

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Degradação da microcistina-XR por bactérias isoladas de sistema de  
abastecimento público de água**

**Marina Gumiere Alves**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em  
Ciências. Área de concentração: Microbiologia Agrícola

**Piracicaba  
2011**

**Marina Gumiere Alves**  
**Licenciatura em Ciências Biológicas**

**Degradação da microcistina-XR por bactérias isoladas de sistema de abastecimento público de água**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 5890 de 2010

Orientadora:  
Profª. Dra. **MARLI DE FÁTIMA FIORE**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Microbiologia Agrícola

**Piracicaba**  
**2011**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Alves, Marina Gumiere

Degradação da microcistina-XR por bactérias isoladas de sistema de abastecimento público de água / Marina Gumiere Alves. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 5890 de 2010. - - Piracicaba, 2011.

103 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2011.

1. Biodegradação 2. Cianobactérias 3. Cromatografia líquida de alta eficiência  
4. Microbiologia da água 5. RNA ribossômico 6. Toxinas I. Título

CDD 589.46  
A474d

**“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”**



*Aos meus pais Edimilson e Eva,  
Aos meus irmãos Silvio e Thiago,*

*Sem vocês eu não teria chegado até aqui...  
Por fazerem tudo valer à pena.*

***Dedico***

*Ao meu filho Henrique,  
Hoje meu maior projeto, hoje minha vida...*

*Com todo o meu amor*

***Ofereço***



## AGRADECIMENTOS

*À Profa. Dra. Marli de Fátima Fiore, pela orientação, oportunidade e apoio;*

*Ao Prof. Dr. Flavio Cesar Almeida Tavares, pelo apoio e incentivo;*

*À Dra. Maria Estela Stenico pelas contribuições indispensáveis, sugestões, auxílio, revisão da tese e principalmente por sua amizade e paciência;*

*Ao CNPq pela bolsa concedida;*

*À Coordenação do PPG- Microbiologia Agrícola e a Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” pela oportunidade da realização deste projeto;*

*Ao Prof. Dr. Valdemar Tornisielo pelo auxílio com as análises de LC/MS/MS;*

*Ao doutorando Danilo Alvarenga pelo auxílio com as análises de sequenciamento, revisão da tese e principalmente por sua amizade e apoio;*

*Aos amigos do Laboratório de Ecologia Molecular de Cianobactérias, Caroline Hoff, Caroline Pamplona, Adriana, Elaine, Diego, Marcelo, Ana Paula, Janaina, Mariana, Bruna, Isabela, Paula e Ana Claudia, pelo companherismo e por terem me recebido de braços abertos;*

*As queridas Luciana Mecatti e Natalia Nardelli pela alegria e principalmente pela amizade;*

*Aos amigos Dr. Luiz Humberto Gomes, Ana Maria Giacomeli e Marcos Gorga pela amizade, carinho e apoio;*

*Ao meu marido Edson, por sempre estar ao meu lado em todos os momentos da minha vida;*

*A minha amiga Annelise (Aspira) pelo auxílio com o inglês e principalmente pelo apoio e torcida;*

*Aos compadres Rafael e Clarissa por me fazerem sorrir nos momentos mais difíceis;*

*Ao meu irmão, Thiago, meu melhor amigo, que sempre está ao meu lado;*

*Ao meu irmão Silvio que mesmo distante se faz presente em minha vida;*

*Aos meus pais, Edimilson e Eva, pelas orações, incentivo e apoio;*

*A Deus, por fazer o impossível, possível;*

*A todos os amigos cujos nomes não foram citados, gostaria de agradecer o carinho e o incentivo.*

**OBRIGADA A TODOS!**





## SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT .....	11
LISTA DE FIGURAS.....	13
LISTA DE TABELAS.....	15
1 INTRODUÇÃO .....	17
2 DESENVOLVIMENTO.....	21
2.1 Revisão Bibliográfica .....	21
2.1.1 Cianobactérias.....	21
2.1.1.1 Florações de cianobactérias.....	22
2.1.2 Cianotoxinas.....	23
2.1.2.1 Microcistina (MCYST).....	25
2.1.3 Técnicas de remoção de MCYST da água.....	29
2.1.4 Degradação de MCYST .....	35
2.2 Objetivos e Hipóteses .....	38
2.3 Material e Métodos.....	39
2.3.1 Cianobactérias e condições de cultivo.....	39
2.3.2 Extração e purificação da MCYST.....	41
2.3.3 Bactérias e condições de cultivo.....	41
2.3.4 Avaliação da capacidade de crescimento das bactérias na presença de MCYST.....	42
2.3.5 Avaliação da capacidade de degradação de MCYST.....	42
2.3.6 Cromatografia Líquida de Alta Performance.....	43
2.3.7 Cromatografia Líquida de Alta Performance acoplada a Espectrometria de Massas (HPLC-MS).....	43
2.3.8 Cinética da degradação da MCYST-XR.....	44
2.3.9 Identificação molecular das bactérias degradadoras de MCYST .....	44
2.3.9.1 Extração de DNA das bactérias .....	44
2.3.9.2 Amplificação do gene que codifica para o RNAr 16S .....	44
2.3.9.3 Clonagem .....	45
2.3.9.4 Transformação .....	45

2.3.9.5 PCR usando colônias.....	46
2.3.9.6 Extração de DNA plasmidial.....	46
2.3.9.7 Sequenciamento.....	47
2.3.9.8 Processamento e análise filogenética das sequências.....	48
2.3.10 Detecção da presença do gene da microcistina e <i>mlrA</i> .....	48
2.3.10.1 Extração de DNA.....	48
2.3.10.2 Amplificação do gene da microcistinase <i>mlrA</i> .....	48
2.3.10.3 Sequenciamento do gene <i>mlrA</i> .....	49
2.3.11 Bioensaios de toxicidade dos produtos da biodegradação da MCYST.....	49
2.3.11.1 Procedimento dos bioensaios.....	50
2.3.11.1.1 <i>Daphnia similis</i> .....	50
2.3.11.1.2 <i>Hydra attenuata</i> .....	50
2.4 Resultados e Discussão.....	51
2.4.1 Produção e Purificação do padrão da MCYST-XR.....	51
2.4.2 Avaliação da capacidade de degradação da MCYST.....	59
2.4.3 Cinética de degradação da MCYST.....	64
2.4.4 Identificação dos isolados degradadores de MCYST.....	67
2.4.5 Detecção da presença do gene da microcistinase <i>mlrA</i> .....	72
2.4.6 Toxicidade do subproduto da degradação da MCYST.....	76
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	83
REFERÊNCIAS.....	85
ANEXOS.....	97

## Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

