponibilidade de aceptores e doadores de elétrons e a presença ou ausência de algumas espécies químicas. A prevalência de organismos fototróficos

depende tanto da quantidade quanto da qualidade da luz que chega ao sedimento, que pode sofrer influência dos materiais particulados e microrganismos planctônicos suspensos na coluna d'água. Boa parte dos fototróficos possui algum nível de adaptação à baixa luminosidade, como produção de pigmentos (clorofilas, bacterioclorofilas, carotenóides e ficobiliproteínas) sensíveis a diferentes comprimentos de onda de luz. Isso que permite que uma vasta gama de organismos fototróficos possa coexistir em associação (Franks e Stolz, 2009).

Processos como a fotossíntese oxigênica, respiração aeróbica, produção de sulfetos e a difusão de O₂ determinam a profundidade da zona de transição óxica/anóxica (Dupraz e Visscher, 2005). A produção de oxigênio comumente atinge seu pico no meio do dia, e à noite a respiração leva à depleção do oxigênio e consequente elevação da zona de transição em relação à superfície do sedimento. O pH impacta a diversidade e composição da biota ao mesmo tempo em que é afetado diretamente pelo metabolismo dos microrganismos presentes, sendo elevado pela ação da fotossíntese oxigênica e reduzido pela fermentação. A ciclagem de nutrientes nas esteiras é intensa, com vários ciclos de produção e consumo de metabólitos antes que os átomos deixem a esteira (Franks e Stolz, 2009).

1.3. Precipitação de minerais em esteiras microbianas

A maioria dos processos de precipitação de minerais em esteiras microbianas pode ser considerada “organomineralização”, pois ocorre externamente aos microrganismos e depende tanto de fatores bióticos (macromoléculas e/ou produtos do metabolismo microbiano) quanto abióticos (concentrações de íons em solução, pH, temperatura, pressão etc.) para ocorrer. A organomineralização em geral está associada a superfícies internas ou externas de uma matriz orgânica. Os organominerais (produtos da organomineralização) em geral apresentam propriedades químicas e/ou estruturais que comprovam sua origem microbiana ou orgânica, como microfósseis de células microbianas, incorporação de macromoléculas, ou até preservar a organização estrutural original (Visscher *et al.*, 2010; Défarge, 2011; Pace *et al.*, 2018; Keim *et al.*, 2020).

Têm sido propostos vários modelos de litificação em esteiras microbianas, que variam de mecanismos puramente biológicos até os puramente químicos. Dentre os fatores biológicos, as

atividades de cianobactérias, assim como heterotróficos aeróbicos e bactérias redutoras de sulfato (BRS), têm sido associadas à precipitação de CaCO_3 dentro das esteiras microbianas (Dupraz e Visscher, 2005). A fotossíntese é considerada uma força-motriz da calcificação, causando uma depleção do $\text{CO}_2(\text{aq})$ e aumento de íons carbonato (CO_3^{2-}), acompanhado de aumento do pH. Este processo também é dependente da taxa de difusão dos elementos envolvidos na calcificação (Pentecost, 1991).

Portanto, a fotossíntese das cianobactérias leva à liberação de O_2 , fixação de carbono e produção de grandes quantidades de EPS. Esse EPS forma a matriz das esteiras microbianas, protegendo-a dos danos da radiação UV, dessecação e predação, e fornecendo uma estrutura tridimensional que cria um microambiente com condições físico-químicas ideais para diversos microrganismos e consórcios microbianos, aumentando a diversidade da comunidade microbiana das esteiras (Visscher *et al.*, 2010). A maior parte das esteiras microbianas onde a calcificação ocorre está situada em ambientes alcalinos, com pH entre 7,8 e 9,5. Nestas condições, a disponibilidade de carbono inorgânico dissolvido na forma de CO_2 é baixa, o que faz com que a fonte de carbono utilizada por algas e cianobactérias sejam os íons bicarbonato (HCO_3^-). Para isto, as células utilizam mecanismos como transporte ativo e passivo de HCO_3^- (dependente da carga) e conversão de HCO_3^- em $\text{CO}_2 + \text{OH}^-$ por ação da enzima anidrase carbônica, o que pode levar a aumento de pH no microambiente ao redor (Pentecost, 1991; Zavarzin, 2002).

A precipitação de CaCO_3 também depende de fatores geoquímicos (índice de saturação, SI) e bioquímicos (produção de EPS). O índice de saturação depende fundamentalmente das concentrações de reagentes (CO_3^{2-} , Ca^{2+}) e do pH. A matriz de EPS se comporta como uma extensão da célula, atuando como quelante para cátions e fornecendo estrutura para a nucleação de minerais. Algumas moléculas de EPS possuem grupos hidroxila/carboxila/sulfato que capturam cátions como Mg^{2+} , o que pode inibir ou estimular a precipitação de CaCO_3 , dependendo de fatores como a organização destes grupamentos nas moléculas e o SI (Dupraz e Visscher, 2005). A figura 4 ilustra três modificações do EPS que podem levar a precipitação de CaCO_3 : (a) a decomposição do EPS por microrganismos libera HCO_3^- e Ca^{2+} , aumentando o SI; (b) a reorganização dos sítios de ligação de Ca^{2+} e Mg^{2+} , que pode levar a nucleação de minerais (organomineralização); e (c) regulação do balanço externo de cátions pela capacidade de ligação de cátions do EPS, modificando o SI (Dupraz e Visscher, 2005; Visscher *et al.*, 2010). As

características do mineral formado são controladas principalmente pela quantidade e qualidade do EPS presente (Dupraz e Visscher, 2005).

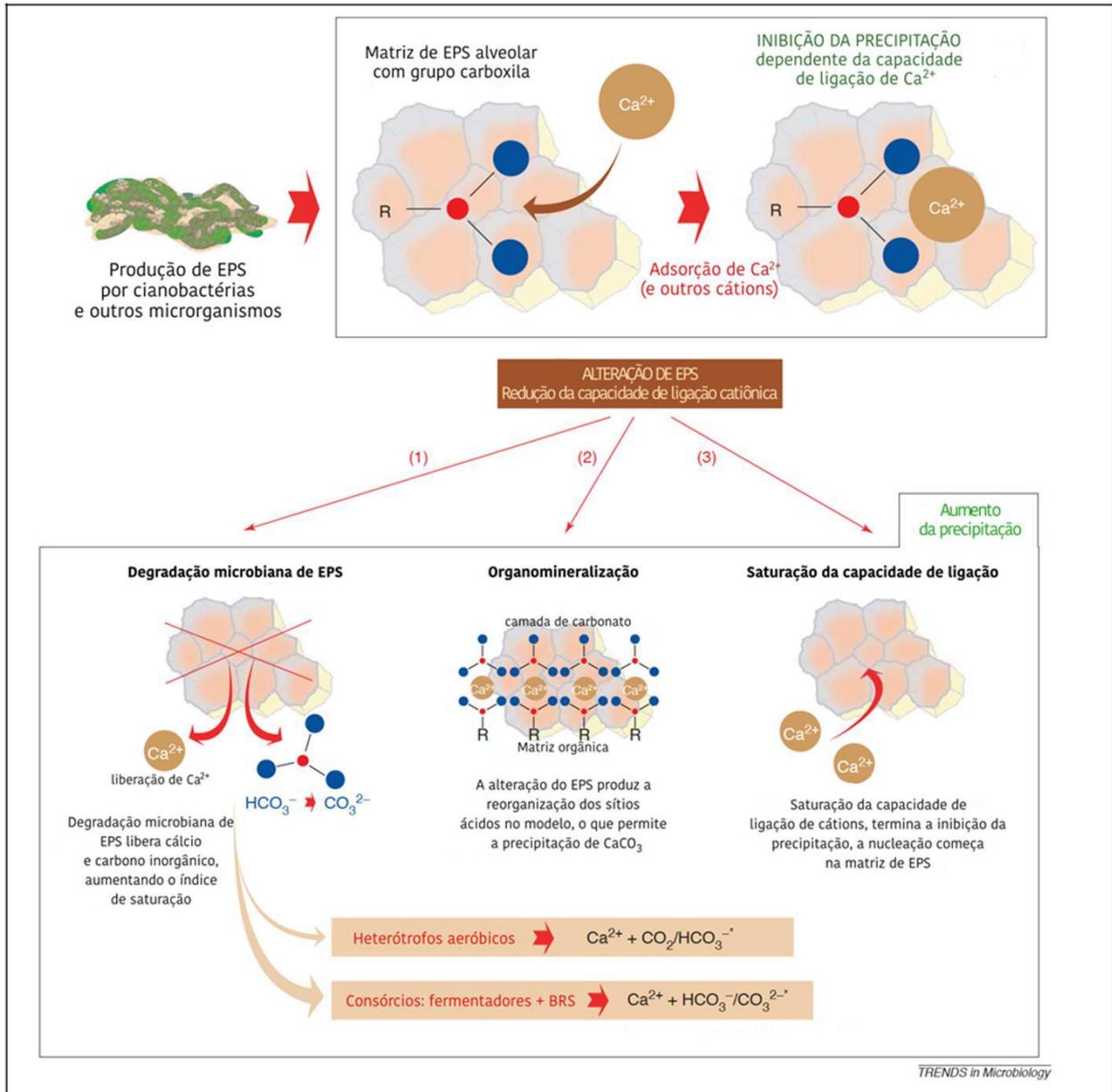


Figura 4 – Esquema ilustrado dos processos de mineralização com influência do EPS microbiano. O EPS produzido por microrganismos liga-se a cátions como Ca^{2+} até levar à inibição da precipitação. Modificações no EPS podem posteriormente levar à precipitação de carbonatos de cálcio no interior do sistema. Imagem traduzida e adaptada do original de Dupraz e Visscher, 2005.

1.4. Outros minerais precipitados

Como visto anteriormente, os minerais mais abundantemente formados nas esteiras microbianas como resultado do metabolismo autotrófico são os carbonatos, especialmente CaCO_3 . Dependendo da proporção entre Ca:Mg no ambiente, pode haver precipitação de aragonita (CaCO_3) ou de calcita magnésiana ($\text{Ca}_{x-1}\text{Mg}_x\text{CO}_3$, $0 \leq x \leq 0,5$), na qual o Mg^{2+} substitui o Ca^{2+} mantendo a estrutura cristalina (Dean, 1999; Al Disi *et al.*, 2021; Molnár *et al.*, 2023). Além disso, é relativamente comum haver precipitação de fases amorfas e cristalinas de silicatos de Mg, como sepiolita ($\text{Mg}_4(\text{Si}_6\text{O}_{15})(\text{OH})_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), stevensita ($\text{Mg}_3(\text{Si}_4\text{O}_{10})(\text{OH})_2$) e paligorsquita ($\text{Mg}_2\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH}) \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (Burne *et al.*, 2014; Del Buey *et al.*, 2021). Estes silicatos de Mg em geral são precipitados em associação com o EPS de cianobactérias vivas ou em decomposição (Wacey *et al.*, 2018), tendo sido reportada sua precipitação em diversas lagunas hipersalinas ao redor do globo, como é o caso de lagunas em Cayo Coco, Cuba (Pace *et al.*, 2018), Lake Thetis, Austrália (Wacey *et al.*, 2018) e El Longar, Espanha (Del Buey *et al.*, 2021). Durante a diagênese, os silicatos de Mg são frequentemente substituídos por aragonita, calcita magnésiana e/ou protodolomita (Burne *et al.*, 2014; Keim *et al.*, 2020).

1.5 Precipitação de minerais em esteiras microbianas e a formação de estromatólitos

A precipitação de carbonatos de Ca e Mg e/ou silicatos de Mg e a presença de microbialitos compostos majoritariamente de carbonatos de cálcio são comuns em lagoas onde há esteiras microbianas, alguns destes mantendo particularidades inerentes ao local de formação. Na Argentina, a Laguna Negra é um ambiente hipersalino onde há dois mecanismos diferentes de mineralização. A matriz de EPS é permeada por calcita, principalmente em forma de micrita, e nas regiões onde o EPS é ausente e a produção primária oriunda de diatomáceas é maior, há precipitação de aragonita (Gomez *et al.*, 2018). Na Austrália, os lagos Clifton e Thetis mostram uma forte interação entre os silicatos de Mg e os carbonatos. No Lago Clifton, hipossalino, pesquisadores encontraram evidências de que a sílica presente nas paredes celulares de diatomáceas dissolvidas pode interagir com o Mg^{2+} do ambiente em condições em que C e Ca têm redução de atividade, formando assim os silicatos de Mg. Quando materiais de origem microbiana são degradados ou as atividades de C e Ca aumentam, forma-se gradualmente aragonita (Burne

et al., 2014). Já no ambiente salino do Lago Thetis, eles encontraram evidências de que a fossilização envolve a substituição gradual dos silicatos de Mg por aragonita, e que esses silicatos estão associados ao material microbiano e à preservação dos microfósseis no ambiente (Wacey *et al.*, 2018). Em uma laguna hipersalina no sistema lagunar de Cayo Coco, Cuba, foi observado que as camadas superiores da esteira microbiana ocorre apenas a precipitação de silicatos de Mg, os quais são gradualmente substituídos nas camadas inferiores conforme há degradação de EPS por outros microrganismos, com conseqüente liberação de Ca_2^+ no ambiente (Pace *et al.*, 2018).

2. LOCAL DE ESTUDO: A LAGOA VERMELHA

A Lagoa Vermelha (figuras 5 e 6) é uma lagoa hipersalina rasa localizada entre os municípios de Saquarema e Araruama, no Rio de Janeiro, a aproximadamente 110 km a leste da capital. Tem aproximadamente 4,4 km de comprimento e largura variando entre 250 e 850 m, com uma área total de 2,4 km². A região mais profunda da lagoa está a cerca de 1,5 m abaixo do nível do mar, e a profundidade da água varia entre 1 m na estação seca a 1,7 m na estação chuvosa (Höhn *et al.*, 1986). Está situada no Parque Estadual da Costa do Sol, que engloba a Área de Proteção Ambiental de Massambaba (figura 6) (Laut *et al.*, 2017).

Integra um grande aglomerado de ecossistemas lacustres no litoral Atlântico Sul (Vasconcelos *et al.*, 2006). Dois sistemas de dunas separam a Lagoa Vermelha do Oceano Atlântico e da Lagoa de Araruama. A geologia local é composta por depósitos de restinga do período Quaternário e campos de dunas (depósitos eólicos) recentes (CPRM, 2000). Análises por radiocarbono de conchas de animais marinhos de diferentes testemunhos retirados da lagoa indicaram idades entre 3800 e 4200 anos atrás, correspondendo provavelmente às datas aproximadas de formação da Lagoa Vermelha após uma série de flutuações do nível do mar (Höhn *et al.*, 1986).

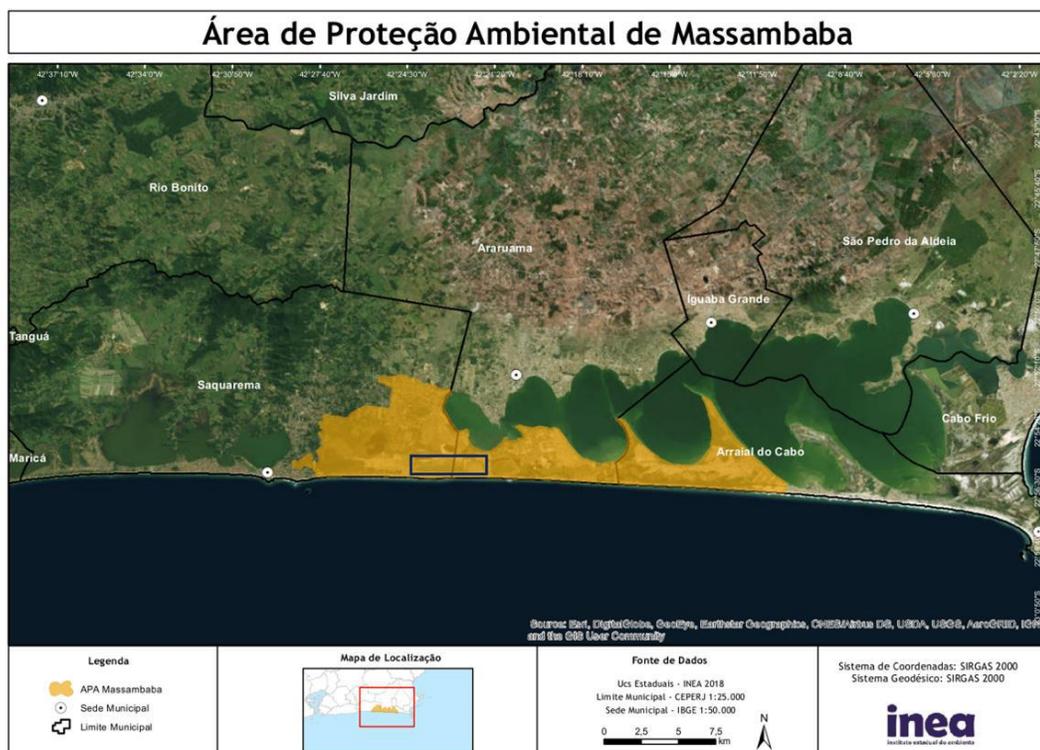


Figura 5 – A localização da Lagoa Vermelha nas áreas de proteção ambiental. Mapas mostram a área de abrangência do Parque Estadual da Costa do Sol (acima) e da APA de Massambaba (abaixo). A área que engloba a Lagoa Vermelha está destacada dentro de um retângulo em cada imagem. Fonte: INEA.



Figura 6 – Imagens da Lagoa Vermelha e da vegetação do entorno. É notável a presença de **(A)** palmeiras de pequeno porte (*Allagoptera arenaria* (Gomes) Kuntze) e **(B)** árvores do gênero *Casuarina* próximas às margens da lagoa. Imagens: Carolina Keim, arquivo pessoal.

A média de precipitação no local é de 900 mm/ano, grande parte na primavera, e a taxa de evaporação anual é de cerca de 1300 mm/ano (Höhn *et al.*, 1986). Segundo a classificação climática de Köppen, apresenta microclima de transição entre tropical e semiárido quente, alternando chuvas de verão e secas de inverno características do clima tropical com ventos de intensidade variável na direção Nordeste e alta taxa de evaporação (Silva *et al.*, 2004). Por conta dos fortes ventos, do balanço hídrico da região e de sua pouca profundidade, a coluna d'água não é estratificada. O balanço hídrico da Lagoa sofre influência também de águas subterrâneas oriundas do subsolo continental e do Oceano Atlântico (Höhn *et al.*, 1986).

Em algumas regiões da Lagoa, em profundidades inferiores a 80 cm, podem ser encontrados estromatólitos domais, não colunares e estratiformes distribuídos de forma não homogênea. Não há registros recentes de esteiras microbianas vivas associadas a estromatólitos no local (Silva *et al.*, 2004; Laut *et al.*, 2017; Keim e Farina, 2023).

A vegetação local é composta principalmente por plantas rasteiras e formações de restinga, um tipo de vegetação nativa de planícies costeiras capaz de suportar altas temperaturas, alta salinidade e dessecação (<https://www.museunacional.ufrj.br/hortobotanico/plantasdaestinga.html>), que cobrem a região litorânea entre Saquarema e Armação de Búzios (figura 6). A flora local é rica e comporta várias espécies endêmicas, no entanto, ao longo dos anos a vegetação nativa foi largamente removida (Bidegain e Pereira, 2005), sendo inicialmente substituída por tanques para extração de sal, e posteriormente por áreas urbanizadas. Além disso, a proliferação excessiva de árvores do gênero *Casuarina*, nativas da Ásia e Oceania, diminui o espaço disponível para as espécies nativas (Costa *et al.*, 2022). Estas árvores se caracterizam pela sua adaptabilidade a ambientes arenosos e com alta salinidade e por seu rápido crescimento podendo ultrapassar 30m, oferecendo um alto risco para ecossistemas costeiros em todo o mundo (Fontes, 2013). Essa degradação da vegetação nativa, somada à instalação de marnéis e tanques de extração de sal junto as margens da Lagoa, a urbanização e o turismo predatório impactaram a integridade ecológica deste ecossistema aquático. A Lagoa Vermelha, bem como outras lagoas da região (Pitanguinha, Pernambuco, e Brejo do Espinho) faz parte de um conjunto que estava ameaçado de desaparecer devido à expansão dos loteamentos (Bidegain e Pereira, 2005). A criação do Parque Estadual da Costa do Sol em 2011 teve dentre seus objetivos a preservação dos remanescentes de Mata Atlântica e ecossistemas das baixadas litorâneas como restingas, mangues, lagoas, brejos, lagunas etc., e

possibilita a recuperação das áreas degradadas (<http://www.inea.rj.gov.br/biodiversidade-territorio/conheca-as-unidades-de-conservacao/parque-estadual-da-costa-do-sol/>), e desde então os impactos ambientais foram mitigados na região da Restinga de Massambaba. Por outro lado, os conflitos com a população, empreendimentos locais e turismo fazem com que a implementação do parque não seja suficiente para a completa proteção da biodiversidade no local e em seu entorno, apesar da diminuição da degradação (Veronese, 2018; Müller e Oliveira, 2020).

2.1. Aspectos físico-químicos da Lagoa Vermelha

Na Lagoa Vermelha, a salinidade varia entre 16 e 97‰ e o pH entre 7,0 e 9,4 (Höhn *et al.*, 1986; Vasconcelos & McKenzie, 1997; Van Lith *et al.*, 2002; Laut *et al.*, 2017; Pennafirme *et al.*, 2019; Keim e Farina, 2023).

Mesmo encontrando-se em área de proteção ambiental, a Lagoa Vermelha apresenta interferências indicando efeitos antrópicos. Segundo Laut *et al.* (2017), em janeiro de 2013 a salinidade variou entre 45 e 63 PSU em diferentes partes da lagoa, sendo que a salinidade da porção leste era menor em comparação às porções central e oeste. De modo similar, eles observaram variações grandes de pH, com mínimo de 7,7 e máximo de 9,2, sendo os valores mínimos encontrados nas regiões próximas às salineiras. As variações de salinidade e pH provavelmente se devem a captação de água para as salineiras, seguida de reposição por água menos salgada que vem da Lagoa de Araruama através de um canal artificial (Laut *et al.*, 2017).

Um estudo sobre o estado trófico da Lagoa Vermelha identificou níveis de fósforo total nos sedimentos superficiais relativamente altos, provavelmente em decorrência do aporte de esgotos não tratados. Também foram observadas concentrações elevadas de COT (carbono orgânico total). As altas concentrações de fósforo e COT nos sedimentos indicam eutrofização, o que pode, por meio do aumento da produtividade primária, aumentar ainda mais as concentrações de matéria orgânica nos sedimentos. Além do alto teor de COT, os níveis de carbono biopolimérico (CBP) também se mostraram elevados, o que é esperado em ambientes com alta produtividade primária. Este parâmetro, obtido pela soma do carbono total contido em proteínas, lipídeos e carboidratos, é utilizado para caracterização bioquímica, assim como interpretação da origem, quantidade e qualidade da matéria orgânica disponíveis no ambiente bentônico, e também como estimativas da quantidade de matéria orgânica biodegradável. A faixa de CBP é, ainda, mais

alta que em outros ambientes hipersalinos, sendo comparável a ambientes com alta descarga de esgoto, como a Baía de Guanabara. A proporção entre os componentes biopoliméricos reforça que a atividade autotrófica é mais intensa que a heterotrófica, e a proporção entre proteínas e carboidratos se mostrou característica de um ambiente eutrófico (Laut *et al.*, 2017; Pennafirme *et al.*, 2019).

2.2. Características das esteiras microbianas da Lagoa Vermelha

As esteiras microbianas da Lagoa Vermelha possuem espessura variável entre 2 e 8 cm (figura 7). Podem apresentar gretas de dessecação e encolhimento devido à exposição subaérea, o que somado à bioestabilização leva à formação do que chamamos de *mat curl*, fenômeno no qual as bordas da esteira ganham aparência de papel enrolado (figura 6a) (Sampaio *et al.*, 2015). Os estromatólitos encontrados são do tipo domal e *biscuit* (Sampaio *et al.*, 2015; Keim *et al.*, 2020).

Os microrganismos mais abundantes no ambiente são as cianobactérias. Mais de vinte gêneros de cianobactérias já foram encontrados na Lagoa Vermelha, distribuídos entre esteiras microbianas e estromatólitos. Um estudo apontou que as espécies mais frequentes são *Aphanothece clathrata*, *Chroococcus minimus* e *Chroococcus turgidus* (Silva *et al.*, 2004). *Microcoleus chthonoplastes* foi posteriormente apontado como o microrganismo mais comum nas camadas superiores das esteiras microbianas, sendo atribuído à espécie um importante papel na formação e estabilização das esteiras microbianas (Silva *et al.*, 2021). A tabela 1 mostra a relação das espécies de cianobactérias descritas na Lagoa Vermelha. Alguns dos gêneros encontrados (*Microcoleus*, *Schizothrix*, *Halospirulina*, *Aphanothece*, *Aphanocapsa*, *Chroococcus*, *Gloeocapsopsis*, *Synechococcus*, *Johannesbaptistia*) são conhecidos por sua tolerância a altas salinidades e à dessecação (Silva *et al.*, 2021). As cianobactérias presentes também influenciam na estrutura macroscópica dos biolaminoides oriundos de esteiras microbianas da Lagoa Vermelha, sendo *Lyngbya aestuarii* apontada como principal cianobactéria em biolaminoides “lisos”, *Microcoleus chthonoplastes* em biolaminoides “poligonais” e *Chlorogoea tuberculosa* em

biolaminoides “pustulares” (Silva e Carvalhal, 2005).

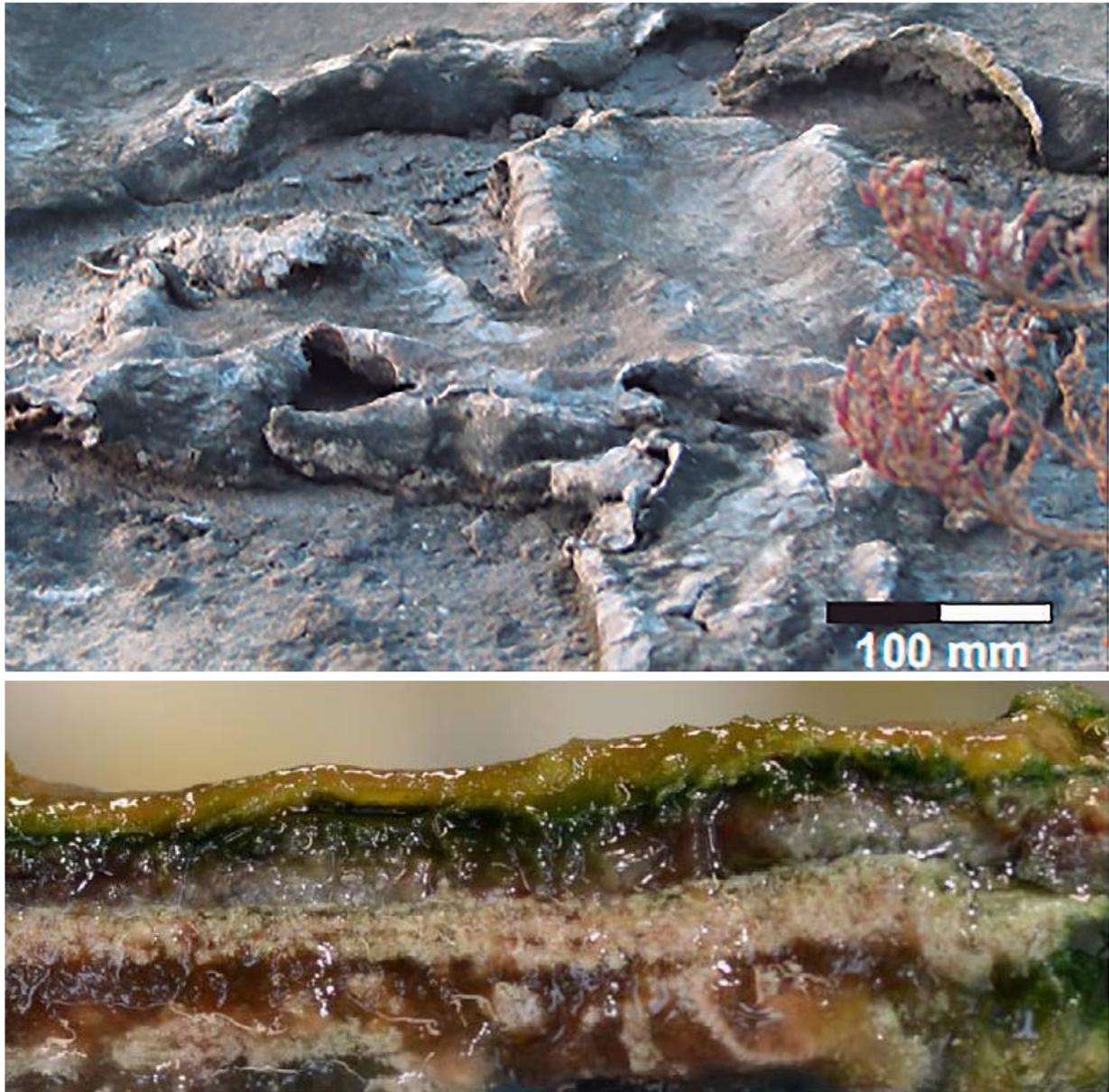


Figura 7 – Esteiras microbianas da Lagoa Vermelha. (A) Esteiras microbianas apresentando gretas de dessecação. (B) Corte transversal da esteira, onde é possível ver as camadas em diferentes cores a olho nu. (Imagem em “A” obtida de Sampaio et al. 2015; imagem em “B” obtida de Paction *et al.* 2014).

Tabela 1 - Cianobactérias previamente descritas na Lagoa Vermelha. Algumas espécies são encontradas apenas nas esteiras microbianas, outras nos estromatólitos, e algumas estão presentes em ambos (Silva *et al.*, 2004; Silva e Carvalho, 2005; Silva *et al.*, 2021). **Spirulina* de ambientes hipersalinos foram realocados para o gênero *Halospirulina*.

Cianobactérias	Localização
<i>Aphanocapsa litoralis</i>	esteiras microbianas
<i>Aphanocapsa marina</i>	esteiras microbianas
<i>Aphanocapsa salina</i>	estromatólitos
<i>Aphanothece clathrata</i>	esteiras microbianas, estromatólitos
<i>Aphanothece conglomerata</i>	estromatólitos
<i>Aphanothece halophytica</i>	esteiras microbianas, estromatólitos
<i>Aphanothece saxicola</i>	esteiras microbianas
<i>Aphanothece stagnina</i>	esteiras microbianas
<i>Aphanothece marina</i>	esteiras microbianas
<i>Borzia endophytica</i>	estromatólitos
<i>Chlorogoea tuberculosa</i>	esteiras microbianas
<i>Chroococcus dispersus</i>	estromatólitos
<i>Chroococcus lithophilus</i>	estromatólitos
<i>Chroococcus membraninus</i>	estromatólitos
<i>Chroococcus microscopicus</i>	estromatólitos
<i>Chroococcus minimus</i>	esteiras microbianas, estromatólitos
<i>Chroococcus minor</i>	esteiras microbianas, estromatólitos
<i>Chroococcus minutus</i>	estromatólitos
<i>Chroococcus obliteratus</i>	esteiras microbianas
<i>Chroococcus prescotii</i>	esteiras microbianas
<i>Chroococcus quaternarius</i>	estromatólitos
<i>Chroococcus turgidus</i>	esteiras microbianas, estromatólitos
<i>Chroococcus turicensis</i>	esteiras microbianas
<i>Chroococciopsis fissurarum</i>	estromatólitos
<i>Cyanosarcina thalassia</i>	esteiras microbianas
<i>Entophysalis conferta</i>	esteiras microbianas
<i>Entophysalis granulosa</i>	estromatólitos
<i>Entophysalis maior</i>	estromatólitos
<i>Gloeocapsopsis crepidinum</i>	esteiras microbianas
<i>Gloethece subtilis</i>	estromatólitos
<i>Gomphosphaeria aponina</i>	estromatólitos, esteiras microbianas
<i>Gomphosaeria salina</i>	esteiras microbianas
<i>Jaaginema subtilissimun</i>	esteiras microbianas

<i>Johannesbaptistia pellucida</i>	esteiras microbianas
<i>Leptolyngbya tenuis</i>	esteiras microbianas, estromatólitos
<i>Lyngbya aestuarii</i>	estromatólitos
<i>Lyngbya fragilis</i>	esteiras microbianas
<i>Microcoleus chthonoplastes</i>	esteiras microbianas, estromatólitos
<i>Microcoleus tenerrimus</i>	esteiras microbianas
<i>Oscillatoria formosa</i>	esteiras microbianas, estromatólitos
<i>Oscillatoria limnetica</i>	esteiras microbianas
<i>Oscillatoria princeps</i>	esteiras microbianas
<i>Oscillatoria vizagapatensis</i>	esteiras microbianas
<i>Phormidium aerugineo-caeruleum</i>	esteiras microbianas
<i>Phormidium breve</i>	esteiras microbianas
<i>Phormidium chalybeum</i>	esteiras microbianas
<i>Phormidium inundatum</i>	esteiras microbianas
<i>Phormidium jasorvensis</i>	esteiras microbianas
<i>Phormidium okeni</i>	esteiras microbianas
<i>Porphirosiphon martensianus</i>	esteiras microbianas
<i>Pseudocapsa sphaerica</i>	estromatólitos
<i>Pseudocapsa dubia</i>	esteiras microbianas
<i>Schizothrix friesii</i>	esteiras microbianas, estromatólitos
<i>Halospirulina* meneghiniana</i>	esteiras microbianas
<i>Halospirulina* subsalsa</i>	esteiras microbianas
<i>Halospirulina* subtilissima</i>	esteiras microbianas
<i>Synechococcus salinarum</i>	esteiras microbianas
<i>Whoronichinia radians</i>	estromatólitos

Nas camadas superiores da esteira, outros microrganismos presentes são principalmente heterotróficos que realizam respiração aeróbia e fermentação, seguidos de fotoheterotróficos e bactérias redutoras de sulfato; enquanto nas camadas inferiores são encontrados também microrganismos com outros tipos de metabolismo, como respiração anaeróbia, nitrificação e desnitrificação (Shiraishi *et al.*, 2023). Os principais filos encontrados e sua abundância, de acordo com análises de DNA, são mostrados na figura 8. Bactérias púrpuras sulfurosas (ordem *Chromatiales*) foram detectadas nas camadas inferiores, sendo representadas pelos gêneros *Thiohalobacter*, *Arhodomonas*, *Halofilum* e *Woeseia* (Shiraishi *et al.*, 2023). Vasconcelos *et al.* (2006) apontaram também a presença de bactérias púrpuras do gênero *Thiocystis* nas esteiras da

Lagoa, no entanto, atualmente todas as espécies descritas como pertencentes a este gênero vivem em ambientes de água doce, salobra ou marinha (Imhoff *et al.*, 1998). Bactérias sulfurosas incolores do gênero *Beggiatoa* foram reportadas por Keim e Farina (2023).

Além dos procariotos, estão presentes alguns eucariotos entre microalgas, foraminíferos e alguns moluscos. Vinte espécies de foraminíferos foram relatadas por Laut *et al.* (2022), pertencentes aos gêneros *Adelosina*, *Ammonia*, *Bolivina*, *Criboelphidium*, *Entzia*, *Hanzawaia*, *Haplophragmoides*, *Massilina*, *Miliolinella*, *Quinqueloculina*, *Rosalina*, *Trilouculina* e *Valvuneria*, sendo *Quinqueloculina seminula* e *Ammonia tepida* as espécies mais abundantes. A densidade de foraminíferos na Lagoa Vermelha é singular, sendo bem maior do que se encontra em outras lagoas ao redor do mundo (Laut *et al.*, 2022). Dentre as microalgas, foram identificadas 28 espécies de diatomáceas pertencentes a 15 gêneros: *Amphipleura*, *Amphora*, *Climaconeis*, *Cocconeis*, *Cyclotella*, *Fragilaria*, *Frustulia*, *Gyrosigma*, *Halamphora*, *Mastogloia*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Rhopalodia*, *Sellaphora*, *Thalassionema* (Laut *et al.*, 2019). As espécies encontradas são comuns em outras lagoas hipersalinas, no entanto, a quantidade total de espécies é menor do que em outros sistemas similares (Laut *et al.*, 2019). É provável que essa redução na riqueza de espécies esteja relacionada ao isolamento da lagoa em relação ao oceano, pois existem evidências de que há uma redução drástica de diversidade em ecossistemas confinados com baixa hidrodinâmica e renovação limitada de recursos (Laut *et al.*, 2011 apud Laut *et al.* 2019). Os animais, menos frequentes, são moluscos bivalves, gastrópodes ou ostracodas. O bivalve mais comum é *Anomalocardia brasiliana*, e os gastrópodes e ostracodas mais frequentes são dos gêneros *Hydrobia* e *Cyprideis*, respectivamente (Silva *et al.*, 2004).

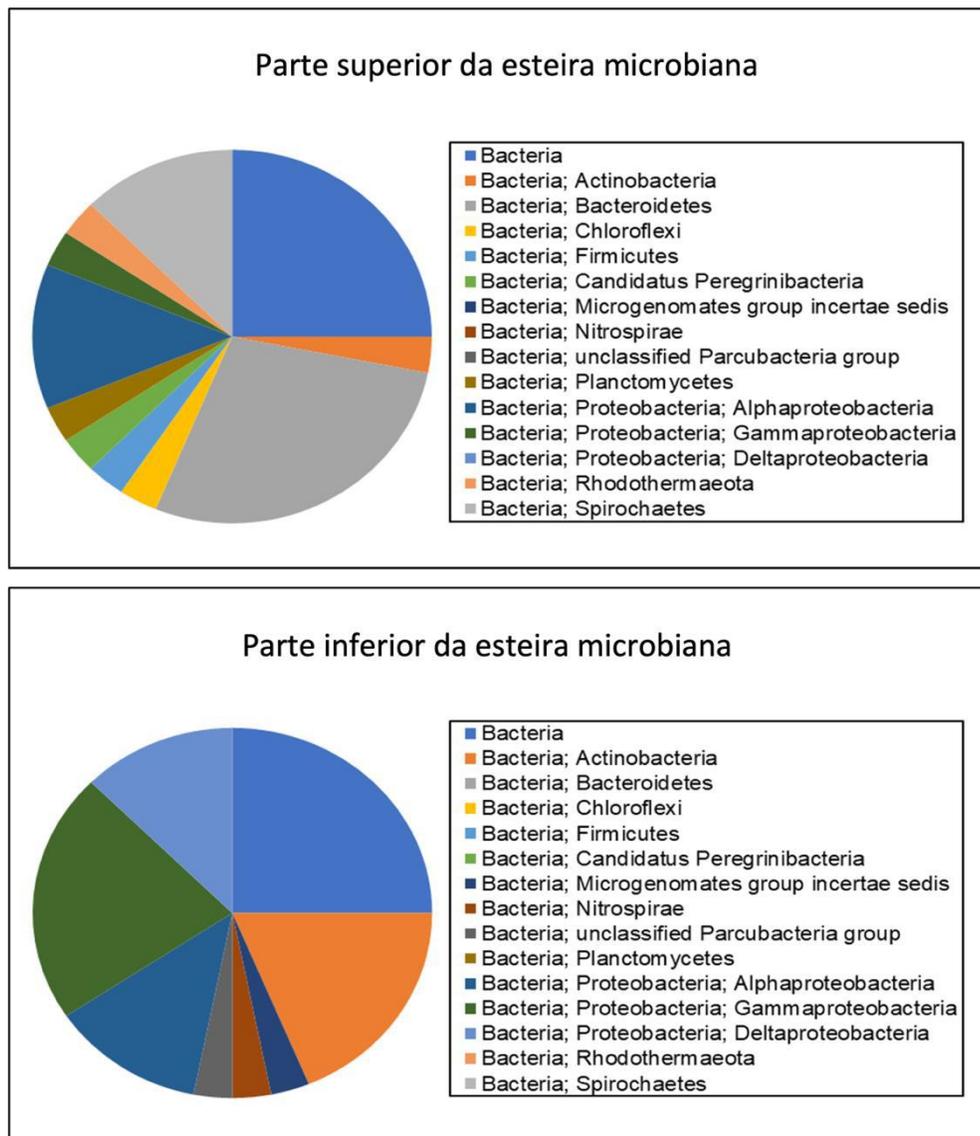


Figura 8 – Principais grupos de bactérias encontrados na Lagoa Vermelha. Análises de 16S rDNA feitas por Shiraiishi *et al.* (2023) mostram os principais grupos de microrganismos presentes em cada região das esteiras microbianas.

2.3. Lipídeos nas esteiras microbianas e sedimentos da Lagoa Vermelha

Estão presentes nas esteiras microbianas da Lagoa Vermelha hidrocarbonetos, ácidos graxos livres, esteróis, hopanóis, ésteres de cera e álcoois (Silva *et al.*, 2021). Dentre os hidrocarbonetos, n-alcenos entre n-C16 a n-C40 são abundantes nos sedimentos (Areias *et al.*, 2022), enquanto nas esteiras os n-alcenos variam entre n-C17 a n-C35, sendo que quanto mais

próximo a superfície, maiores as quantidades de hidrocarbonetos de menor peso molecular (Silva *et al.*, 2021). Os n-alcenos predominantes nos sedimentos variam entre C27 e C35, como betacaroteno (C40) e fitano (C20) (Areias *et al.*, 2022). Hidrocarbonetos terpenóides pentacíclicos derivados do metabolismo de microrganismos aeróbios, como cianobactérias, e anaeróbios também estão presentes em todas as camadas da esteira, enquanto os ácidos graxos sofrem uma forte queda de concentração conforme a profundidade aumenta (Silva *et al.*, 2021). Outros lipídios incluem ácidos graxos de cadeia linear; álcoois ramificados isoprenóides, tais como fitol e isofitol, além de glicolipídios e fosfolipídios (Silva *et al.*, 2021).

2.4. Minerais encontrados na Lagoa Vermelha

Os sedimentos da Lagoa Vermelha contêm duas fácies sedimentares, sendo um sedimento de origem marinha em grandes profundidades (> 85 cm), e outro laminado de origem lacustre (< 85 cm) (Areias *et al.*, 2022). Nos sedimentos de origem lacustre são encontradas conchas e fragmentos de conchas, e os testemunhos examinados mostraram tanto camadas consolidadas como camadas não consolidadas, ambas ricas em carbonatos (Santelli *et al.*, 2006; Areias *et al.*, 2022).

Na Lagoa Vermelha, predominam os carbonatos, tanto nas esteiras microbianas como nos estromatólitos e nos sedimentos (Santelli *et al.*, 2006; Nascimento *et al.*, 2019; Keim *et al.*, 2020; Areias *et al.*, 2022; Guedes *et al.*, 2022). Diversos autores mostraram a presença de calcita ($\text{Ca}_{1-x}\text{Mg}_x\text{CO}_3$, $x < 0,04$), calcita magnesiana ($\text{Ca}_{1-x}\text{Mg}_x\text{CO}_3$ ($x \approx 0,21$), proto-dolomita ($\text{Ca}_{1-x}\text{Mg}_x\text{CO}_3$, $x \approx 0,35$), dolomita ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$), aragonita (CaCO_3), quartzo (SiO_2) e pirita (FeS_2) nos sedimentos (Höhn *et al.*, 1986; Santelli *et al.*, 2006; Nascimento *et al.*, 2019; Areias *et al.*, 2022). Os estromatólitos apresentam em sua composição calcita magnesiana, proto-dolomita, aragonita, quartzo, pirita e silicatos de magnésio ($\text{Mg}_x\text{Si}_y\text{O}_z$) (Keim *et al.*, 2020). Nas esteiras microbianas, foram encontrados os minerais autigênicos calcita, calcita magnesiana, protodolomita, aragonita, gipsita ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), anidrita (CaSO_4), e silicatos de magnésio; e minerais terrígenos como quartzo, caulinita ($\text{Al}_2(\text{Si}_2\text{O}_5)(\text{OH})_4$) e micas (Areias *et al.*, 2022; Guedes *et al.*, 2022).

3. JUSTIFICATIVA

A História evolutiva da Terra vem sendo estudada há séculos na busca humana por compreender onde e como a vida neste planeta surgiu, desde seus primórdios. O éon Fanerozóico, onde os fósseis da megafauna e megaflores conhecidos hoje surgiram, não possuía uma atmosfera muito diferente da atual e representa apenas um período de cerca de 540 milhões de anos (Awramik, 1992). No entanto, os fósseis mais antigos podem trazer muito mais informações sobre o passado distante. Microfósseis de procariotos já foram identificados em rochas do período Pré-Cambriano datadas de mais de 3,4 bilhões de anos atrás e alguns estromatólitos trazem registros de evidências geoquímicas e texturais da existência de colonização microbiana até 3,8 bilhões de anos no passado, o que corresponderia aos primórdios da vida no planeta Terra. Porém, as informações contidas no registro fóssil de estromatólitos possuem diversas limitações, tanto por não serem bem compreendidos, como pela dificuldade de preservação de microfósseis de microrganismos, com exceção do filo *Cyanobacteria* (Walsh, 2010). Uma saída para transpor estas limitações e entender o fenômeno da organomineralização que leva à formação de estromatólitos é o estudo de esteiras microbianas atuais, consideradas análogas daquelas existentes no Pré-Cambriano. Estes análogos trazem informações importantes que podem ajudar a compreender como eram os primeiros ecossistemas aquáticos deste planeta (Dupraz e Visscher, 2005; Vasconcelos *et al.*, 2006; Walsh, 2010).

Na Lagoa Vermelha, foram reportados estromatólitos em crescimento há algumas décadas (Höhn *et al.*, 1986; Vasconcelos *et al.*, 2006), porém em estudos mais recentes apenas esqueletos branqueados de estromatólitos têm sido relatados (Silva *et al.*, 2004; Laut *et al.*, 2017; Keim e Farina, 2023). Análise por radiocarbono de um estromatólito da Lagoa Vermelha estimou que o crescimento tenha parado por volta do ano de 1440 ± 60 D.C. (Carvalho *et al.*, 2018). Por outro lado, alguns estudos relatam a precipitação de minerais (carbonatos de Ca e Mg e silicatos de Mg) em esteiras microbianas da Lagoa Vermelha (Pennafirme *et al.*, 2019; Guedes *et al.*, 2022). Mesmo que os estromatólitos não mais estejam crescendo na Lagoa Vermelha, a análise dos minerais das esteiras microbianas e sua relação com os microrganismos pode trazer informações sobre os processos de precipitação de minerais, a formação de laminações estromatolíticas, e a preservação de microrganismos no registro fóssil.

A maioria dos estudos sobre as esteiras microbianas da Lagoa Vermelha possui limitações em sua metodologia por não examinar os minerais da esteira e os microrganismos em conjunto. Este estudo se diferencia por sua amplitude, abrangendo tanto a observação dos microrganismos presentes nas esteiras microbianas como dos minerais presentes na própria esteira, utilizando uma mesma amostra para observações tanto dos microrganismos presentes e estruturas microbianas preservadas como da fração mineral. No entanto, este é um estudo observacional descritivo que deve ser visto como uma porta de entrada para mais estudos sobre os aspectos biogeoquímicos na Lagoa Vermelha.

4. OBJETIVO

Descrever a organização e a diversidade morfológica dos microrganismos e dos minerais precipitados no entremeio das esteiras.

4.1. Objetivos específicos

1. Descrever a estrutura macro- e microscópica das esteiras microbianas;
2. Visualizar associações entre microrganismos e minerais autigênicos em microscópio ótico de campo claro, interferencial de Nomarski, polarização e fluorescência, através da observação da morfologia dos microrganismos e da birrefringência característica de carbonatos autigênicos.
3. Visualizar associações entre microrganismos e minerais autigênicos em microscopia eletrônica de varredura (MEV) por meio da identificação das morfologias características de microrganismos e minerais.
4. Identificar minerais autigênicos por meio de morfologias características, da birrefringência, e da composição química por meio de microscopia ótica de polarização e MEV-EDS (espectroscopia da dispersão de energia de raios X);
5. Identificar estruturas microbianas preservadas nos minerais autigênicos (microfósseis).

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Coleta das amostras

Foram realizadas duas coletas. Em 13 de outubro de 2014 foram coletadas amostras de esteiras microbianas secas na Lagoa Vermelha, costa nordeste do Estado do Rio de Janeiro, Brasil (22°55'46.3"S, 42°22'33.1"W). Em 15 de outubro de 2021 foram coletadas esteiras microbianas frescas e também o substrato logo abaixo delas no mesmo ponto da lagoa, conforme a figura 9. A figura 10 mostra o aspecto da esteira úmida “*in situ*”. Em cada coleta, foram coletados cerca de 200g de esteiras. As amostras coletadas foram submetidas a diferentes processos, mostrados na figura 11.

No momento da primeira coleta (2014) a salinidade era de 80‰ e o pH 8.0. Na coleta mais recente (2021), a salinidade da água medida no local era de cerca de 57‰, e o pH 7,6.



Figura 9 – Imagem de satélite da Lagoa Vermelha mostrando o ponto de coleta. Imagem obtida do Google Earth.

5.2. Observação da estrutura macroscópica em microscópio estereoscópico

Para observação em microscópio estereoscópico, um pedaço de esteira fresca (2021) foi cortado com faca e observado no microscópio estereoscópico Nikon AZ100 Multizoom equipado com câmera Nikon Digital Sight DS-Ri1. Para uniformizar o relevo da amostra, foram adicionadas algumas gotas de água da lagoa e colocada uma lamínula de vidro (24 x 50 mm) sobre a esteira.

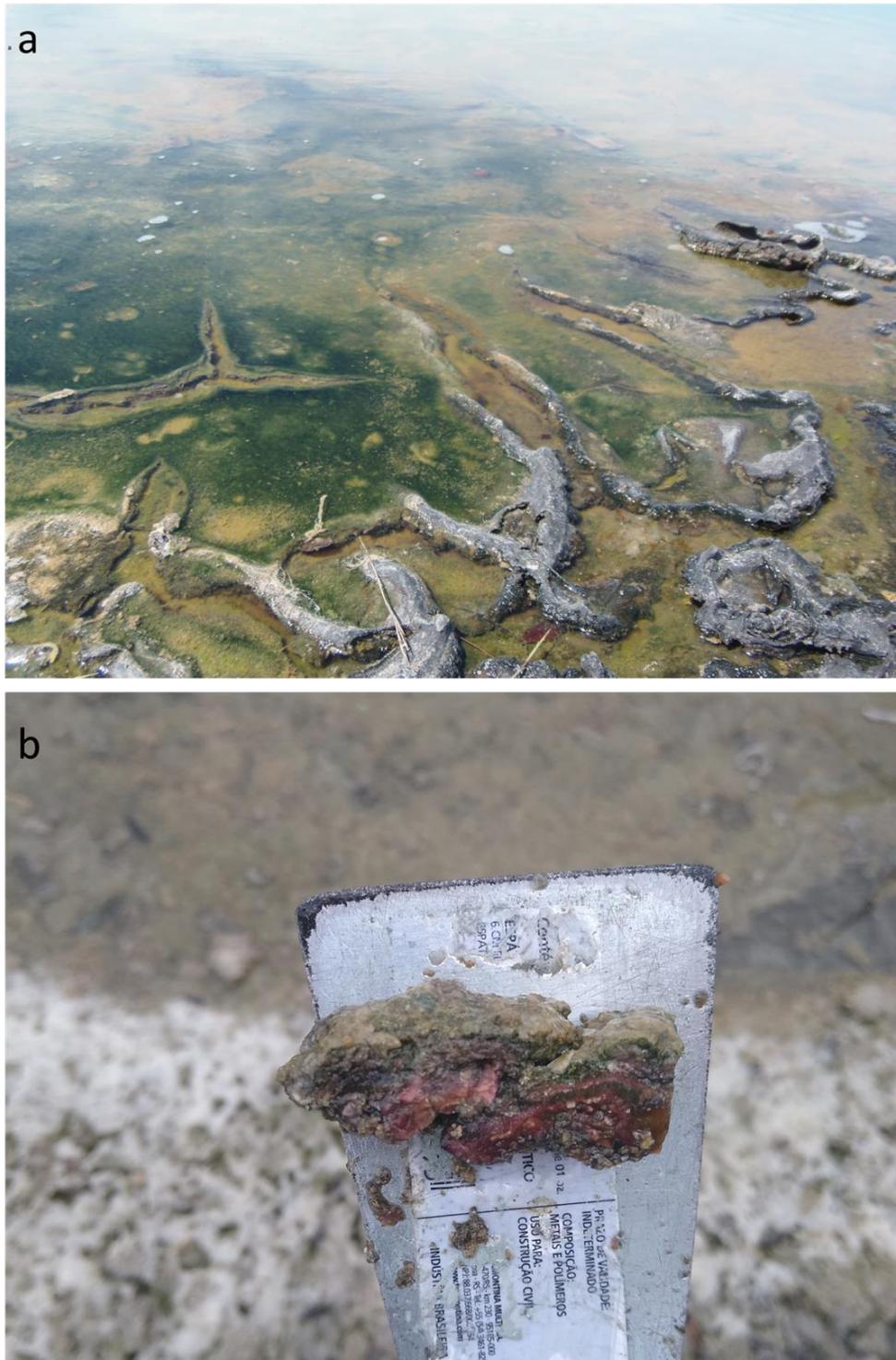


Figura 10 – Esteiras microbianas da Lagoa Vermelha coletadas para este trabalho. **(a)** Esteira microbiana “*in situ*”, apresentando gretas de dessecação. **(b)** Corte transversal da esteira no momento da coleta, onde é possível ver as camadas em diferentes cores a olho nu, indicadas pelas setas verde (camada verde), rosa (camada púrpura) e branca (camada de minerais). A espátula mede 6 cm de largura.

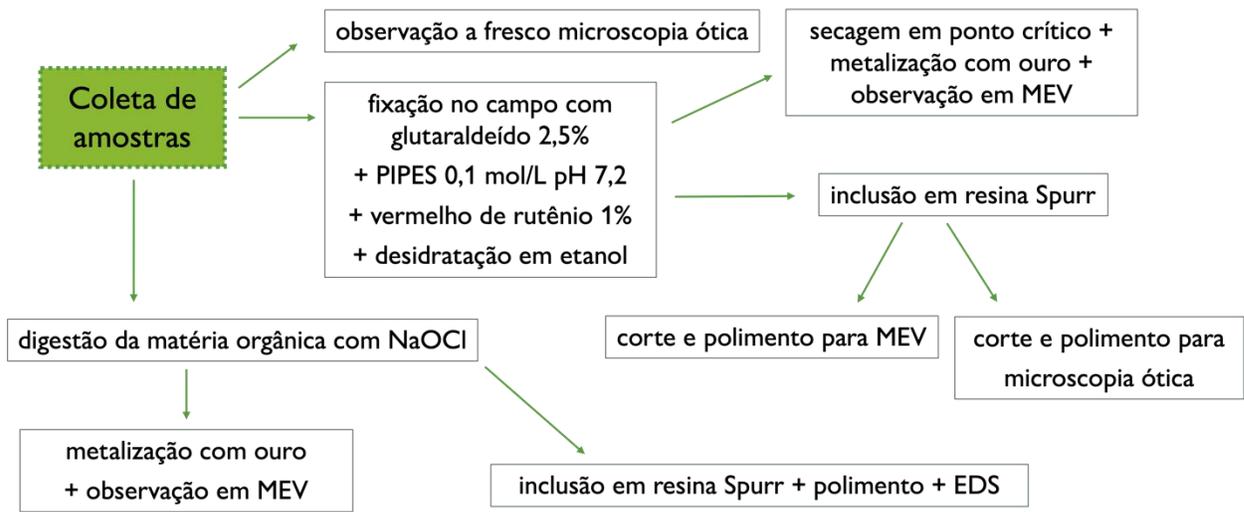


Figura 11 – Fluxograma mostrando os diferentes processos aos quais as amostras da esteira fresca (2021) foram submetidas para este estudo.

5.3. Preparação a fresco para microscopia ótica

Para microscopia ótica, foram realizados dois processos distintos, a preparação a fresco e de amostras polidas. Para preparação a fresco, amostras da esteira fresca (2021) foram dissecadas em lupa utilizando agulhas, montadas entre lâminas e lamínulas, e seladas com esmalte, sendo observadas após 30 minutos para secagem completa do esmalte.

5.3.1. Preparação de amostras polidas para microscopia ótica

Amostras da esteira fresca (2021) foram fixadas no campo com glutaraldeído 2,5% em tampão PIPES 0,1 mol/L pH 7,2 e vermelho de rutênio a 1%, tendo permanecido na solução fixadora por uma semana. Em seguida, foram lavadas em tampão PIPES e desidratadas em etanol 30%, 50%, 70% e duas vezes 100%. As amostras então foram incluídas em resina Spurr:etanol 1:1 por 12 h e em resina pura por mais 12 h. Após troca da resina, foi polimerizada em estufa a 70°C por 20h. As amostras foram então cortadas em serra circular diamantada (South Bay Technology, INC; modelo 650), polidas com lixa d'água de carbetto de silício e montadas entre lâmina e lamínula utilizando óleo de imersão e/ou araldite.

5.4. Observação da estrutura de microrganismos e minerais em microscopia ótica

As lâminas preparadas conforme descrito acima foram observadas em microscópio ótico de campo claro e polarização Zeiss Axioplan equipado com câmera MediaCybernetics Evolution MP 5.0 ou microscópio Zeiss Axioplan 2 equipado com câmera Color View XS, utilizando os modos campo claro, polarização, interferencial de Nomarski e fluorescência. A microscopia de fluorescência foi utilizada para evidenciar todas as células através da fluorescência verde conferida pela fixação com glutaraldeído, e também para diferenciar as produtoras de clorofila (cianobactérias e microalgas) pela autofluorescência da clorofila.

5.5. Visualização de microrganismos e minerais em microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia por dispersão de energia de raios-X (EDS)

Para observação da morfologia de células, EPS e minerais, amostras da esteira fresca (2021) foram fixadas e desidratadas conforme descrito no item 5.3.1. Após isso, foram submetidas a secagem em aparelho de ponto crítico (Balzers CPD 030). Depois de secas, foram fraturadas com auxílio de pinças, montadas em suportes de alumínio, e metalizadas com ouro (metalizador Bal-Tec SCD 050).

Para observação da morfologia e composição elementar da fração mineral, amostras da esteira fresca (2021) e do substrato abaixo dela foram submetidas a tratamento químico com NaOCl para eliminação de material orgânico e recuperação dos minerais presentes. Após isso, foram lavadas em água destilada para eliminação de todo o NaOCl e secas ao ar. Posteriormente, foram incluídas em resina Spurr. Após polimerização por 20h a 70°C, as amostras foram polidas utilizando lixas de carbetto de silício.

As amostras foram observadas no microscópio eletrônico de varredura Zeiss EVO MA10 equipado com baixo vácuo e detectores para elétrons secundários e elétrons retro-espalhados, ou no JEOL JSM-6490LV equipado com baixo vácuo, detectores para elétrons secundários, para elétrons retro-espalhados, e também um detector para espectroscopia da dispersão de energia de raios-X (EDS) Noran.

Os elétrons secundários são gerados pelo espalhamento inelástico (interação dos elétrons

do feixe com a eletrosfera dos átomos da amostra) e são de baixa energia (< 50 eV). Geram imagens de alta resolução, já que somente os elétrons gerados perto da superfície são capturados pelo detector. O contraste é gerado pelo relevo da amostra, pois o detector é inclinado em relação à amostra. Os elétrons retroespalhados se originam de interações elásticas, nas quais os elétrons incidentes interagem com os núcleos dos átomos da amostra. A imagem gerada tem menor resolução em relação à imagem de elétrons secundários, pois o sinal é gerado também em porções mais internas da amostra, abrangendo um diâmetro maior do que o do feixe de elétrons incidentes. Na imagem de elétrons retroespalhados, o contraste é gerado em função do número atômico (quanto maior o número atômico médio, maior a energia refletida e maior o contraste) (Farina, 1998; Dedavid, 2007). Dessa forma, estas técnicas trazem tanto informações sobre a morfologia (relevo) da amostra como da composição química destas, ajudando a diferenciar os minerais da amostra e contribuindo para a identificação de minerais em conjunto com EDS.

O EDS em MEV foi realizado com amostras da esteira seca (2014), para comparação com o material encontrado na fração mineral da esteira fresca (2021). Nesta técnica, o feixe de elétrons incidente interage com a eletrosfera dos átomos da amostra, arrancando elétrons dos átomos. Quando um elétron de uma camada mais interna é arrancado, um outro elétron de uma camada mais externa pode ocupar a vacância. A diferença de energia entre as camadas é emitida na forma de raios X, que são capturados por um detector. A energia destes raios X é característica para cada tipo de decaimento, o que permite a identificação dos átomos presentes no material (Farina, 1998; Dedavid, 2007). Com isso, podemos identificar e quantificar os elementos presentes nas amostras, o que permite identificar minerais. Para o EDS foi utilizado um feixe na voltagem de 20kV, aumento de 500x e correção pelo método ZAF, que considera o número atômico Z, a absorção de radiação A e da fluorescência F, realizado automaticamente pelo software de aquisição dos espectros de EDS.

6. RESULTADOS

6.1. Observações em microscópio estereoscópico

A esteira fresca coletada se mostrou laminada e gelatinosa, com coloração variando entre pelo menos dois tons de verde na região mais superficial, tons avermelhados logo abaixo e tons

acinzentados nas camadas inferiores. É clara a separação entre as regiões verdes, onde há predomínio de microrganismos fototróficos oxigênicos, e as regiões avermelhadas, onde bactérias púrpuras predominam, além de quatro camadas enriquecidas em minerais (figura 12a).

Um aumento maior da camada superior mostra microcolônias de cor verde em meio a grãos de minerais autigênicos de cor branca (figura 12b). Nas camadas inferiores, há microcolônias de tamanho e formato semelhantes às observadas na camada superior, porém com coloração acinzentada e aparentemente em decomposição, entremeadas de microcolônias de bactérias púrpuras. Em associação a estas microcolônias em decomposição, há minerais seguindo a morfologia característica do EPS (figura 12c). Também foram observadas microcolônias de cianobactérias vivas em associação com bactérias púrpuras (figura 13).

As quatro camadas de minerais observadas mostraram texturas e/ou cores diferentes, indo desde branco até o cinza (figura 12a). Em meio às camadas da esteira microbiana, foram identificados clastos como conchas de ostracodes e foraminíferos, além de grãos de quartzo. A distribuição dos clastos é aparentemente aleatória. Há também partículas minerais ao redor das microcolônias verdes.

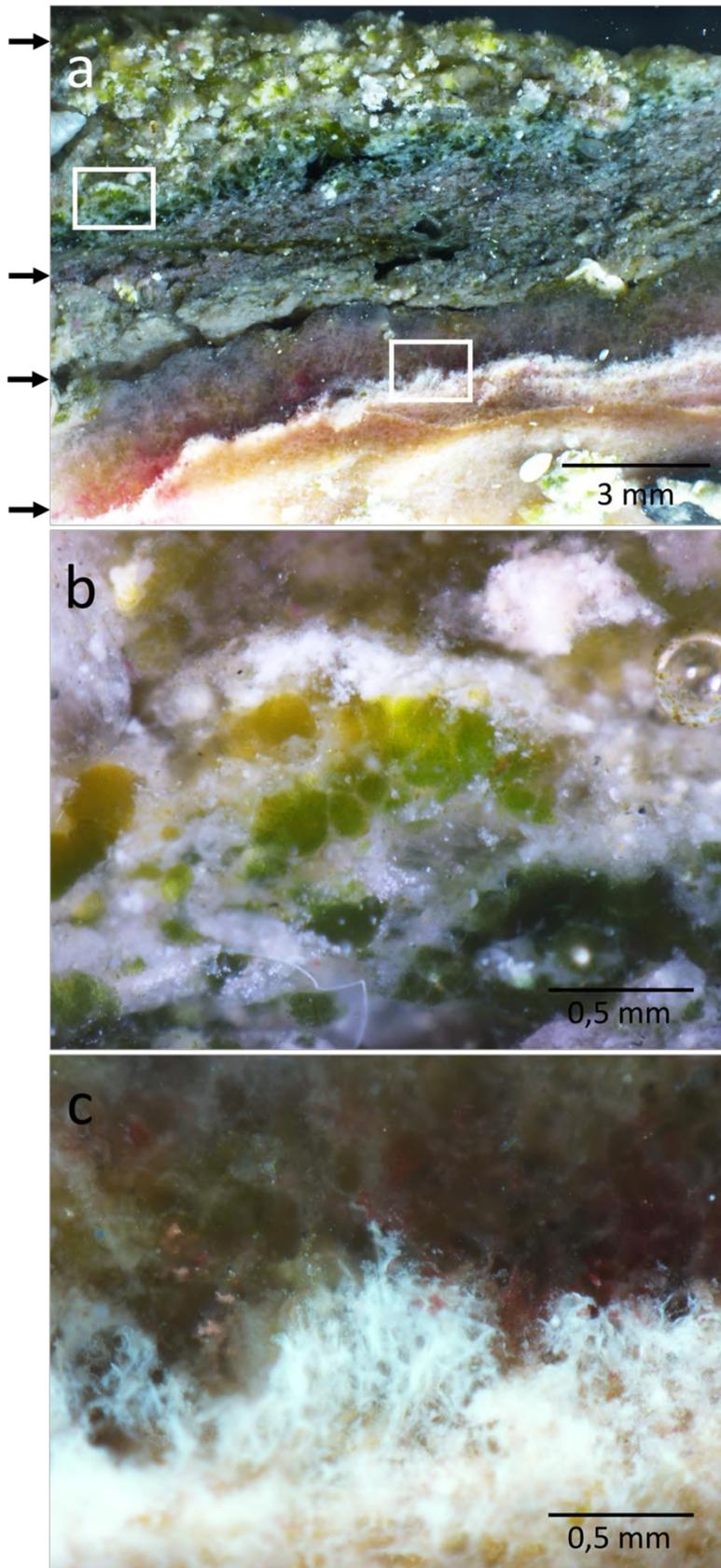


Figura 12 – Imagem de esteira microbiana fresca ampliada em microscópio estereoscópico. (a) No menor aumento, é possível observar camadas bem definidas e a presença de minerais autigênicos (em branco ou cinza) em quatro camadas distintas no interior da esteira, indicadas pelas setas. Os retângulos indicam as áreas mostradas em detalhe em “b” e “c”. (b) Em maior aumento, observam-se partículas minerais isoladas ou agrupadas ao redor de microcolônias verdes na camada superficial. (c) Minerais (branco) com a morfologia característica de EPS permeando microcolônias em decomposição entre bactérias púrpuras, em uma das camadas inferiores.

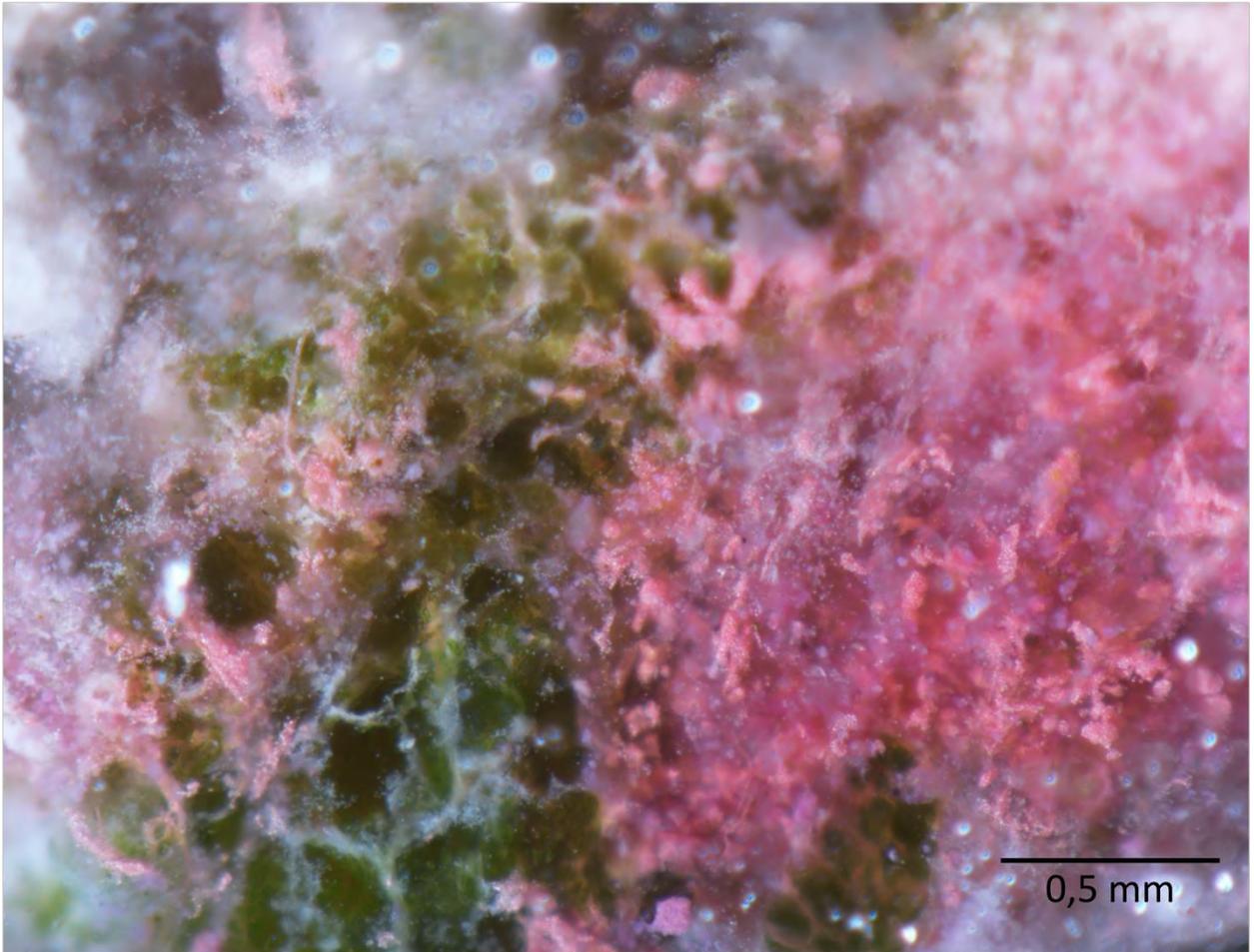


Figura 13 – Microcolônias de cianobactérias coexistem com bactérias púrpuras. Na camada verde inferior da esteira, observamos microcolônias de cor verde e de bactérias púrpuras coexistindo em um mesmo campo.

6.2. Microscopia ótica

6.2.1. Microrganismos

Foi observada uma grande diversidade de microrganismos, dentre cianobactérias, microalgas e bactérias púrpuras (figuras 14 a 17). A maior parte da biomassa encontrada na esteira estudada é composta por cianobactérias, concentradas principalmente nas camadas superiores da esteira, mas também presentes nas camadas avermelhadas logo abaixo. Microalgas eucariontes são minoritárias em relação as cianobactérias e estão concentradas nas regiões verdes superficiais. Bactérias púrpuras sulfurosas também aparecem de forma expressiva, sendo o segundo tipo de

microrganismo mais comum. Estas se diferenciam de cianobactérias avermelhadas pela presença de glóbulos de enxofre no espaço periplásmico, ausentes nestas últimas.

Com base em imagens de microscopia ótica, foi possível identificar as cianobactérias mais comuns a nível de família ou de gênero (Nübel *et al.*, 2000; Siegesmund *et al.*, 2008; Komárek *et al.*, 2011; Komárek, 2018; Ullah *et al.*, 2022). A maior parte das observações de cianobactérias foi de espécies dos gêneros *Aphanothece*, *Microcoleus* e *Halospirulina* (anteriormente parte do gênero *Spirulina*), e da família *Oscillatoriaceae* (gêneros *Oscillatoria*, *Lyngbya* e/ou *Phormidium*). Na esteira fresca, *Aphanothece* sp. apresenta-se como microcolônias arredondadas com bordas bem definidas, compostas de células cilíndricas imersas em uma camada espessa de EPS (figura 14a), que correspondem muito bem a descrição do gênero (Komárek *et al.*, 2011). São as células observadas com maior frequência, e compõem a maior parte da biomassa das camadas verdes. É provável que correspondam as microcolônias observadas em microscópio estereoscópico, mostradas nas figuras 12b, 12c e 13. Cianobactérias filamentosas da família *Oscillatoriaceae* e as do gênero *Microcoleus* (família *Microcoleaceae*) compartilham muitas características como a organização das células em tricomas, mas podem ser diferenciadas pela espessura das células, já que *Oscillatoriaceae* costumam ter células mais curtas do que largas enquanto as células de *Microcoleus* tem dimensões mais equilibradas, e pelas extremidades da bainha, abertas em *Microcoleus* (figura 14b-d). Com isso, podemos distinguir *Microcoleus* de outras cianobactérias filamentosas encontradas, mas a técnica utilizada não é suficiente para identificação de quais gêneros de *Oscillatoriaceae* estão presentes. *Halospirulina* é facilmente identificada por seu tricoma de morfologia helicoidal (figura 14e), e se diferencia de *Spirulina* por crescer bem em ambiente hipersalino (salinidade 32 a 130 PSU) e quente ($> 35^{\circ}\text{C}$) (Nübel *et al.*, 2000).

Esporadicamente, foram observadas algas flageladas (figura 15a), porém a maioria das microalgas observadas são da classe *Bacillariophyceae* (diatomáceas), possivelmente *Frustulia* sp. e *Sellaphora* sp. (figura 15b). As bactérias púrpuras (figura 16) aparecem organizadas em microcolônias afiladas, e foram identificadas como pertencentes a família *Chromatiaceae*, devido à presença de glóbulos de enxofre que parecem intracelulares, mas na verdade se localizam no periplasma (região entre a membrana externa e a membrana citoplasmática de microrganismos gram-negativos) (Prange *et al.*, 2004). Também foram observadas outras células procarióticas cuja identificação não foi possível através de sua morfologia, as quais na visualização com

objetiva de 100x apresentam formas de cocos e bacilos com tamanhos compatíveis com bactérias e arqueas (figura 16a), os quais foram pouco visualizados nas amostras em relação à quantidade relativa de cianobactérias, bactérias púrpuras e microalgas presentes.

Em microscopia ótica, também foram observadas cianobactérias e bactérias púrpuras coexistindo num mesmo campo da região verde superficial da esteira (figura 17) mostrando que a separação entre as camadas das esteiras microbianas não é absoluta, ficando restrita a observações macroscópicas.

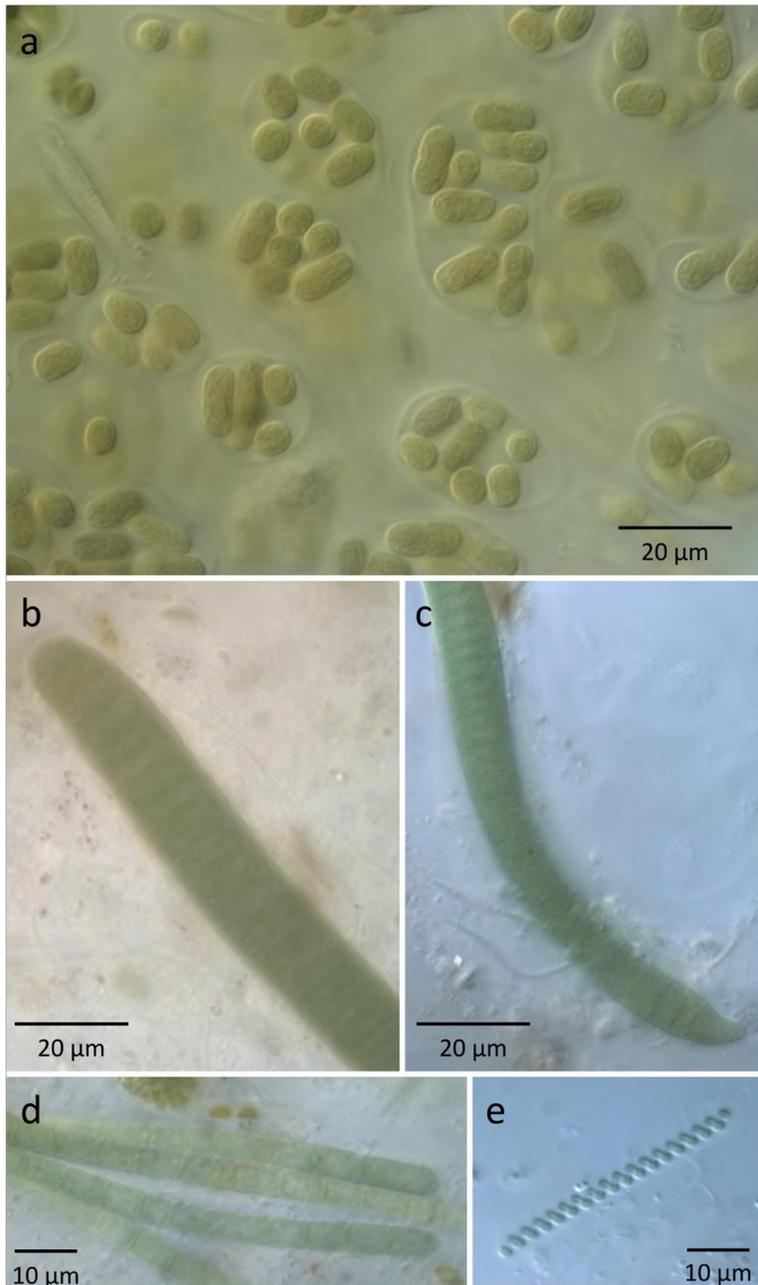


Figura 14 – Cianobactérias mais comuns nas esteiras microbianas da Lagoa Vermelha. (a) *Aphanothece* sp.; (b-c) *Oscillatoria* spp.; (d) *Microcoleus* sp.; (e) *Halospirulina* sp.

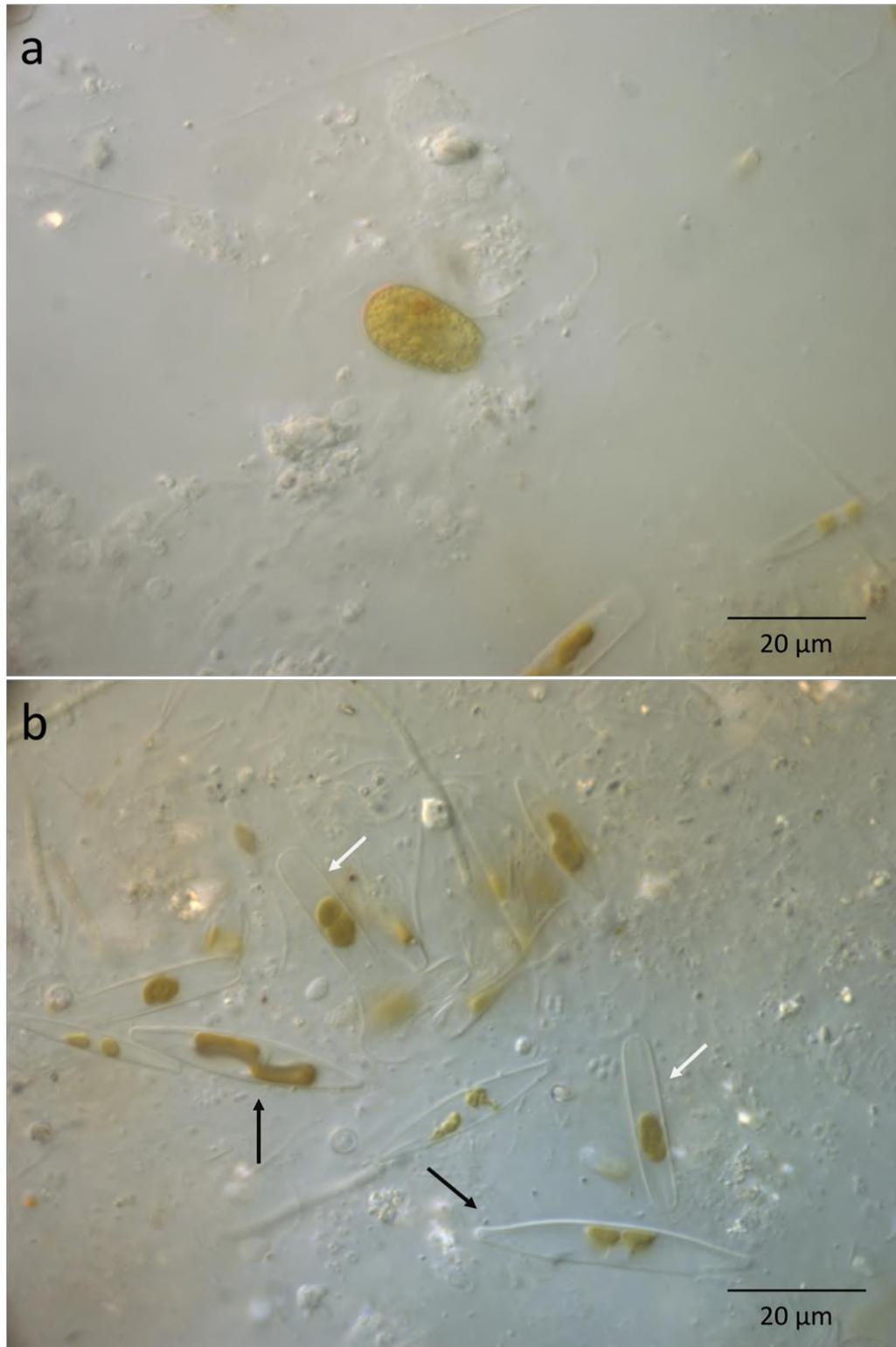


Figura 15 – Microalgas encontradas nas camadas superficiais da esteira. (a) microalga eucarionte não identificada; (b) diatomáceas, algumas identificadas como sendo pertencentes possivelmente aos gêneros *Frustulia* (setas pretas) e *Sellaphora* (setas brancas). Microscopia interferencial de Nomarski.

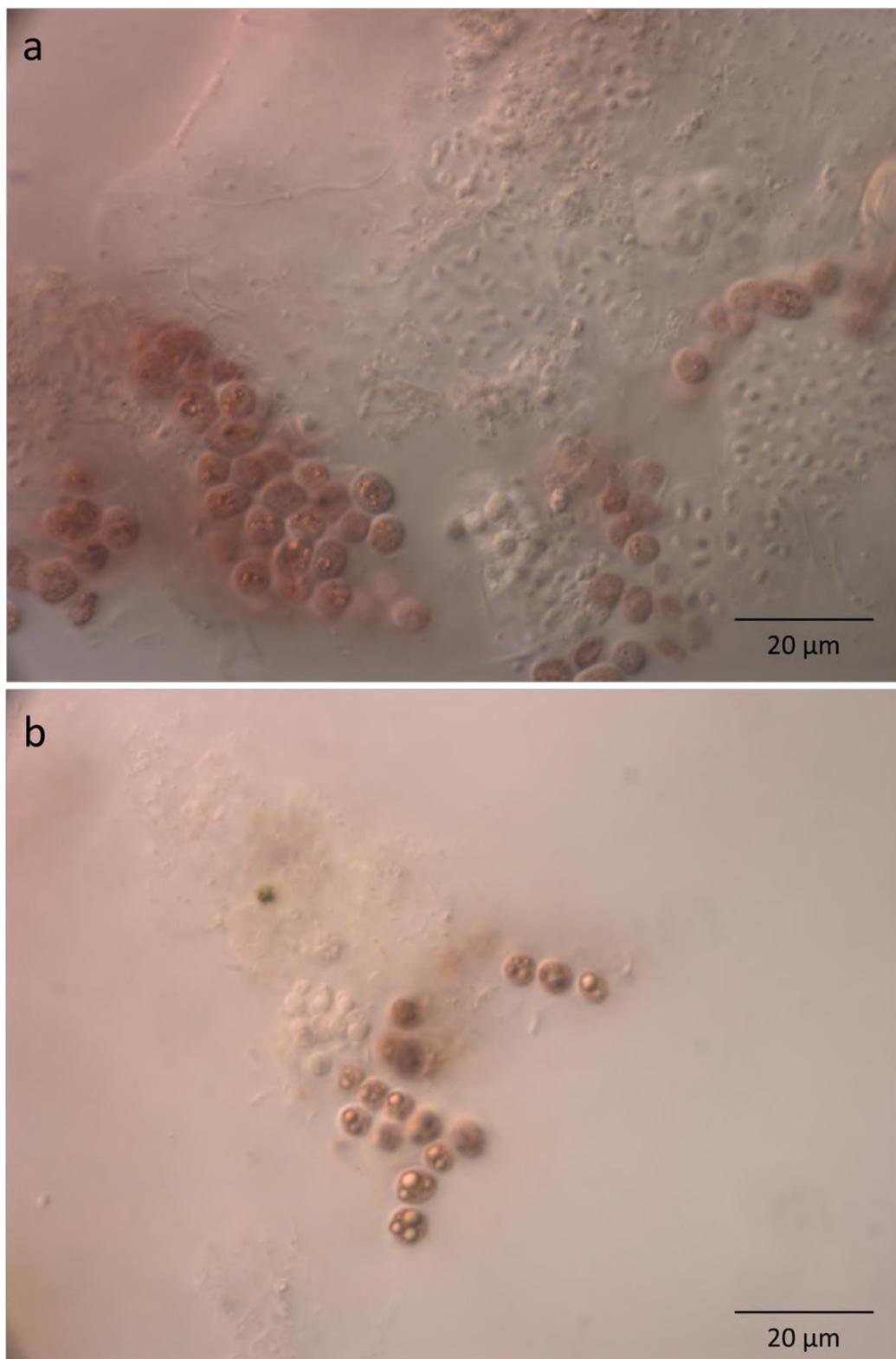


Figura 16 – Bactérias púrpuras sulfurosas da família *Chromatiaceae* encontradas na esteira. (a) Colônias de bactérias púrpuras próximas a outras bactérias incolores, sem identificação; em (b) é possível observar melhor os glóbulos de enxofre, que parecem ser intracelulares mas estão localizados no periplasma (entre as membranas interna e externa) das células. Microscopia interferencial de Nomarski.

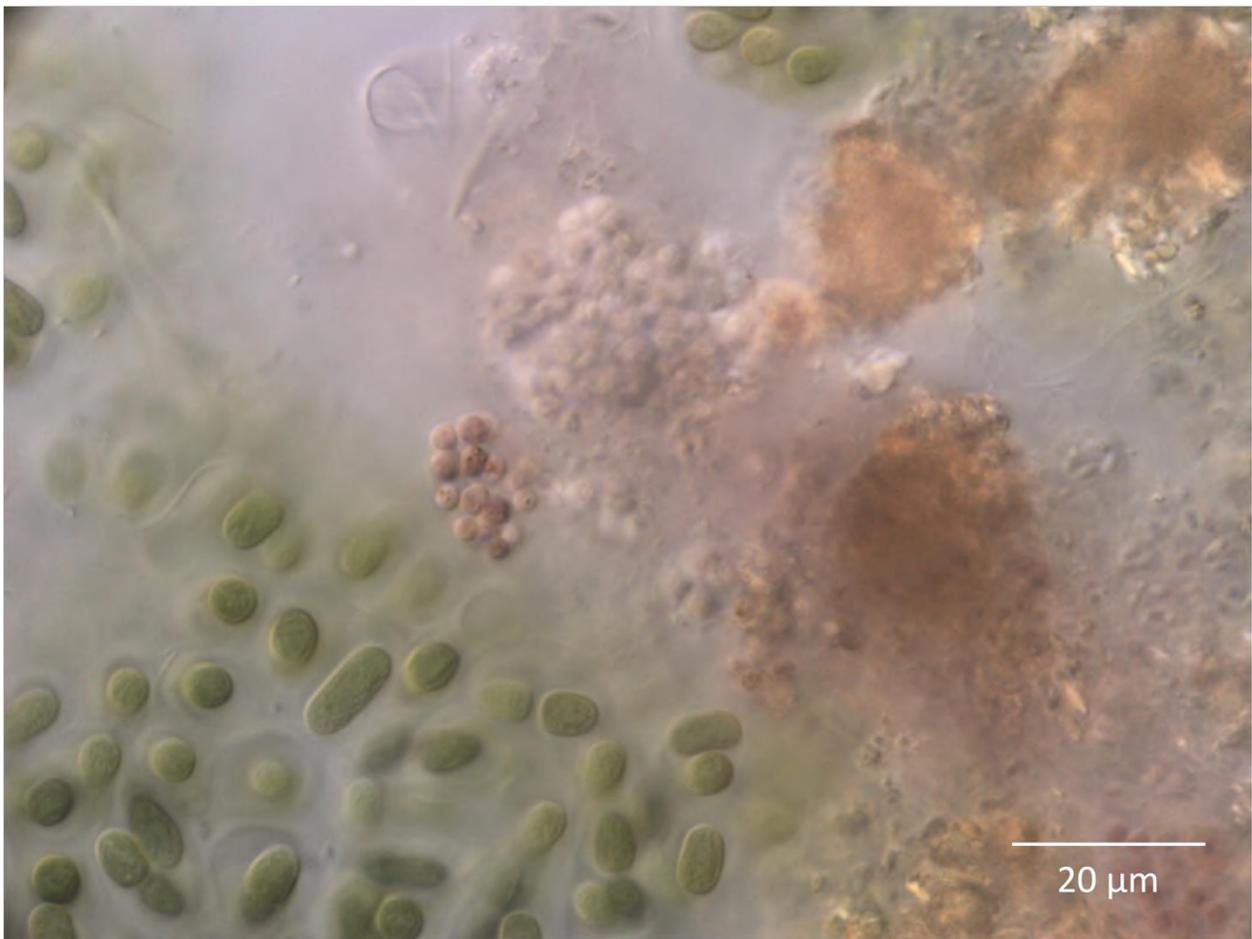


Figura 17 – Cianobactérias e bactérias púrpuras coexistindo em um mesmo campo. Observe que além das microcolônias de cianobactérias e bactérias púrpuras há um grande número de microcolônias de cocos e bacilos, assim como minerais autigênicos (de coloração amarronzada). Imagem obtida de amostra da parte verde superficial da esteira. Microscopia interferencial de Nomarski.

6.2.2. Minerais em associação a cianobactérias

Em microscópio ótico interferencial de Nomarski e de polarização, foi possível observar a associação entre microcolônias de *Aphanothece* sp. e minerais precipitados na esteira (figura 18). Os minerais, que apresentam coloração amarronzada nas imagens obtidas por campo claro e contraste interferencial de Nomarski, aparecem no entorno das microcolônias sem invadir o espaço dentro das colônias onde há células vivas. Sob luz polarizada, estes minerais mostraram birrefringência. A coloração uniforme da birrefringência indica que são policristalinos, e que não há orientação preferencial dos cristais (figura 18).

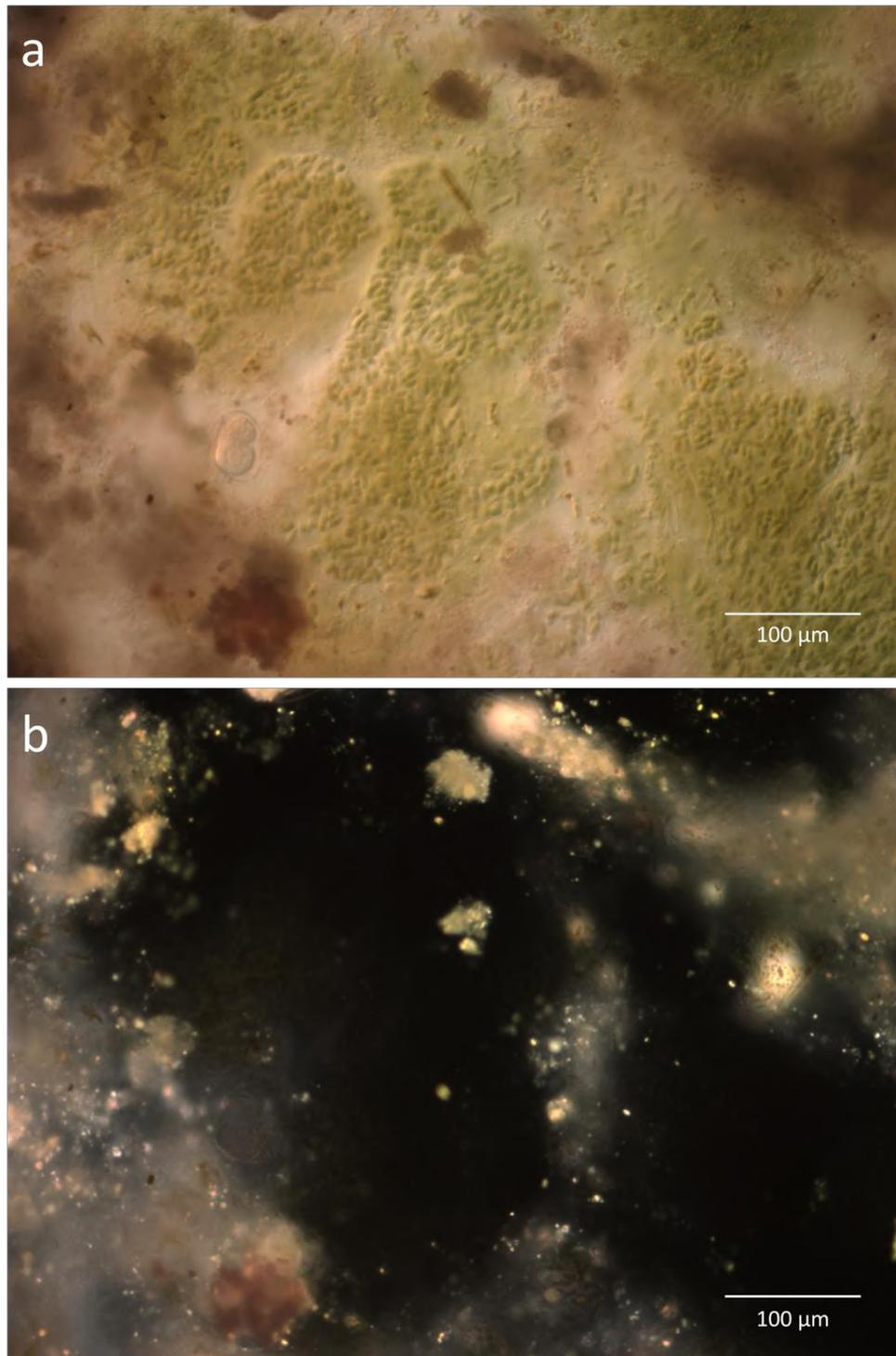


Figura 1 – Microscopia ótica de um campo dominado por microcolônias de cianobactérias (*Aphanothece sp.*) em meio a minerais autigênicos birrefringentes. **(a)** Em microscopia de contraste interferencial de Nomarski, vemos colônias de cianobactérias (em verde) envoltas por EPS e um material amarronzado; **(b)** em microscopia de polarização vemos que toda a área ao redor das colônias apresenta vários níveis de birrefringência, indicando a presença de microcristais.

6.2.3. Lâminas polidas

Nas lâminas polidas observadas em campo claro, é possível ver a grande quantidade de polissacarídeos do EPS impregnados pelo vermelho de rutênio, e que essa coloração rosada se intensifica ao redor das células, em particular nos pólos (figura 19a). O vermelho de rutênio não penetrou na amostra toda e por isso parte do EPS aparece sem coloração (figura 19a-b). Mesmo assim, fica evidente que o EPS preenche todos os espaços entre as células. A fluorescência verde é inespecífica, emitida por células impregnadas pelo glutaraldeído utilizado na fixação, e evidencia todos os microrganismos (figura 19c-d). A comparação da imagem da fluorescência verde com a imagem de campo claro mostra que a maior parte do volume desta parte da esteira consiste de EPS. A presença de clorofila é evidenciada pela fluorescência vermelha (a clorofila absorve o espectro de luz vermelho e reflete o verde, o que gera sua coloração característica), que destaca as cianobactérias presentes nos dois campos (figura 19e-f). A similaridade morfológica e a abundância (comparar figuras 14a, 17, 18) indica que estas cianobactérias são as mesmas *Aphanothece* sp. observadas nas preparações a fresco. Os cloroplastos das microalgas também são evidenciados pela fluorescência vermelha da clorofila.

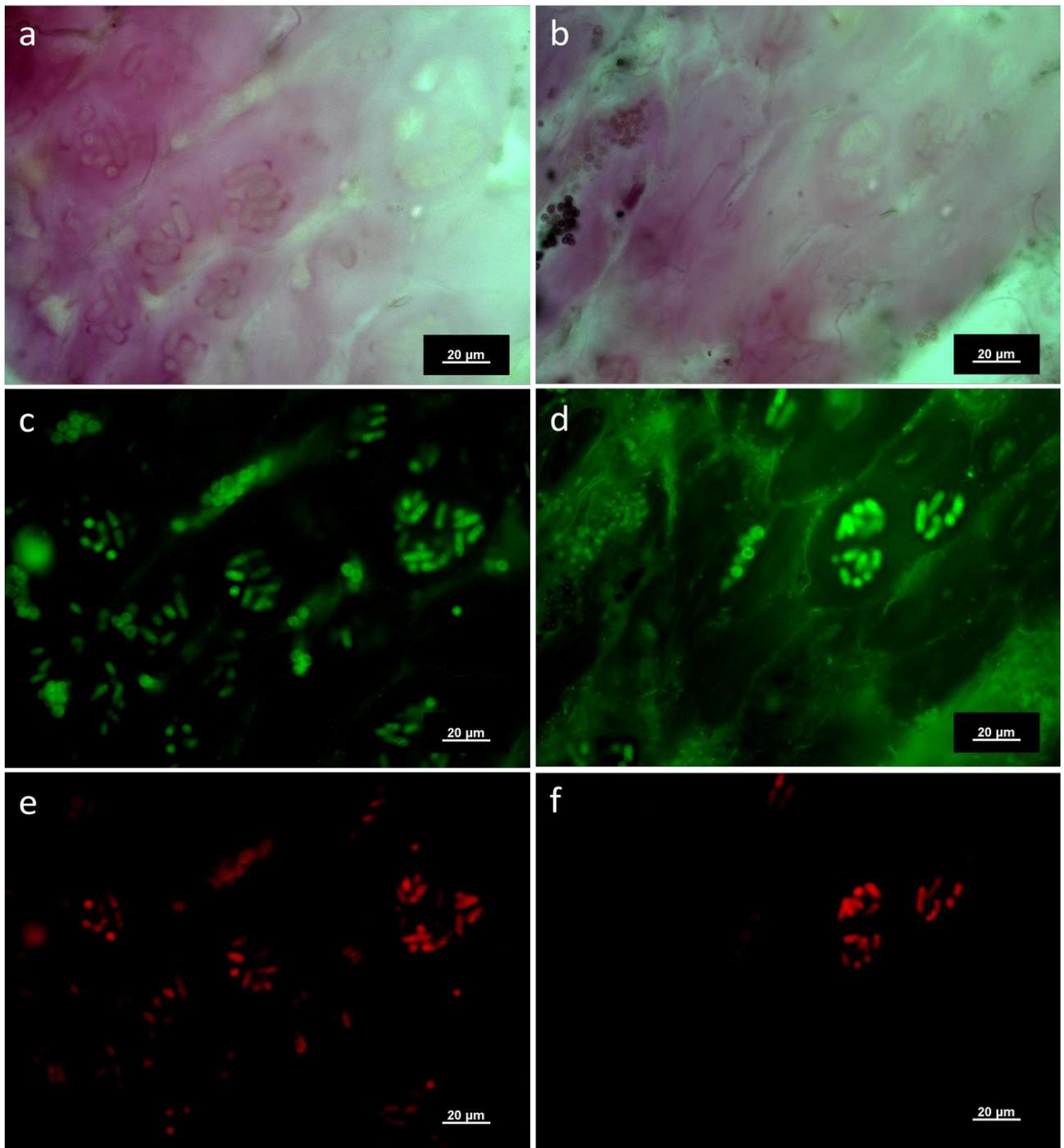


Figura 19 – Imagens de amostras polidas de esteiras microbianas mostrando dois campos distintos, cada um deles em campo claro e fluorescência. **(a-b)** Imagens de campo claro evidenciando a coloração rosada causada pela impregnação dos polissacarídeos do EPS com vermelho de rutênio. A penetração do vermelho de rutênio na amostra não foi completa, e a parte mais interna da amostra não foi corada. **(c-d)** Imagem de fluorescência verde inespecífica causada pela fixação com glutaraldeído evidencia as células bacterianas. **(e-f)** Fluorescência vermelha da clorofila identificando as cianobactérias.

6.3. Microscopia eletrônica de Varredura

A visualização das amostras de esteiras microbianas em microscópio eletrônico de varredura mostrou filamentos de cianobactérias e microcolônias de bactérias (figura 20), bem como uma grande quantidade de EPS (figuras 20-21). Foram encontrados minerais crescendo de forma botrioidal (esferoides microcristalinos associados, em forma similar a um cacho de uvas) em meio ao EPS, formando grãos policristalinos com tamanhos de cerca de 1mm (figura 21a). A forma trigonal romboédrica das extremidades é similar à de minerais do grupo da calcita (calcita, calcita magnésiana, protodolomita ou dolomita) (figura 21b).

6.3.1. Morfologia da fração mineral da esteira úmida

A fração mineral da esteira úmida consiste em grãos com morfologias variadas. As imagens feitas em amostras polidas com elétrons retro-espalhados permitiram a observação de que há pelo menos duas fases sólidas inorgânicas distintas (figura 22): uma fase com maior número atômico médio, que aparece nas imagens com aparência mais brilhante e compacta e ocorre em partículas de diferentes tamanhos, e uma fase com menor número atômico médio, de aparência fibrosa, e que aparentemente envolve a fase mais brilhante. A fase mais brilhante se apresenta em (1) grãos maiores e compactos, maiores que 10 μm de diâmetro; (2) grãos pequenos, de 5-10 μm de diâmetro, com bordas irregulares aparentando serem constituídos de micropartículas; e (3) micropartículas em geral alongadas e tamanhos de até 2-3 μm de comprimento.

Nos grãos maiores constituídos da fase mais brilhante, por vezes foram observadas microperfurações com diâmetros de cerca de 10 micrômetros de diâmetro. Nos grãos menores, não foram observadas microperfurações (figura 22).

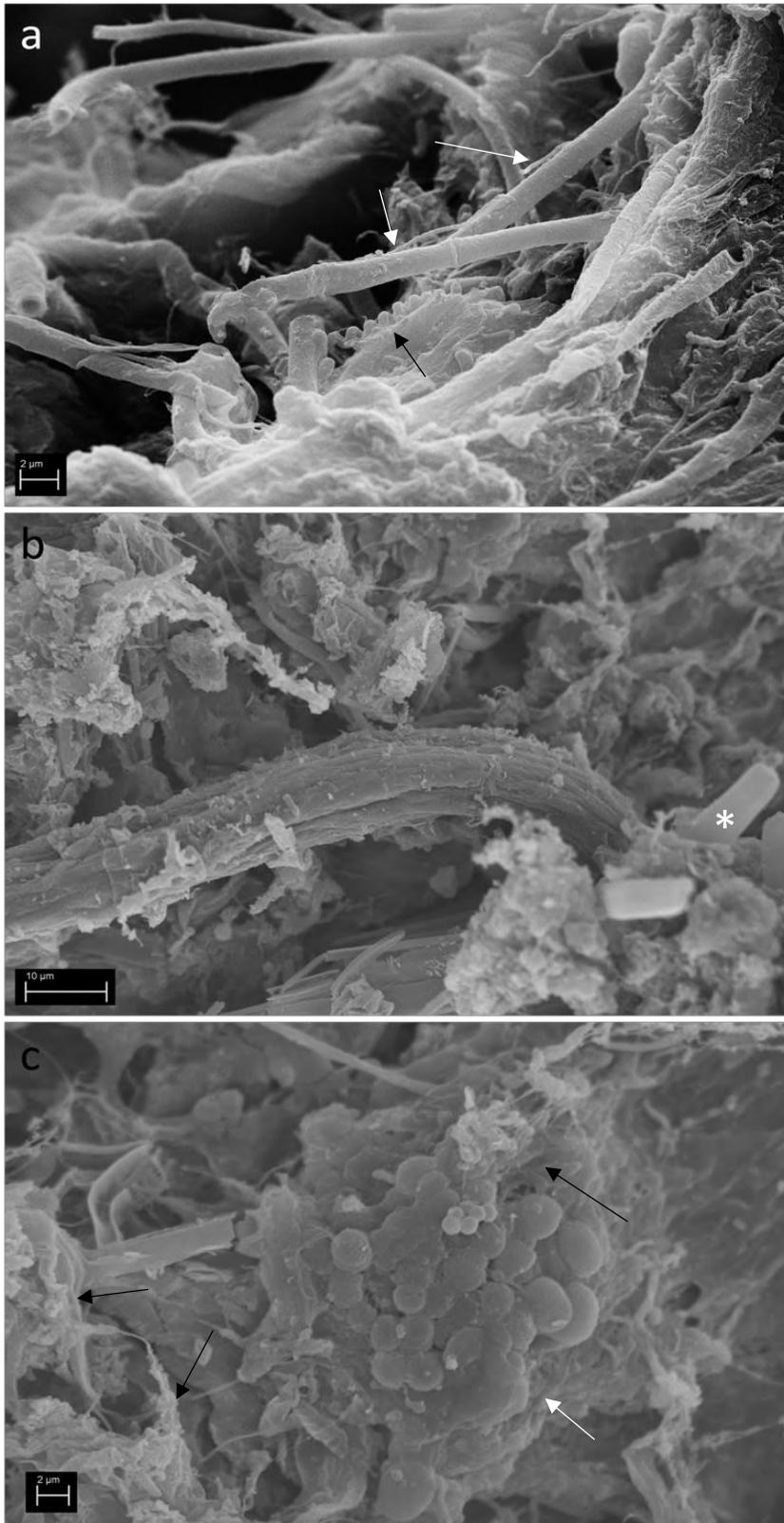


Figura 20 – Microorganismos visualizados em microscópio eletrônico de varredura (MEV) utilizando elétrons secundários. **(a)** Cianobactérias filamentosas (setas brancas) e *Halospirulina* (seta preta) em meio a EPS. **(b)** Um feixe de cianobactérias filamentosas (provavelmente *Microcoleus* sp.) em meio a EPS, outras cianobactérias filamentosas, diatomáceas (asterisco) e EPS. **(c)** Microcolônia de bactérias cocóides (seta branca). Os microrganismos observados condizem com os achados de microscopia ótica, embora seja difícil afirmar se as microcolônias em c são de cianobactérias ou de bactérias púrpuras. Note a grande quantidade de EPS (material fibroso, setas pretas) ao redor das células.

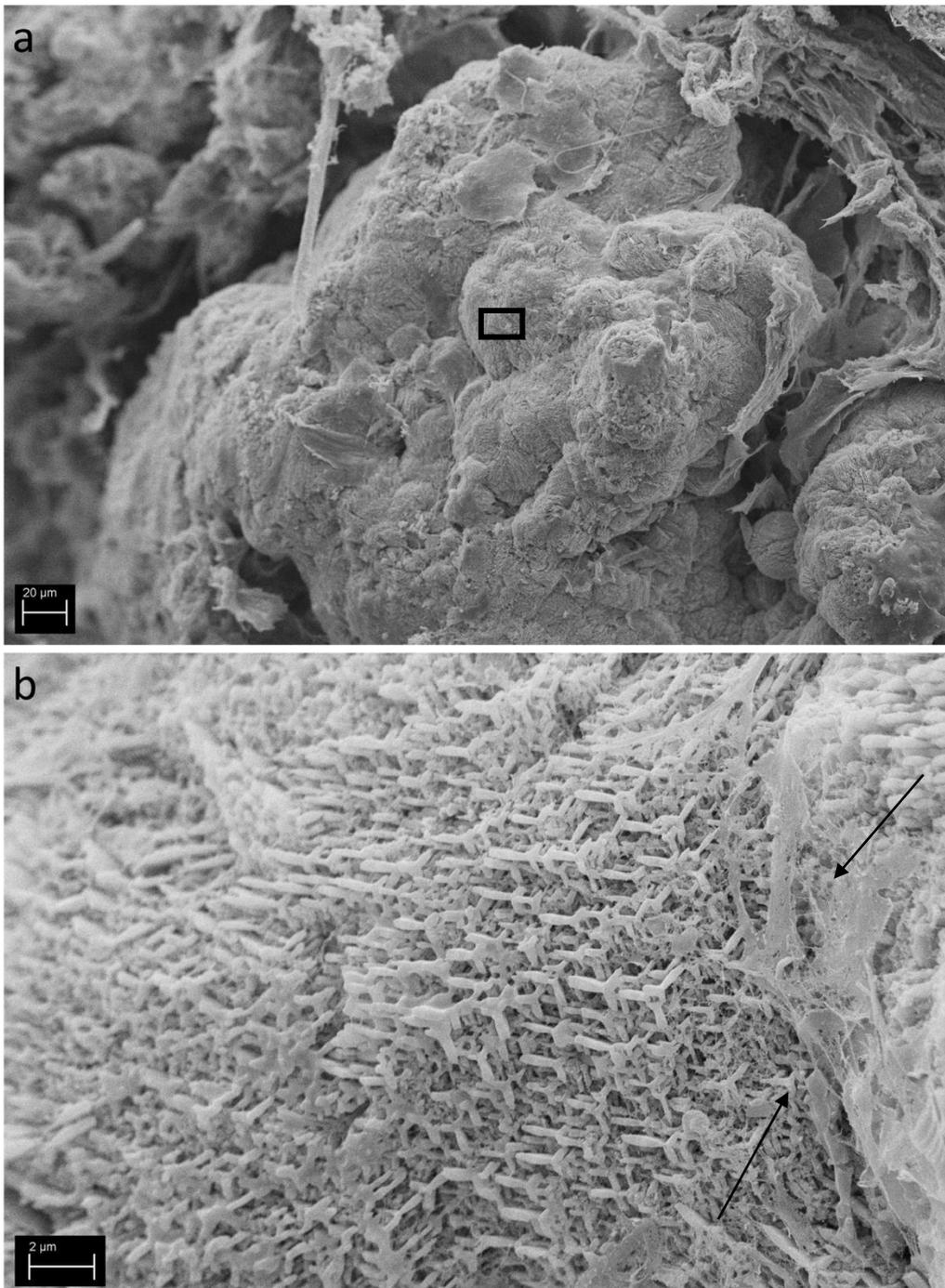


Figura 21 – Morfologia de minerais autigênicos das esteiras microbianas, conforme observação por MEV utilizando elétrons secundários. **(a)** Grão de mineral autigênico precipitado em meio ao EPS. **(b)** Maior aumento mostrando o aspecto policristalino e, em especial, a morfologia trigonal característica de minerais do grupo da calcita em crescimento. Observe também a morfologia em filamentos e lamelas do EPS, concentrados à direita da imagem e indicados pelas setas.

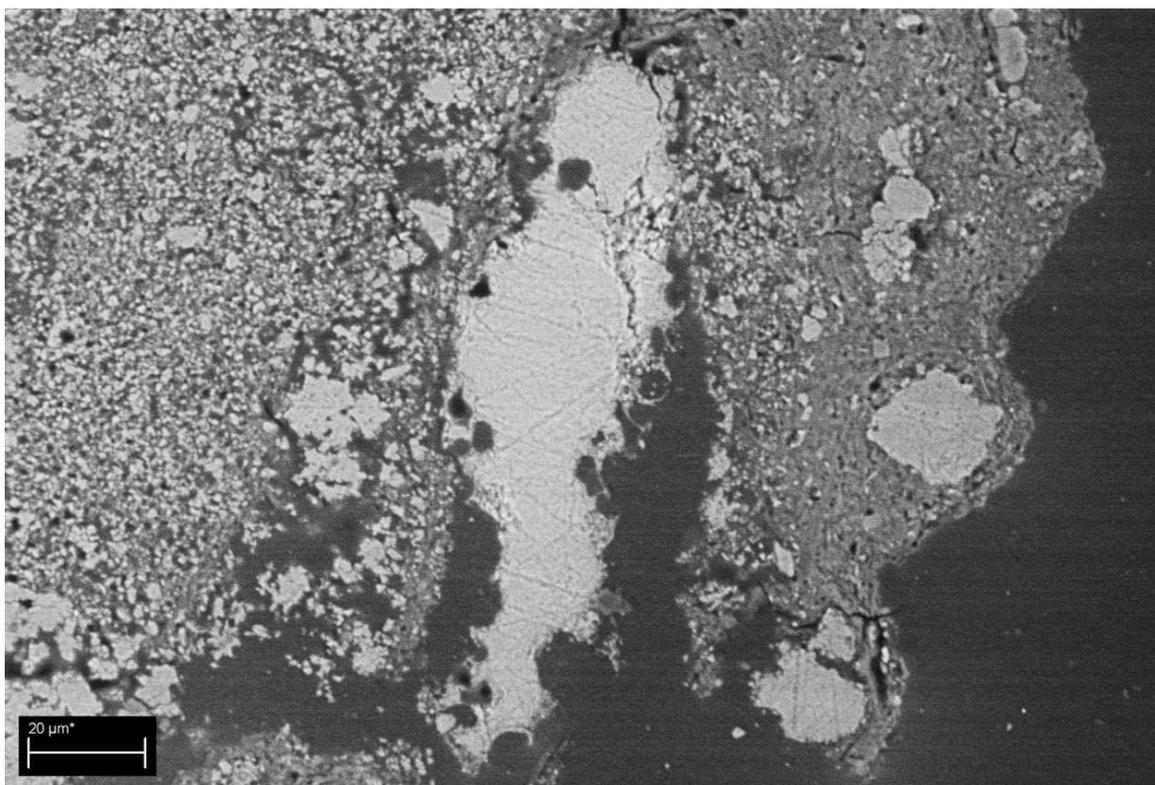


Figura 22 – MEV da fração mineral da esteira úmida, polida, utilizando elétrons retro-espalhados. O contraste evidencia dois tipos de minerais distintos em um mesmo grão (áreas mais brilhantes e intermediárias), embebidos em resina (áreas mais escuras). O mineral mais brilhante é mais uniforme, e a partícula ao centro apresenta microperforações.

6.3.2. Morfologia da fração mineral do substrato da esteira úmida

Assemelha-se ao material encontrado na esteira, contendo as mesmas duas fases inorgânicas e os mesmos tipos de grãos e micropartículas, além de conchas de foraminíferos e ostracodes. Aqui, no entanto, há predominância de partículas grandes com uma estrutura mais compacta, tanto na fase de menor número atômico médio (figura 23a) como na fase de maior número atômico médio (figura 23b). A fase de menor número atômico médio é, aparentemente, composta por um material frágil, capaz de se partir com facilidade. O material mais brilhante apresenta superfícies com textura irregular, evidenciando o caráter policristalino. As partículas maiores do material mais brilhante e as conchas apresentam frequentemente uma grande quantidade de microperforações, com diâmetro semelhante ao encontrado na fração mineral da esteira úmida (figura 24).

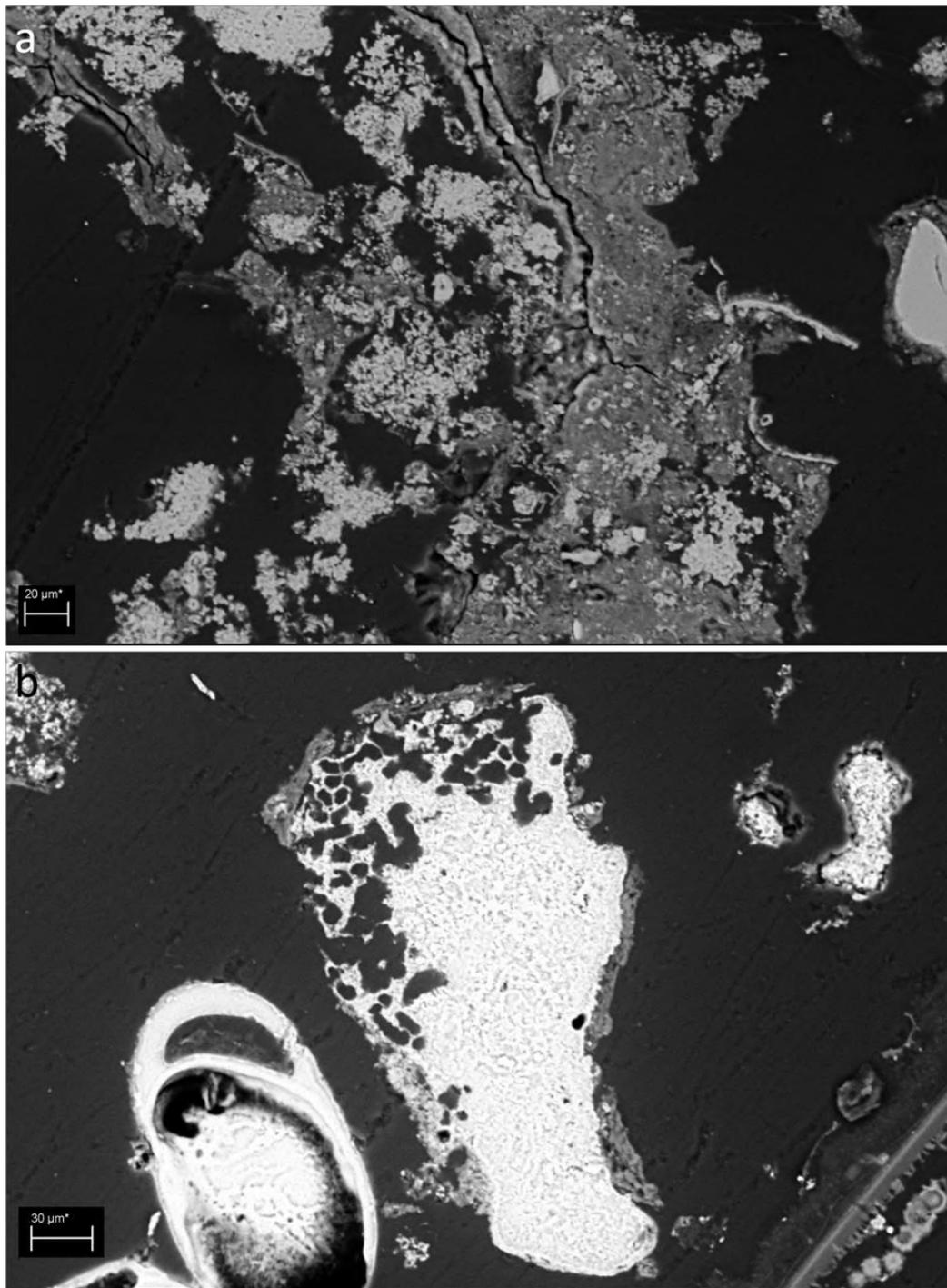


Figura 23 – MEV da fração mineral do substrato da esteira úmida utilizando elétrons retro-espalhados. Foram encontrados dois materiais distintos, um mais quebradiço e com menor número atômico médio, predominando em (a), e um mais brilhante apresentando numerosas microperfurações, predominando em (b). No canto inferior esquerdo da imagem “b”, há uma concha de foraminífero sobre a qual foi depositado um material similar ao da partícula maior, e é possível perceber a diferença textural entre o material constituinte da concha e o mineral formado nas suas superfícies internas e externa.

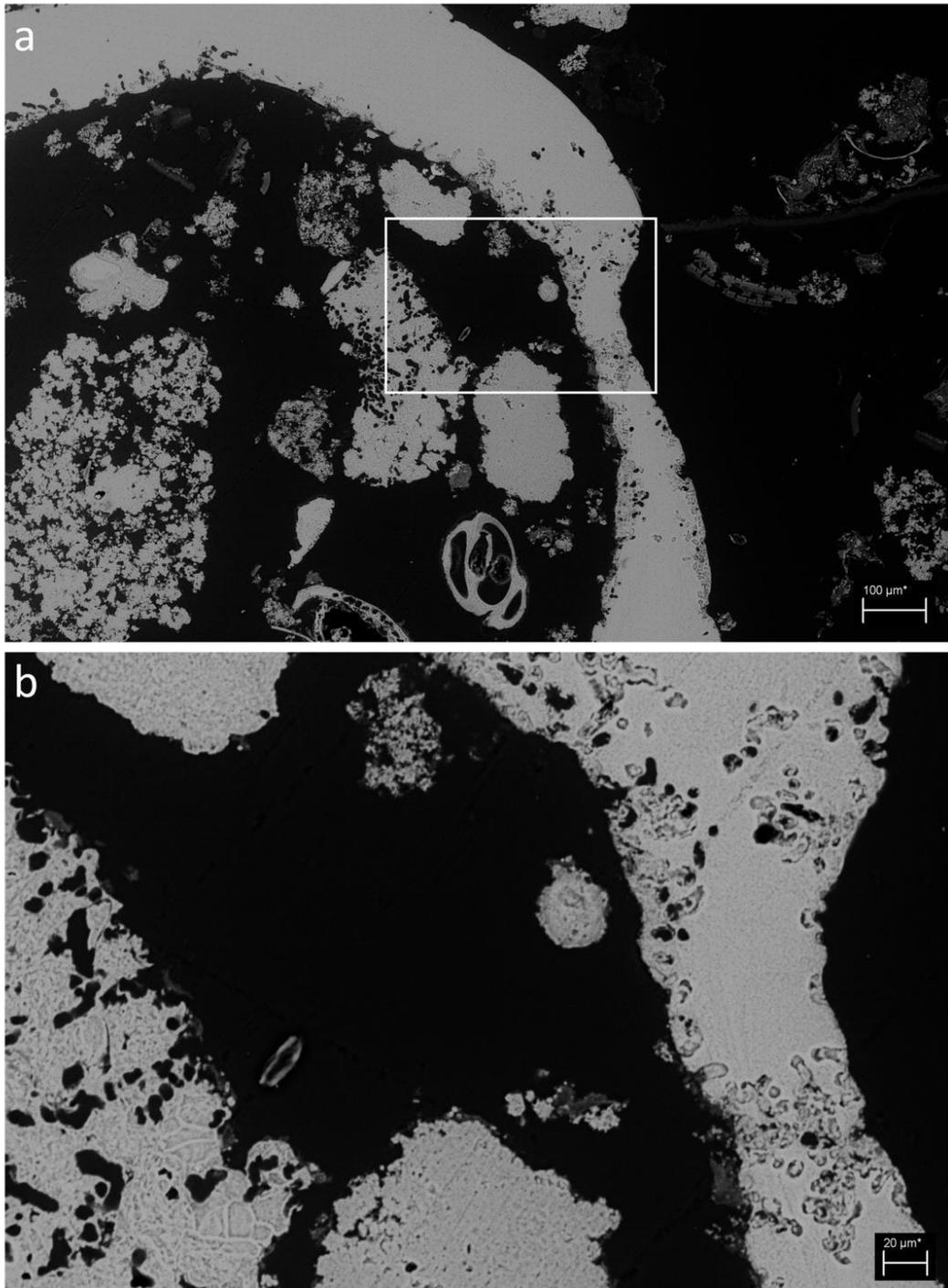


Figura 24 – MEV do substrato da esteira úmida utilizando elétrons retro-espalhados. **(a)** Concha de gastrópode bastante desgastada encontrada entre os sedimentos, repleta de microperfurações, junto a minerais autigênicos, alguns também perfurados. Embaixo também há uma concha de foraminífero. Observe a similaridade no brilho entre os minerais das conchas e os minerais autigênicos. Outras fases (à direita) apresentam brilho comparativamente menor. **(b)** Em maior aumento é possível ver a diferença textural entre o carbonato de cálcio da concha (homogêneo) e os minerais autigênicos ao redor (heterogêneos e menos compactos), bem como a similaridade no diâmetro das microperfurações.

6.3.3. Morfologia e análise elementar da fração mineral da esteira seca

A microscopia eletrônica de varredura utilizando elétrons retro-espalhados mostrou que a morfologia e o número atômico médio dos minerais autigênicos recuperados da esteira seca são similares aos minerais recuperados da esteira fresca e do substrato abaixo dela (figuras 25a e 26a). Além disso, observamos também fragmentos de conchas e grãos alóctones. Análise por EDS das diferentes fases mostrou que a fase mais brilhante contém principalmente Ca e Mg (figuras 25b e 26b), indicando que se trata de um carbonato de Ca e Mg ($\text{Ca}_{1-x}\text{Mg}_x\text{CO}_3$), enquanto que a fase menos brilhante contém principalmente Si e Mg (figura 26e), o que indica que se trata de um silicato de Mg. No mesmo campo, foram analisados um grão alóctone contendo principalmente Si e Al (figura 26a, c), consistente com um silicato de Al, e também um pedaço de concha contendo principalmente Ca (figura 26a, d), o que indica se tratar de um carbonato de Ca ($\text{Ca}_{1-x}\text{Mg}_x\text{CO}_3$, $x < 0,04$). Numerosas observações mostram os silicatos de Mg envolvendo os grãos de carbonato de Ca e Mg, o que não ocorre com grãos alóctones e conchas (figuras 25-26).

A quantificação relativa dos principais elementos encontrados nos minerais autigênicos (Mg, Ca e Si) indica que há dentre os minerais autigênicos três fases distintas: calcita magnesiana contendo 12 a 23% Mg; calcita super-magnesiana ou proto-dolomita, contendo 29 a 44% Mg; e silicatos de Mg contendo até 18% de Ca (tabela 2).

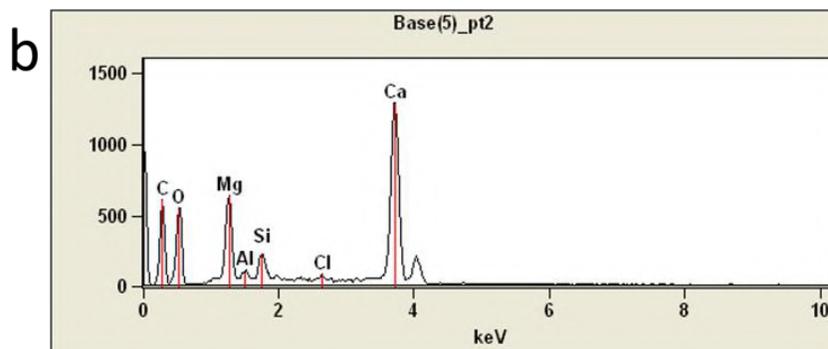
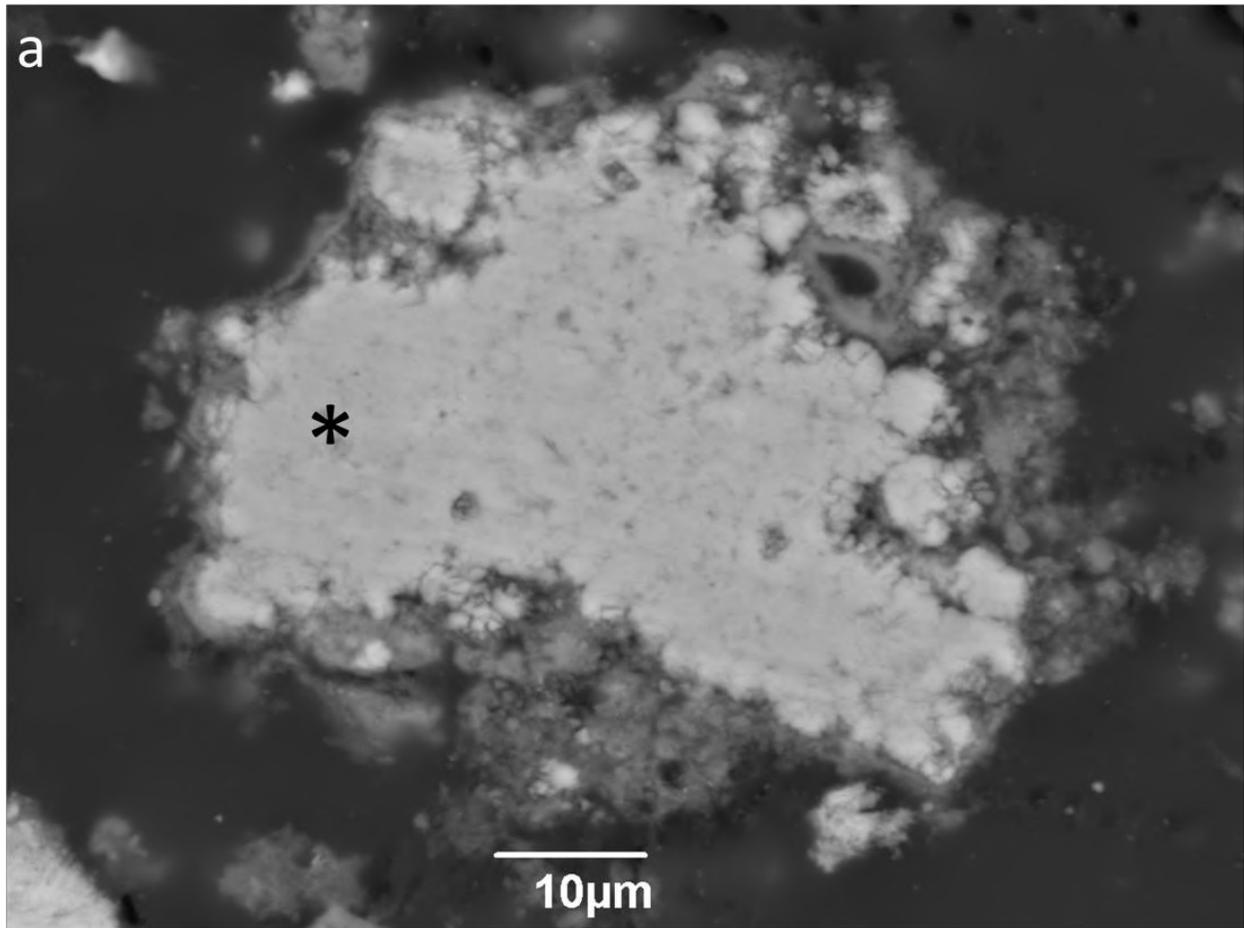


Figura 25 – MEV-EDS de um grão da esteira seca. **(a)** Imagem de elétrons retro-espalhados mostrando um grão com maior número atômico médio envolto em numerosas partículas de uma fase com menor número atômico médio. O asterisco mostra o ponto onde o espectro em **(b)** foi obtido. **(b)** Espectro de EDS mostrando principalmente picos de cálcio e magnésio, o que indica que o material mais brilhante é um carbonato de cálcio e magnésio. O pico de silício é originado no detector de Si-Li.

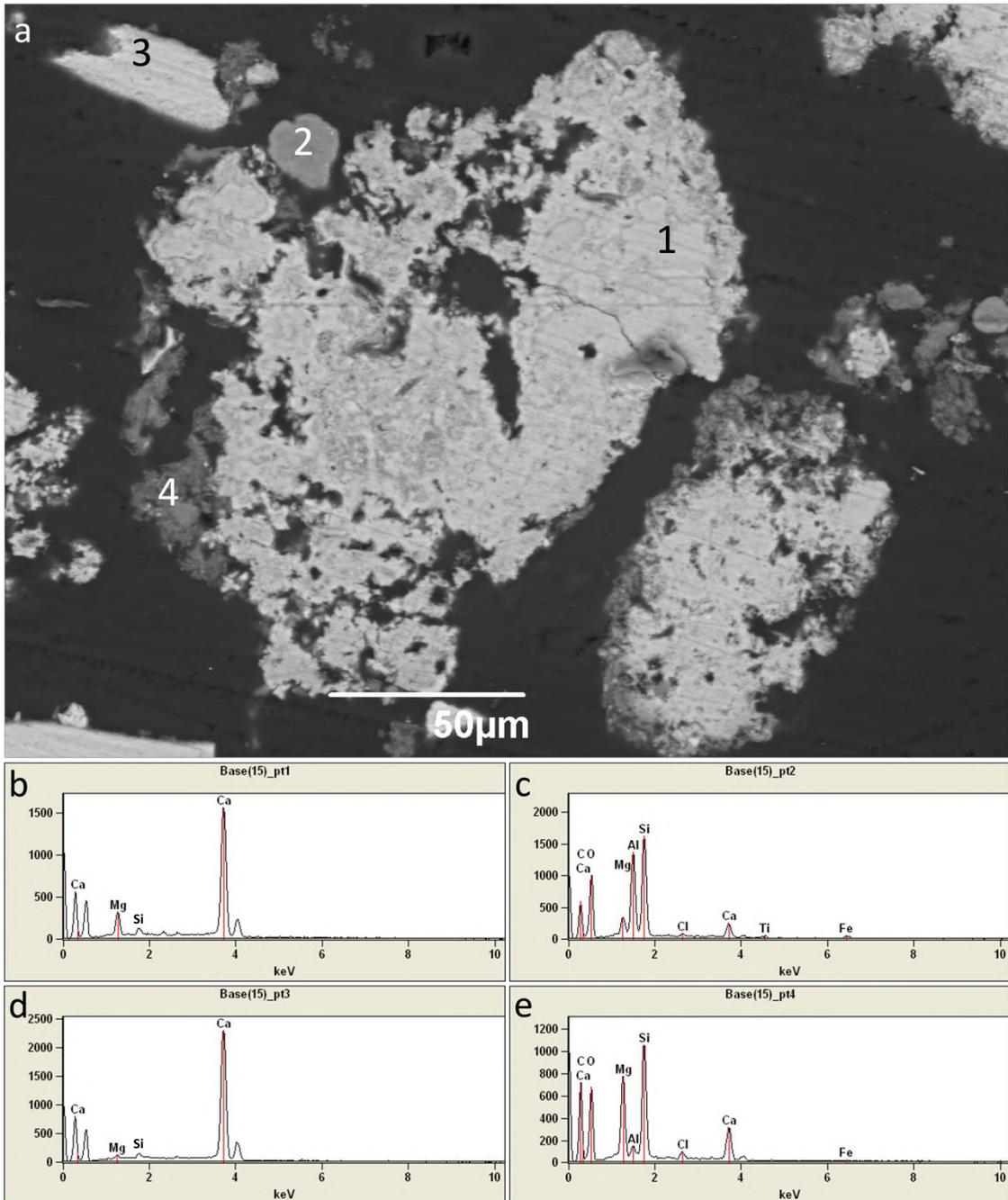


Figura 26 – MEV-EDS de grãos de minerais da esteira seca. **(a)** Imagem de elétrons retro-espalhados mostrando dois grãos autigênicos ao centro, compostos de uma fase mais brilhante cercada por uma fase menos brilhante, além de outros materiais. Os números 1-4 ilustram os locais de onde os espectros de EDS foram obtidos. **(b-d)** Espectros de EDS dos pontos marcados 1-4 na imagem em “a”. **(b)** Espectro obtido da parte mais compacta do grão maior (1), mostrando picos de cálcio e magnésio, o que indica que a parte central do grão consiste de $\text{Ca}_{1-x}\text{Mg}_x\text{CO}_3$. **(c)** Espectro obtido de um grão brilho intermediário (2), mostrando principalmente picos de silício e alumínio, o que indica um silicato de alumínio de origem alóctone. **(d)** Espectro obtido de um fragmento de concha (3) mostrando principalmente cálcio, o que indica que consiste de CaCO_3 . **(e)** Espectro obtido da fase menos brilhante (4), apresentando principalmente picos de Si e Mg, o que permite identificar o material como silicato de magnésio.

Tabela 2 – Fases identificadas através da proporção dos elementos químicos encontrados nas amostras secas (2014) por EDS utilizando o método ZAF. O silício não foi quantificado nas fases ricas em Ca e Mg, devido a presença de um pequeno sinal de Si gerado pelo detector do tipo Si(Li).

Minerais	Atomic % (EDS)			N
	Mg	Ca	Si	
Calcita magnésiana	12-23%	77-86%	—	12
Proto-dolomita	29-44%	71-56%	—	13
Silicatos de magnésio	30-36%	8-18%	52-61%	3

7. DISCUSSÃO

7.1. Diversidade de microrganismos

A esteira fresca coletada se assemelha em cor, espessura e textura às descritas por Silva *et al.* (2004). A maior parte da biomassa das camadas verdes da esteira fresca é composta por cianobactérias do gênero *Aphanothece*, que foi o mais frequentemente observado em microscópio ótico, tanto a fresco quanto em amostras polidas. De fato, *Aphanothece clathrata* foi a espécie de cianobactérias mais frequente nas esteiras microbianas no estudo de Silva *et al.* (2004). Por outro lado, Silva *et al.* (2021) observaram que *Microcoleus chthonoplastes* era o microrganismo dominante nas camadas superiores das esteiras microbianas da Lagoa Vermelha. A diversidade de diferentes tipos de esteiras microbianas com diferentes composições de cianobactérias na Lagoa Vermelha já é conhecida (Silva *et al.*, 2004; Silva e Carvalhal, 2005) e ilustra a diversidade de micro-ambientes dentro da lagoa. Diversos fatores influenciam essa diversidade, como as variações de pH e salinidade em regiões próximas às salineiras, a captação de água da Lagoa de Araruama por meio de um canal artificial e até as variações de profundidade, visto que na estação seca as esteiras microbianas mais próximas às margens ficam expostas ao ar e a dessecação, devido as altas taxas de evaporação (Silva *et al.*, 2004; Silva e Carvalhal, 2005; Pennafirme *et al.*, 2017).

Além de ser o microrganismo dominante na camada superior da esteira, observamos que colônias de *Aphanothece* sp. em decomposição ocupam a maior parte do volume das camadas avermelhadas abaixo, o que indica que matéria orgânica produzida por *Aphanothece* sp. compõe a maior parte da matéria orgânica destas duas camadas da esteira. De fato, Silva *et al.* (2021) mostraram distribuição decrescente da quantidade de lipídeos conforme a profundidade em esteiras da Lagoa Vermelha, o que indica que a maior parte destes é produzida na camada superficial. A prevalência de alquenos n-C_{17:1} é típica de lipídeos produzidos por cianobactérias (Silva *et al.*, 2021).

As colônias de bactérias púrpuras sulfurosas foram encontradas principalmente na camada avermelhada, mas também ocorrem nas camadas verdes, em meio a *Aphanothece* sp. Estas foram identificadas como sendo da família *Chromatiaceae* pela presença de glóbulos de enxofre no periplasma (Prange *et al.*, 2004). Apesar de seu metabolismo fototrófico anoxigênico, algumas espécies de *Chromatiaceae* apresentam tolerância ao oxigênio, mantendo seu metabolismo ativo (Overmann e Pfennig, 1992), o que pode explicar sua presença nas camadas verdes da esteira, onde há produção de O₂ por cianobactérias e microalgas na presença de luz. Vasconcelos *et al.* (2006) identificaram bactérias púrpuras sulfurosas das esteiras microbianas da Lagoa Vermelha como sendo provavelmente *Thiocystis* sp., porém atualmente este gênero contém apenas espécies móveis por meio de flagelos e que habitam ambientes de água doce, salobra e marinha, não tendo sido descritas em ambientes hipersalinos. A tolerância e a necessidade de sódio é um parâmetro importante para a taxonomia das *Chromatiaceae* (Imhoff *et al.*, 1998). Devido às condições extremas de salinidade da Lagoa Vermelha, os eucariotos estão presentes em pequena quantidade e baixa diversidade nas esteiras microbianas (Silva *et al.*, 2004).

Nas amostras polidas observadas em MEV equipado com detectores de elétrons retro-espalhados, observamos também microperfurações em carbonatos autógenos e também em conchas. A forma alongada e o diâmetro homogêneo das microperfurações indicam que estas tenham sido feitas por cianobactérias filamentosas endolíticas, perfurantes. Embora pareça antagônico, visto que a fotossíntese é conhecida por estimular a precipitação de carbonatos, e que a Lagoa Vermelha seja um ambiente propício à precipitação, estas cianobactérias perfurantes são especializadas em escavar carbonatos de Ca, utilizando um mecanismo de transporte de Ca²⁺ trans-celular mediado por uma ATPase do tipo P, que causa sub-saturação em relação ao CaCO₃ no microambiente próximo à célula apical, e este mecanismo se mantém ativo mesmo durante a

realização da fotossíntese (Garcia-Pichel, Ramírez-Reinat e Gao, 2010; Ramírez-Reinat e Garcia-Pichel, 2012; Guida e Garcia-Pichel, 2016). Micro-perfurações já foram observadas nos estromatólitos da Lagoa Vermelha (Keim *et al.*, 2020; Keim e Farina, 2023; Shiraishi *et al.*, 2023). A observação da fluorescência vermelha da clorofila dentro das microperfurações dos estromatólitos indica que elas foram feitas por cianobactérias (Keim e Farina, 2023; Shiraishi *et al.*, 2023). Shiraishi *et al.* (2023) identificaram estas cianobactérias como *Hyella* (cianobactérias croococoides que formam pseudofilamentos, nos quais as células são mantidas juntas por suas bainhas (Bornet e Flahault, 1888 *apud* Jung *et al.*, 2021), mas sem explicar como foi feita esta identificação. O gênero *Hyella* é o mais conhecido dentre as cianobactérias perfurantes, porém não foi identificado anteriormente em esteiras microbianas e estromatólitos da Lagoa Vermelha (Silva *et al.*, 2004, 2021; Silva e Carvalho, 2005), nem foi encontrado entre os microrganismos identificados pelo rDNA 16S da mesma amostra (Shiraishi *et al.*, 2023).

7.2. Os minerais das esteiras microbianas

Tanto em microscópio estereoscópico quanto em microscopia ótica e MEV convencional, foi possível observar minerais associados a EPS e/ou às superfícies externas de *Aphanothece* sp. vivas ou degradadas. Em microscopia de contraste diferencial interferencial de Nomarski e polarização, foi observada a presença de minerais birrefringentes, tanto grãos policristalinos quanto micropartículas monocristalinas, ao redor das colônias de cianobactérias. O fato de que não foram observados minerais dentro das colônias de *Aphanothece* sp. indica que há inibição da precipitação no interior das microcolônias, podendo haver estímulo à precipitação na superfície das microcolônias.

Em particular, em microscopia eletrônica de varredura convencional foram encontrados grãos de minerais policristalinos em meio ao EPS, porém com essa técnica não foi possível verificar se este EPS estava ou não impregnado por silicatos de Mg. Os microcristais que formam estes grãos mostram a morfologia trigonal típica de carbonatos de Ca e Mg autigênicos de esteiras microbianas, (ex. Perri *et al.*, 2018). A forma botrioidal indica crescimento radial. É tentador associar estes grãos àqueles observados nas amostras polidas, já que o tamanho dos grãos e dos microcristais é similar, porém o aspecto botrioidal não foi observado nas amostras polidas.

Nas amostras oriundas da esteira úmida e seu substrato, assim como nas amostras da esteira seca, foram encontradas pelo menos duas fases inorgânicas autigênicas, classificadas como calcita magnesiana/proto-dolomita e silicatos de Mg. A precipitação destas fases já foi descrita em esteiras microbianas da Lagoa Vermelha (Vasconcelos *et al.*, 2006; Pacton *et al.*, 2014; Areias *et al.*, 2022; Guedes *et al.*, 2022), o que confirma nossos achados. A maioria dos trabalhos encontrou aragonita, calcita, calcita magnesiana e protodolomita nas esteiras microbianas da L. Vermelha (Höhn *et al.*, 1986; Vasconcelos *et al.*, 2006; Areias *et al.*, 2022; Guedes *et al.*, 2022). Estes trabalhos utilizaram difração de raios X para identificação dos minerais cristalinos; fases amorfas ou fracamente cristalinas não são identificadas por esta técnica. Silicatos de Mg também já foram encontrados anteriormente nas esteiras microbianas da L. Vermelha, sempre utilizando microscopia eletrônica de transmissão ou de varredura acoplado a EDS ou Nano-SIMS (nanoscale secondary ion mass spectroscopy) (Pacton *et al.*, 2014; Guedes *et al.*, 2022). É interessante notar que os carbonatos de Ca e Mg são os principais minerais encontrados em estromatólitos da Lagoa Vermelha (Spadafora *et al.*, 2010; Keim *et al.*, 2020), havendo uma única menção à presença de silicatos de Mg em estromatólitos (Keim *et al.*, 2020). Embora observada em trabalhos anteriores (Höhn *et al.*, 1986; Areias *et al.*, 2022; Guedes *et al.*, 2022), não observamos aragonita na esteira seca, o que foi atestado pela presença de concentrações relativamente grandes de Mg nos carbonatos de Ca, conforme Yoshioka *et al.* (1986) e Sunagawa *et al.* (2007).

O processo de organo-mineralização se dá por uma interação complexa entre o metabolismo microbiano, a matriz orgânica e os parâmetros ambientais (Dupraz & Visscher, 2005; Visscher *et al.*, 2010). Silicatos de Mg têm sido encontrados em esteiras microbianas, estando relacionados sempre ao EPS (Pace *et al.*, 2018). A precipitação de silicatos de Mg poderia ser favorecida nas camadas superiores das esteiras microbianas, dominadas por microrganismos fototróficos oxigênicos, devido ao sequestro de íons Ca^{2+} pelo EPS em pH alcalino (Pace *et al.*, 2018). Com isso, o Mg se liga a outros compostos, principalmente silício, e conforme o EPS é degradado este cálcio é liberado, aumentando o SI e favorecendo a precipitação (Dupraz e Visscher, 2005; Guedes *et al.*, 2022).

Embora os silicatos de Mg tenham sido descritos anteriormente em esteiras microbianas da Lagoa Vermelha (Pacton *et al.*, 2014; Guedes *et al.*, 2022), nossos resultados se diferenciam do que foi encontrado anteriormente em virtude da observação da fração mineral sem a presença da fração orgânica, que foi obtida através da oxidação da matéria orgânica pelo NaOCl, e também

da utilização de microscopia eletrônica de varredura em aumentos maiores que os utilizados anteriormente por Guedes *et al.* (2022). Nas imagens de MEV de amostras polidas, identificamos grãos policristalinos de carbonatos de Ca e Mg se formando em meio a uma matriz de silicatos de Mg, conforme já havia sido descrito por Guedes *et al.* (2022). Isso indica que os silicatos de Mg seriam uma fase precursora dos carbonatos de Ca e Mg nas esteiras microbianas da Lagoa Vermelha, sendo gradualmente substituídos por carbonatos de Ca e Mg, não sendo preservados na maior parte da estrutura litificada dos estromatólitos. De fato, Keim *et al.* (2020) observaram pequenas áreas de silicatos de Mg em meio a proto-dolomita em um estromatólito da Lagoa Vermelha, e sugeriram que seriam resquícios de uma fase precursora da proto-dolomita.

Além disso, observamos também numerosos microcristais de calcita ou proto-dolomita em meio a uma matriz de silicatos de Mg, o que não foi observado anteriormente. A comparação desses microcristais com os grãos maiores sugere que estes surgem a partir do crescimento de numerosos microcristais individuais, que se encontram durante o crescimento, cimentando-se entre si. A nucleação de cristais adicionais de calcita magnesiana/protodolomita sobre os cristais já formados levaria a uma cimentação mais completa, formando grãos compactos.

No processo de substituição dos silicatos de Mg por calcita magnesiana e protodolomita, os íons Mg^{2+} seriam incorporados ao carbonato em crescimento, enquanto os íons silicato seriam exportados. A substituição dos silicatos de Mg por calcita magnesiana e protodolomita explicaria as concentrações relativamente altas de Mg destes carbonatos, já que a dissolução dos silicatos de Mg seria uma fonte adicional de Mg.

7.3. Comparação com outras lagoas

A precipitação de carbonatos de Ca e Mg e de silicatos de Mg tem sido observada também em outros locais (Castro-Contreras *et al.*, 2014; Burne *et al.*, 2014; Gomez *et al.*, 2018; Pace *et al.*, 2018; Wacey *et al.*, 2018). Há ambientes onde foi observada a precipitação direta de carbonatos de Ca (Castro-Contreras *et al.*, 2014; Gomez *et al.*, 2018), e outros onde os silicatos de Mg aparecem como fases precursoras (Burne *et al.*, 2014; Pace *et al.*, 2018; Wacey *et al.*, 2018). Em um ambiente hipersalino, os silicatos de Mg são precipitados nas camadas superiores da esteira (Pace *et al.*, 2018); em outro local, foi observado que o silício era oriundo da dissolução da opala das diatomáceas (Burne *et al.*, 2014). Com a diagênese, os silicatos de Mg são

substituídos por aragonita (CaCO_3) (Burne *et al.*, 2014; Wacey *et al.*, 2018). Na Lagoa Vermelha, é provável que haja substituição dos silicatos de Mg por calcita magnésiana e protodolomita durante a diagênese das esteiras microbianas. Foi proposto que as concentrações relativamente altas de Mg na calcita magnésiana e protodolomita dos estromatólitos da Lagoa Vermelha seriam um resquício da substituição de silicatos de Mg por calcita magnésiana/protodolomita (Keim *et al.*, 2020).

8. CONCLUSÃO

A olho nu, a estrutura das esteiras microbianas da Lagoa Vermelha apresenta divisões bem definidas entre as camadas de microrganismos, que apresentam cores diferentes. No entanto, esta divisão se dilui a níveis microscópicos, ainda que não seja possível estimar, com as técnicas empregadas neste estudo, as dimensões reais desta mistura. A diversidade morfológica dos microrganismos presentes é grande e mais estudos são necessários para identificar quais gêneros de cianobactérias compõem de fato a biomassa e quais deles estariam diretamente relacionados à precipitação de minerais, embora tenham sido observados microcristais de minerais impregnados no EPS de cianobactérias do gênero *Aphanotece* e que esse gênero tenha sido o mais observado nas microscopias realizadas. Os carbonatos autigênicos presentes apresentam aspecto botrioidal, o que os diferencia de outros carbonatos e está relacionado às características físico-químico-biológicas do microambiente onde foi precipitado.

Neste trabalho, identificamos que o processo de precipitação de calcita magnésiana e protodolomita ainda ocorre nas esteiras microbianas da Lagoa Vermelha. Com base nos processos descritos em outros locais e nas observações de outros pesquisadores, concluímos que este processo provavelmente ocorre a partir de silicatos de Mg, pelo processo de nucleação heterogênea com posterior substituição. Além disso, foram encontradas numerosas microperfurações feitas por cianobactérias endolíticas em grãos de carbonatos autigênicos e em conchas de gastrópodes e ostracodes, levando à dissolução destes minerais. Estas observações mostram que os microrganismos das esteiras microbianas da Lagoa Vermelha realizam processos que levam à precipitação de minerais autigênicos e podem também participar da dissolução dos carbonatos, autigênicos ou não, a depender das condições ambientais.

9. REFERÊNCIAS

- Al Disi, Z.A., Zouari, N., Attia, E., Al-Asali, M., Al-Kuwari, H.S., Sadooni, F., Dittrich, M. e Bontognali, T.R.R. (2021). Systematic laboratory approach to produce Mg-rich carbonates at low temperature. *RSC Adv.* 11, 37029. DOI: 10.1039/d1ra06206a
- Allwood, A.C., Walter, M.R., Kamber, B.S., Marshall, C.P. e Burch, I.W. (2006). Stromatolite reef from the Early Archaean era of Australia. *Nature* 441, 714–718. <https://doi.org/10.1038/nature04764>
- Areias, C., Barbosa, C.F., Cruz, A.P.S., McKenzie, J.A., Ariztegui, D., Eglinton, T., Haghypour, N., Vasconcelos, C. e Sánchez-Román, M. (2022). Organic matter diagenesis and precipitation of Mg-rich carbonate and dolomite in modern hypersaline lagoons linked to climate changes. *Geochim. Cosmochim. Acta* 337, 14-32. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2022.09.030>.
- Awramik, S. (2006). Respect for stromatolites. *Nature* 441, 700–701.
- Awramik, S.M. (1991). Archaean and Proterozoic Stromatolites. In: *Calcareous Algae and Stromatolites*. Riding, R., ed. (Berlin, Heidelberg: Springer), pp. 289-304. https://doi.org/10.1007/978-3-642-52335-9_15
- Awramik, S. M. (1992). The history and significance of stromatolites. In: *Early Organic Evolution: Implications For Mineral And Energy Resources*. Schidlowski, M., Golubic, S., Kimberley, M. M., McKirdy, D. M., Trudinger, P. A. (ed). Springer-Verlag, pp. 435-449.
- Balci, N., Gunes, Y., Kaiser, J., On, S.A., Eris, K., Garczynski, B. e Horgand B.H.N. (2020). Biotic and Abiotic Imprints on Mg-Rich Stromatolites: Lessons from Lake Salda, SW Turkey. *Geomicrobiol. J.* 37, 401–425. DOI: 10.1080/01490451.2019.1710784
- Bidegain, P. e Pereira, L.F.M. (2005). Plano das Bacias Hidrográficas da Região dos Lagos e do Rio São João – Rio de Janeiro. Consórcio Intermunicipal para Gestão das Bacias Hidrográficas da Região dos Lagos, Rio São João e Zona Costeira – CILSJ. 153 p. <https://www.cbhlagossaojoao.org.br/wp-content/uploads/2021/03/Plano-Bacia-LSJ.pdf>
- Burne, R.V., Moore, L.S., Christy, A.G., Troitzsch, U., King, P.L., Carnerup, A.M. e Hamilton, P. J. (2014). Stevensite in the modern thrombolites of Lake Clifton, Western Australia: a missing link in microbialite mineralization?. *Geology* 42, 575-578. <http://dx.doi.org/10.1130/g35484.1>.
- Carvalho, C., Oliveira, M.I.N., Macario, K., Guimarães, R.B., Keim, C.N., Sabadini-Santos, E. e Crapez, M.A.C. (2018). Stromatolite growth in Lagoa Vermelha, Southeastern coast of Brazil: evidence of environmental changes. *Radiocarbon* 60, 383–393. DOI:10.1017/RDC.2017.126
- Castro-Contreras, S.I., Gingras, M.K., Pecoits, E., Aubet, N.R., Petrash, D., Castro-Contreras, S.M., Dick, G., Planavsky, N. e Konhauser, K.O. (2014). Textural and geochemical features of freshwater microbialites from Laguna Bacalar, Quintana Roo, Mexico. *Palaios* 29, 192-209. <http://dx.doi.org/10.2110/palo.2013.063>.
- Costa, E.C.P., Dos Santos, M.P., Da Silva, J.G.O. e Seabra, V.S. (2022). Mapeamento multitemporal e cadastral das salinas da Lagoa de Araruama – RJ. *GEOgraphia* 24(53), 1–24.
- CPRM – Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais (2000). Geologia do Estado do Rio de Janeiro. Programa Levantamentos Geológicos Básicos do Brasil. 94 p. Reúne mapas e dados acerca da geologia e mineralogia do Estado do Rio de Janeiro e sua evolução. Disponível em: http://rigeo.cprm.gov.br/jspui/bitstream/doc/17229/4/rel_proj_rj_geologia.pdf

- Dean, W.E. (1999). The carbon cycle and biogeochemical dynamics in lake sediments. *J. Paleolimnol.* 21, 375–393.
- Dedavid, B. A. (2007). Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores. EDIPUCRS.
- Défarage, C. (2011). Organomineralization. In: *Encyclopedia of Geobiology. Encyclopedia of Earth Sciences Series.* Reitner, J. e Thiel, V., eds. (Dordrecht: Springer). Pp 697-701. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9212-1_159
- Del Buey, P., Sans-Montero, M.E., Braissant, O., Cabestreto, Ó. e Visscher, P.T. (2021). The role of microbial extracellular polymeric substances on formation of sulfate minerals and fibrous Mg-clays. *Chem. Geol.* 581, 120403. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemgeo.2021.120403>.
- Dupraz, C. e Visscher, P.T. (2005). Microbial lithification in marine stromatolites and hypersaline mats. *Trends Microbiol.* 13, 429-438.
- Farina, M. (1998). Fundamentos de Microscopia Analítica para Biólogos. In: de Souza, W. Técnicas básicas de microscopia eletrônica aplicadas às ciências biológicas. Sociedade Brasileira de Microscopia, Rio de Janeiro, pp. 161-177.
- Fontes, Alessandro H.N.B. (2013). Invasão biológica de *Casuarina equisetifolia* na Restinga de Massambaba: estrutura, riqueza e regeneração. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) — Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 53 f.
- Franks, J. e Stolz, J.F. (2009). Flat laminated microbial mat communities. *Earth-Sci. Rev.* 96, 163–172.
- Garcia-Pichel, F., Ramírez-Reinat, E. e Gao, Q. (2010). Microbial Excavation of Solid Carbonates Powered by P-Type ATPase-Mediated Transcellular Ca²⁺ Transport. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 107, 21749–21754. <https://doi.org/10.1073/pnas.1011884108>.
- Gemerden, H. (1993) Microbial mats: A joint venture. *Mar. Geol.* 113, 3–25. [https://doi.org/10.1016/0025-3227\(93\)90146-M](https://doi.org/10.1016/0025-3227(93)90146-M)
- Gomez, F.J., Mlewski, C., Boidi, F.J., Farías, M.E., Gérard e E. (2018). Calcium Carbonate Precipitation in Diatom-rich Microbial Mats: the Laguna Negra hypersaline lake, Catamarca, Argentina. *J. Sediment. Res.* 88, 727-742. <http://dx.doi.org/10.2110/jsr.2018.37>.
- Grotzinger, J. e Rothman, D. (1996). An abiotic model for stromatolite morphogenesis. *Nature* 383, 423–425. <https://doi.org/10.1038/383423a0>
- Guedes, C.B., Arena, M.C., Santos, H.N., Valle, B., Santos, J.A., Favoreto, J. e Borghi, L. (2022). Sedimentological and geochemical characterization of microbial mats from Lagoa Vermelha (Rio de Janeiro, Brazil). *J. Sediment. Res.* 92, 591-600. <http://dx.doi.org/10.2110/jsr.2021.072>.
- Guida, B.S. e Garcia-Pichel, B. (2016). Extreme Cellular Adaptations and Cell Differentiation Required by a Cyanobacterium for Carbonate Excavation. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 113, 5712–5717. <https://doi.org/10.1073/pnas.1524687113>.
- Höhn, A., Tobschall, H.J. e Maddock, J.E.L. (1986). Biogeochemistry of a hypersaline lagoon east of Rio de Janeiro city, Brazil. *Sci. Total Environ.* 58, 175-185. DOI: [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(86\)90086-0](https://doi.org/10.1016/0048-9697(86)90086-0)
- Imhoff, J.F., Süling, J. e Petri, R. (1998). Phylogenetic relationships among the *Chromatiaceae*, their taxonomic reclassification and description of the new genera *Allochromatium*, *Halochromatium*, *Isochromatium*,

Marichromatium, *Thiococcus*, *Thiohalocapsa* and *Thermochromatium*. Int. J. Syst. Bacteriol. 48, 1129-1143. <https://doi.org/10.1099/00207713-48-4-1129>

Jung, P., D'Agostino, P.M., Brust, K., Büdel, B. e Lakatos M. (2021). Final Destination? Pinpointing *Hyella disjuncta* sp. nov. PCC 6712 (Cyanobacteria) Based on Taxonomic Aspects, Multicellularity, Nitrogen Fixation and Biosynthetic Gene Clusters. Life (Basel). 11(9), 916. doi: 10.3390/life11090916.

Keim, C.N. e Farina, M. (2023). Death and taphonomy of Holocene stromatolites from Lagoa Vermelha, Brazil. C. R. Géosci 355, 259–277. doi: 10.5802/crgeos.201.

Keim, C.N., Santos, H.N., Santiago, C.S., Pennafirme, S., Neumann, R., Schnellrath, J., Lima, I., Crapez, M.A.C. e Farina, M. (2020). Microstructure and mineral composition of Holocene stromatolites from Lagoa Vermelha, a hypersaline lagoon in Brazil: Insights into laminae genesis. J. Sediment. Res. 90, 887–905. <https://doi.org/10.2110/jsr.2020.40>

Komárek, J. (2018). Delimitation of the family *Oscillatoriaceae* (Cyanobacteria) according to the modern polyphasic approach (introductory review). Braz. J. Bot. 41, 449–456. <https://doi.org/10.1007/s40415-017-0415-y>

Komárek, J., Kastovsky, J. e Jezberova, J. (2011). Phylogenetic and taxonomic delimitation of the cyanobacterial genus *Aphanothece* and description of *Anathece* gen. nov. Eur. J. Phycol. 46, 315–326. DOI: 10.1080/09670262.2011.606373

Laut, L., Martins, M.V.A., Frontalini, F., Ballalai, J.M., Belart, P., Habib, R., Fontana, L.F., Clemente, I.M.M., Lorini, M.L., Mendonça Filho, J.G., Laut, V.M. e Figueiredo, M.S.L. (2017). Assessment of the trophic state of a hypersaline-carbonatic environment: Vermelha Lagoon (Brazil). PLoS One 12, e0184819. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184819>

Laut, L., Figueiredo, M.S.L., Lorini, M.L., Belart, P., Clemente, I., Martins, M.V.A., Mendonça Filho, J.G. e Laut, V.M. (2019). Diatoms from the most hypersaline lagoon in Brazil: Vermelha Lagoon. Cont. Shelf Res. 181, 111–123.

Laut, L., Belart, P., Carelli, T., Martins, M.V.A. e Laut, V. (2022). Insights into the Ecology of Foraminifera from the Most Hypersaline Lagoon in Brazil: Vermelha Lagoon. Estuaries and Coasts 45, 2632–2649. DOI: 10.1007/s12237-022-01073-x

Molnár, Z., Dódy, I. e Pósfai, M. (2023). Transformation of amorphous calcium carbonate in the presence of magnesium, phosphate, and mineral surfaces. Geochim. Cosmochim. Acta 345, 90–101. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2023.01.028>

Müller, G.O. e Oliveira, L.M.T. (2020). Métricas de paisagem na avaliação da efetividade de proteção do Parque Estadual da Costa do Sol, uma unidade de conservação fragmentada no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Neotropical Biol. Conserv. 15, 1–18.

Nascimento, G.S., Eglinton, T.I., Haghypour, N., Albuquerque, A.L., Bahniuk, A., McKenzie, J.A. e Vasconcelos, C. (2019). Limnol. Oceanogr. 64, 2632–2645. DOI: 10.1002/lno.11237

Noffke, N., Gerdes, G. e Klenke, T. (2003). Benthic cyanobacteria and their influence on the sedimentary dynamics of peritidal depositional systems (siliciclastic, evaporitic salty, and evaporitic carbonatic). Earth-Science Rev. 62, 163–176. DOI: 10.1016/S0012-8252(02)00158-7.

Nübel, U., Garcia-Pichel, F. e Muyzer, G. (2000). The halotolerance and phylogeny of cyanobacteria with tightly coiled trichomes (*Spirulina* Turpin) and the description of *Halospirulina tapeticola* gen. nov., sp. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 50, 1265–1277. <https://doi.org/10.1099/00207713-50-3-1265>

- Overmann, J. e Pfennig, N. (1992). Continuous chemotrophic growth and respiration of *Chromatiaceae* species at low oxygen concentrations. *Arch. Microbiol.* 158, 59–67. <https://doi.org/10.1007/BF00249067>
- Pace, A., Bourillot, R., Bouton, A., Vennin, E., Braissant, O., Dupraz, C., Duteil, T., Bundeleva, I., Patrier, P. e Galaup, S. (2018). Formation of stromatolite lamina at the interface of oxygenic–anoxygenic photosynthesis. *Geobiology* 16, 378-398.
- Pacton, M., Wacey, D., Corinadelsi, C., Tangherlini, M., Kilburn, M.R., Gorin, G. E., Danovaro, R. e Vasconcelos C., (2014). Viruses as new agents of organomineralization in the geological record. *Nat. Commun.* 5, 4298. DOI: 10.1038/ncomms5298
- Pennafirme, S., Pereira, D.C., Pedrosa, L.G.M., Machado, A.S., Silva, G.O.A., Keim, C.N., Lima, I., Lopes, R.T., Paixão, I.C.N.P. e Crapez, M.A.C. (2019). Characterization of microbial mats and halophilic virus-like particles in a eutrophic hypersaline lagoon (Vermelha Lagoon). *Reg. Stud. Mar. Sci.* 31, 100769.
- Pentecost, A. (1991). Calcification Processes in Algae and Cyanobacteria. In: *Calcareous Algae and Stromatolites*. Riding, R. ed. (Berlin, Heidelberg: Springer), pp. 3-20. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-642-52335-9_1
- Perri, E., Tucker, M.E., Słowakiewicz, M., Whitaker, F., Bowen, L. e Perrotta, I.D. (2018). Carbonate and silicate biomineralization in a hypersaline microbial mat (Mesaieed sabkha, Qatar): roles of bacteria, extracellular polymeric substances and viruses. *Sedimentology* 65, 1213–1245. <https://doi.org/10.1111/sed.12419>
- Porras-Toribio, I., Pi-Puig, T., Villanueva-Estrada, R.E., Rubio-Ramos, M.A. e Solé, J. (2022). Mineralogy, geochemistry, and stable isotopes (C, O, S) of hot spring waters and associated travertines near Tamiahua Lagoon, Veracruz, Gulf of Mexico (Mexico). *Minerals* 12, 822. DOI: <https://doi.org/10.3390/min12070822>
- Prange, A., Engelhardt, H., Trüper, H.G. e Dahl, C. (2004). The role of the sulfur globule proteins of *Allochromatium vinosum*: mutagenesis of the sulfur globule protein genes and expression studies by real-time RT-PCR. *Arch. Microbiol.* 182, 165–74. DOI: 10.1007/s00203-004-0683-3
- Prieto-Barajas, C.M., Valencia-Cantero, E. e Santoyo, G. (2018). Microbial mat ecosystems: Structure types, functional diversity, and biotechnological application. *Electron. J. Biotechnol.* 31, 48–56. DOI: 10.1016/j.ejbt.2017.11.001.
- Ramírez-Reinat, E.L. e Garcia-Pichel, F. (2012). Characterization of a Marine Cyanobacterium that Bores into Carbonates and the Redescription of the Genus *Mastigocoleus*. *J. Phycol.* 48, 740–749. DOI: 10.1111/j.1529-8817.2012.01157.x
- Riding, R. (1991). Classification of Microbial Carbonates. In: *Calcareous Algae and Stromatolites*. Riding, R. ed. (Berlin, Heidelberg: Springer), pp. 22-51. DOI: 10.1007/978-3-642-52335-9_2
- Riding, R. (2011). Microbialites, stromatolites, and thrombolites. In: *Encyclopedia of Geobiology*. Reitner, J. e Thiel, V., eds. (Heidelberg: Springer), pp. 635-654.
- Sampaio, L.F., Dal’Bó, P.F.F. e Borghi, L. (2015). Gênese e Morfologia de Estruturas Sedimentares Induzidas por Atividade Microbiana (MISS) em Sedimentos da Lagoa Vermelha. *An. Inst. Geoc. UFRJ* 38, 95–106. DOI: 10.11137/2015_1_95_106
- Santelli, R.L., Wagener, A.L.R., Wagener, K. e Patchineelam, S. (2006). Assessing Past Environmental Changes through Sediment Records in a Hypersaline Lagoon. *Croatica Chemica Acta* 79(1), 129–141.

Shiraishi, F., Hanzawa, Y., Asada, J., Cury, L.F. e Bahniuk, A.M. (2023). Decompositional processes of microbial carbonates in Lagoa Vermelha, Brazil. *J. Sediment. Res.* 93, 202–211. DOI: 10.2110/jsr.2022.053

Siegesmund, M.A., Johansen, J.R., Karsten U. e Friedl, T. (2008). *Coleofasciculus* gen. nov. (Cyanobacteria): Morphological and molecular criteria for revision of the genus *Microcoleus* Gomont. *J. Phycol.* 44, 1572–1585. DOI: 10.1111/j.1529-8817.2008.00604.x

Silva, L.H.S. e Carvalhal, S.B.V. (2005). Biolaminóides calcários holocênicos da Lagoa Vermelha, Brasil. *An. Inst. Geoc. UFRJ* 28, 59–70. DOI: 10.11137/2005_2_59-70

Silva, L., Silva, E., Senra, M., Faruolo, T., Carvalhal, S., Alves, S., Damazio, C., Shimizu, V., Santos, R. e Iespa, A. (2004). Composição paleobiológica e tipos morfológicos das construções estromatólíticas da Lagoa Vermelha, RJ, Brasil. *Rev. Bras. Paleontol.* 7, 193–198.
http://arquivos.proderj.rj.gov.br/inea_imagens/downloads/pesquisas/PE_Costa_do_Sol/Silva_et_al_2004.pdf

Silva, T.F., Gomes, S.B.C., Silva, F.S., Stojanovic, K., Castro, R.N., Mendonça Filho, J.G. e Santos, M. (2021). Lipid composition of the microbial mat from a hypersaline environment (Vermelha Lagoon, Rio de Janeiro, Brazil). *J. Sediment. Res.* 91, 349-361. DOI: 10.2110/jsr.2021.01

Spadafora, A., Perri, E., McKenzie, J.A. e Vasconcelos, C. (2010). Microbial biomineralization processes forming modern Ca:Mg carbonate stromatolites. *Sedimentology* 57, 27–40.

Stolz, J.F. (1990). Distribution of phototrophic microbes in the flat laminated microbial mat at Laguna Figueroa, Baja California, Mexico. *BioSystems* 23, 345–357.

Sunagawa, I., Takahashi, Y. e Imai, H., (2007). Strontium and aragonite–calcite precipitation. *J. Mineral. Petrol. Sci.* 102, 174–181.

Ullah, N., Jaffer, M., Rehman, S., Ain, Q. e Shaheen, S. (2022). Morpho-anatomical characters of family *Oscillatoriaceae* (algae) identified using primitive (LM) and advance technique (SEM) from Punjab, Pakistan. *Microsc. Res. Techn.* 85, 3397-3410. DOI: 10.1002/jemt.24195

Van Lith, Y., Vasconcelos, C., Warthmann, R., Martins, J.C.F. e McKenzie, J.A. (2002). Bacterial sulfate reduction and salinity: two controls on dolomite precipitation in Lagoa Vermelha and Brejo do Espinho (Brazil). *Hydrobiologia* 485, 35–49.

Vasconcelos, C. e McKenzie, J.A. (1997). Microbial mediation of modern dolomite precipitation and diagenesis under anoxic conditions (Lagoa Vermelha, Rio de Janeiro, Brazil). *J. Sed. Res.* 67, 378–390.

Vasconcelos, C., Warthmann, R., McKenzie, J.A., Visscher, P.T., Bittermann, A.G. e Van Lith, Y. (2006). Lithifying microbial mats in Lagoa Vermelha, Brazil: Modern Precambrian relics? *Sediment. Geol.* 185, 175–183. DOI: 10.1016/j.sedgeo.2005.12.022

Veronese, J.V. (2018). Análise da paisagem como suporte ao planejamento ambiental para o Parque Estadual da Costa do Sol. Dissertação (Mestrado em Ecologia), Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 101 f.

Visscher, P.T., Dupraz, C., Braissant, O., Gallagher, K.L., Glunk, C., Casillas, L. e Reed, R.E.S. (2010). Biogeochemistry of Carbon Cycling in Hypersaline Mats: Linking the Present to the Past through Biosignatures. In: *Microbial Mats: Modern and Ancient Microorganisms in Stratified Systems. Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology* vol. 14. Seckbach, Joseph, Oren, Aharon (ed), Springer Dordrecht Heidelberg London New York, pp. 445–468. DOI: 10.1007/978-90-481-3799-2_23

Wacey, D., Urosevic, L., Saunders, M. e George, A.D. (2018). Mineralisation of filamentous cyanobacteria in Lake Thetis stromatolites, Western Australia. *Geobiology* 16, 203–215. DOI: 10.1111/gbi.12272

Walsh, M.M. (2010). Microbial mats on the early earth: The Archean rock record. In: *Microbial Mats: Modern and Ancient Microorganisms in Stratified Systems*. Seckbach, J. e Oren, A. eds. (Dordrecht, Heidelberg, London, New York: Springer), pp. 43-51.

Yoshioka, S., Ohde, S., Kitano, Y. e Kanamori, N. (1986). Behaviour of magnesium and strontium during the transformation of coral aragonite to calcite in aquatic environments. *Mar. Chem.* 18, 35–48.

Zavarzin, G.A. (2002). Microbial Geochemical Calcium Cycle. *Microbiology* 71, 1-17. DOI: 10.1023/A:1017945329951