

ANA CAROLINA VIEIRA ARAUJO

**DIVERSIDADE MOLECULAR DE ARQUEIAS EM SEDIMENTOS DE
RIOS DA AMAZÔNIA E CARACTERIZAÇÃO DE ESPÉCIES
METANOGÊNICAS CULTIVADAS**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
Interunidades em Biotecnologia USP/Instituto
Butantan/IPT, para obtenção do Título de Doutor
em Biotecnologia.**

São Paulo

2010

ANA CAROLINA VIEIRA ARAUJO

**DIVERSIDADE MOLECULAR DE ARQUEIAS EM SEDIMENTOS DE RIOS DA
AMAZÔNIA E CARACTERIZAÇÃO DE ESPÉCIES METANOGÊNICAS
CULTIVADAS**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
Interunidades em Biotecnologia USP/Instituto
Butantan/IPT, para obtenção do Título de Doutor
em Biotecnologia.**

Área de Concentração: Biotecnologia

Orientadora: Profa. Dra. Vivian Helena Pellizari

São Paulo

2010

DADOS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e Informação Biomédica do
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

© reprodução total

Araujo, Ana Carolina Vieira.

Diversidade molecular de arqueias em sedimentos de rios da
Amazônia e caracterização de espécies metanogênicas cultivadas /
Ana Carolina Vieira Araujo. -- São Paulo, 2010.

Orientador: Vivian Helena Pellizari.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências
Biomédicas. Programa de Pós-Graduação Interunidades em
Biotecnologia USP/IPT/Instituto Butantan. Área de concentração:
Biotecnologia. Linha de pesquisa: Microbiologia Ambiental.

Versão do título para o inglês: Molecular diversity of Archaea in
Amazonian river sediments and characterization of cultured
methanogenic species.

Descritores: 1. Domínio Arqueia 2. Arqueias metanogênicas 3.
Diversidade microbiana 4. Amazônia 5. Sedimento de rio 6. Rio
Madeira I. Pellizari, Vivian Helena II. Universidade de São Paulo.
Instituto de Ciências Biomédicas. Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia III. Título.

ICB/SBIB049/2010

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia
Universidade de São Paulo, Instituto Butantan, Instituto de Pesquisas Tecnológicas

Candidato(a): Ana Carolina Vieira Araujo.

Título da Tese: Diversidade molecular de arqueias em sedimentos de rios da Amazônia e caracterização de espécies metanogênicas cultivadas.

Orientador(a): Vivian Helena Pellizari.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada a/...../....., considerou

() Aprovado(a)

() Reprovado(a)

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Presidente: Assinatura:
Nome:
Instituição:

“O correr da vida embrulha tudo, a vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e depois desinquieta. O que ela quer da gente é coragem.”

João Guimarães Rosa

**A meus pais José Carlos e Mércia, a
minha avó Célia e a meu irmão
Fabrício (in memoriam) pelo apoio
constante, pela confiança e pelo amor
inestimável.**

AGRADECIMENTOS

- À Profa. Dra. Vivian Helena Pellizari, pela confiança de sempre, pelas oportunidades oferecidas e pela generosidade com que conduz seus projetos.
- À Profa. Dra. Rosana Filomena Vazoller, por ter me iniciado e acompanhado no maravilhoso mundo das arqueias. Pelo carinho e pela confiança.
- À Dra. Cristina Rossi Nakayama, a Criiiiiiiiiiiiis, por tudo! Amizade, companheirismo, disposição, generosidade. Pelos muitos bons momentos compartilhados, científicos ou não, pelas sábias sugestões para o trabalho e para a vida.
- À Msc. Rosa de Carvalho Gamba, a Rosinha, pela contagiante alegria de viver, pelo companheirismo, pela sabedoria compartilhada, pela disposição e por tornar tantos momentos tão agradáveis.
- A Ana Paula, pelo companheirismo, apoio, paciência e ainda pela revisão do texto.
- A todos os colegas e amigos do Laboratório de Microbiologia Ambiental, aos que já passaram e aos que estão, todos ainda guardados na lembrança. O que enriquece nosso conhecimento e nossas vidas é o convívio com pessoas que, apesar de diferentes, compartilham uma trilha com um destino em comum. Ter a companhia de vocês nesses anos tornou o caminho bem mais feliz e frutífero.
- Aos amigos da graduação e da república, pelos muitos momentos felizes e inesquecíveis. Pelos ombros emprestados, pelas risadas compartilhadas, pelos almoços de domingo e por tornarem minha vida muito mais feliz nesses anos em São Paulo.
- Ao Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas, pela infra-estrutura disponibilizada para realização desse trabalho e aos funcionários que colaboraram e me incentivaram na conclusão do mesmo.
- Ao Instituto de Ciências Biomédicas V, na pessoa do Prof. Dr. Marcelo Camargo Aranha, que possibilitou a realização das coletas do material empregado neste trabalho.

- Ao Laboratório de Processos Biológicos da Escola de Engenharia de São Carlos, na pessoa da Profa. Maria Bernadete Varesche e da Profa. Beth Moraes pelo auxílio nas análises físico-químicas.
- Ao Dr. André Rosch Rodrigues e ao técnico Edílson de Oliveira Faria, do Instituto Oceanográfico, pelas análises de matéria orgânica e granulometria dos sedimentos.
- Ao Prof. Dr. Plínio Carlos Alvalá e ao Dr. Luciano Marani, do Laboratório de Ozônio do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, pelas técnicas para coleta de metano atmosférico e por analisar as amostras.
- Às instituições FAPESP e CNPq, pelo financiamento ao trabalho.

O meu muito obrigada!

“Gostaria de ser um crocodilo porque amo os grandes rios, pois são profundos como a alma de um homem. Na superfície são muito vivazes e claros, mas nas profundezas são tranquilos e escuros como o sofrimento dos homens”

João Guimarães Rosa

RESUMO

ARAÚJO, A. C. V. **Diversidade molecular de arqueias em sedimentos de rios da Amazônia e caracterização de espécies metanogênicas cultivadas**. 2010. 121 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

Nos últimos anos muitos grupos de pesquisa têm se voltado a estudos da região amazônica, inclusive quanto à importância da região frente às mudanças climáticas. Grupos de pesquisa voltados ao estudo de gases de efeito estufa detectaram altos fluxos positivos de metano para a atmosfera. O gás metano é o segundo mais importante gás de efeito estufa e é produzido majoritariamente por micro-organismos pertencentes ao Domínio *Archaea*. Esses micro-organismos metanogênicos são responsáveis pela produção de aproximadamente 70% do metano emitido para a atmosfera anualmente. Ainda, os estudos de arqueias em ambientes naturais são relativamente recentes, e no Brasil ainda são esparsos. O objetivo deste trabalho foi caracterizar pontualmente a diversidade de arqueias em sedimentos dos rios Floresta e Madeira através de técnicas moleculares e do cultivo de arqueias metanogênicas. A caracterização molecular foi feita através de biblioteca do gene rRNA 16S e os cultivos para enriquecimento de cepas metanogênicas foram realizados empregando-se técnicas clássicas de cultivo de anaeróbios estritos; as cepas cultivadas foram identificadas por técnicas baseadas no gene para o rRNA 16S. A maior parte das sequências obtidas nas duas bibliotecas pertence ao domínio *Crenarchaeota* – 76% das sequências do rio Floresta e 93% das sequências do rio Madeira; sendo que grande parte das sequências apresentou similaridade menor que 97% às sequências depositadas nos bancos de dados, revelando a existência de grupos ainda não descritos na literatura. Os cultivos para enriquecimento de arqueias metanogênicas em amostras do rio Madeira apresentaram alta taxa de produção de metano (33% em 16 dias) revelando que esse grupo ocorre ativamente no sedimento. Nesses enriquecimentos foi possível detectar células pertencentes às famílias *Methanosarcinaceae* e *Methanobacteriaceae* pelo emprego de sondas fluorescentes de RNA. Essas células foram subcultivadas e foi possível estabelecer culturas dos gêneros *Methanosarcina* e *Methanobacterium* em laboratório, sendo que na cultura de *Methanosarcina* foi possível identificar a ocorrência de um gênero bacteriano pertencente à família *Veillonellaceae*, da classe *Clostridiales*, mas com apenas 92% de similaridade às sequências depositadas nos bancos de dados. O fato de ter-se empregado meio de cultura e substratos nas concentrações

padronizadas para o estudo de amostras de ambientes muito mais ricos em matéria orgânica – como sistemas de tratamento de resíduos – pode explicar o crescimento preferencial de arqueias metanogênicas em detrimento de outros micro-organismos detectados pelas análises moleculares e ainda não cultivados. A grande diversidade de arqueias não cultivadas encontrada vem reforçar a necessidade de se abranger o estudo desse grupo, especialmente esforços para o cultivo e conhecimento da fisiologia e, conseqüentemente, do papel ecológico desses grupos nos diversos ambientes em que são encontrados. O trabalho vem ainda acrescer com dados de um ambiente tropical o conhecimento ainda insipiente sobre arqueias em ambientes naturais. No contexto amazônico, o trabalho revela a diversidade de um grupo ainda pouco explorado e conhecido na região, apesar da importância que o metabolismo de seus representantes possa ter na regulação desse ambiente, como é o caso, por exemplo, das arqueias metanogênicas, responsáveis pelas altas taxas de emissão de metano detectadas nesse ecossistema.

Palavras-chave: Domínio Archaea. Arqueias metanogênicas. Diversidade microbiana. Amazônia. Sedimento de rio. Rio Madeira.

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:

