

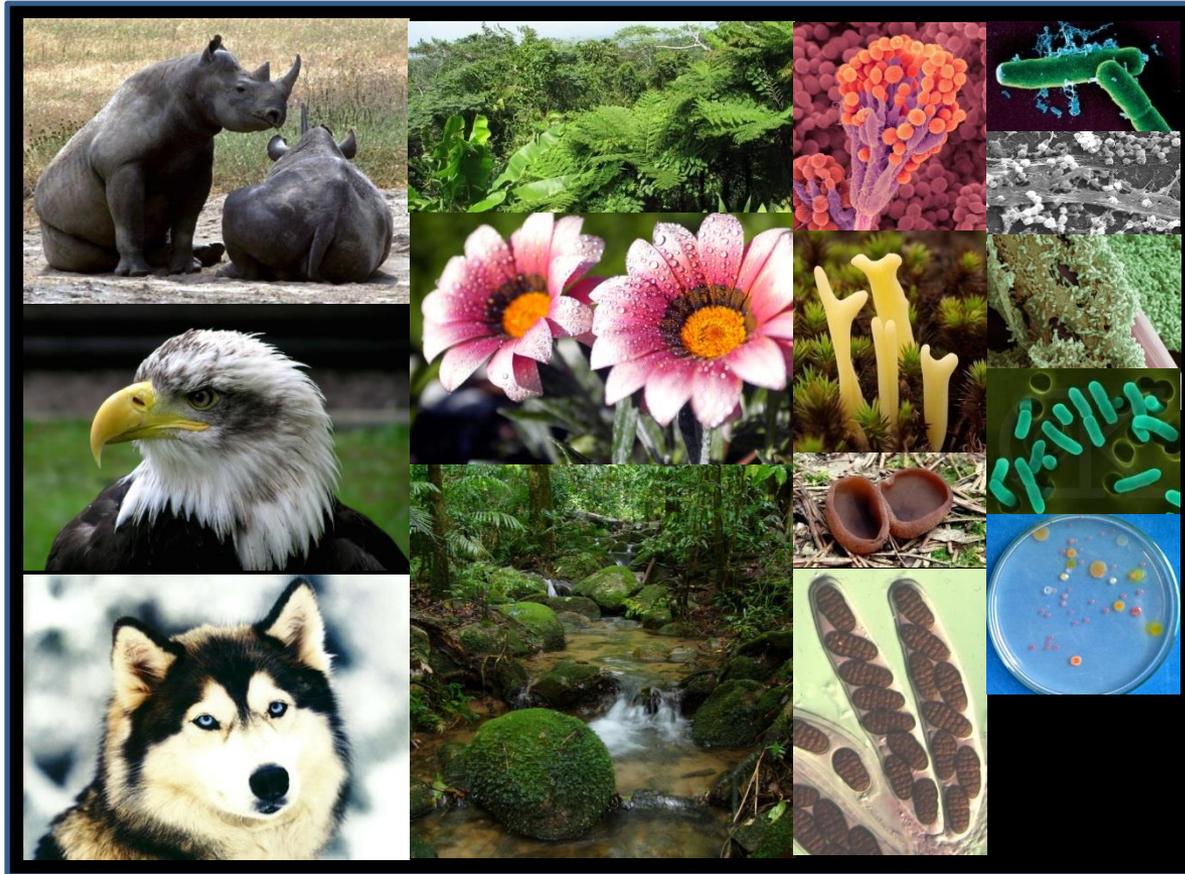
Diversidade Microbiana e Evolução

Gabriel Padilla

**Departamento de Microbiologia
Instituto de Ciências Biomédicas/USP**



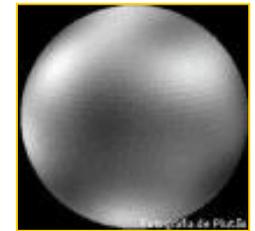
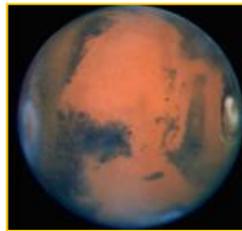
Diversidade Biológica



Conhecer, preservar e fazer uso sustentável

A busca pelo conhecimento da diversidade biológica

Qual a Diversidade biológica em outros planetas?



E a do passado? E a do planeta Terra?



Introdução



Diversidade microbiana

Regiões temperadas X regiões tropicais

Ambientes poucos explorados: marinhos, extremos, microbiotas

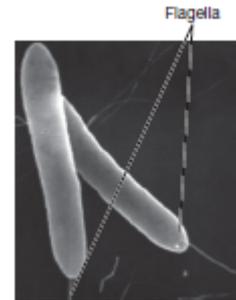
Origem da Vida – Caldo Primordial

Materia inanimada
(CH_4 , H_2O , CO_2 , NH_4^+)

Em algum momento isso
aconteceu



Primeira célula



Humans

Present

Origin of Earth
(4.6 bya)

Superfície Terrestre é improvável que tenha surgido a vida, nesse momento



4
bya

Origin of
cellular life

- Ambiente Hostis a vida
 - grandes variações de temperatura
 - Choques constantes com meteoros,
 - Tempestades

Mundo Primordial – Prováveis condições – Lugar Tóxico e Quente

- Ausência de O_2
- Ambiente redutor
- CH_4 , CO_2 , N_2 , H_2O , NH_3
- Temperatura $> 1000^\circ C$
- Radiação UV
- Descargas elétricas
- Provavelmente havia várias reações químicas ocorrendo nos mares

Colocar em prática a teoria da Sopa Primordial (6 meses para fazer o teste) – Miller SL (1953)

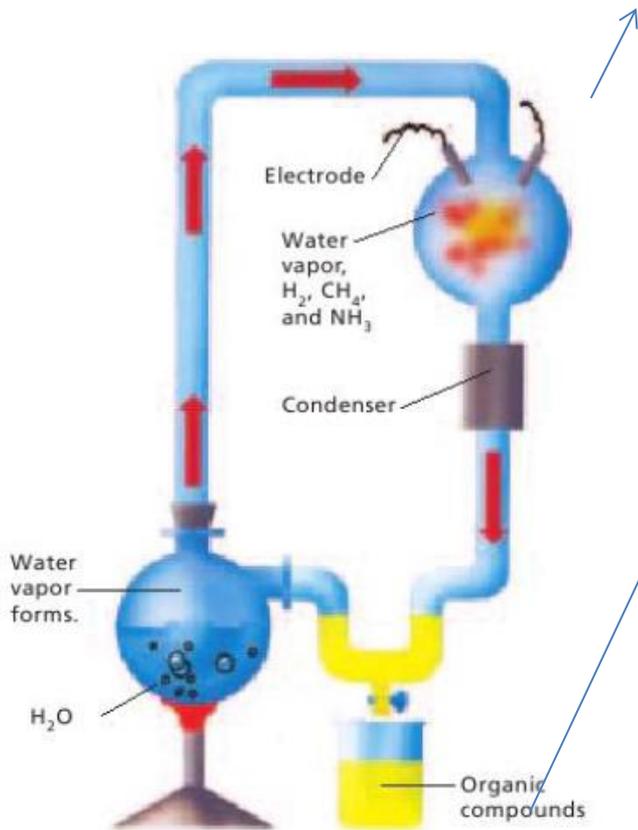
Descargas elétricas – mimetizar a atmosfera Terrestre

O maior problema é retirar o O_2 do sistema, O_2 na presença de H_2 explode.

Depois de 5 dias (acahavam que iria demorar milhares de anos) – observaram a formação Gly e Ala

A mistura de gases presente na Terra primitiva irradiada com UV ou descargas elétricas deu origem à moléculas orgânicas

Após 60 anos foi possível ” sintetizar uma célula” no laboratório



- 1960 – A atmosfera Terrestre não tinha NH_4^+ e nem CH_4 – Invalidava a máquina de Miller
- Ele repetiu o experimento e obteve os mesmos resultados

Diversidade Metabólica e Morfológica

Consumindo H_2 e CO_2 para produzir acetato ou compostos ferrosos

Consumindo H_2 e CO_2 ou acetona para produção de metano

Bacteria

Eukarya

Archaea

Animals

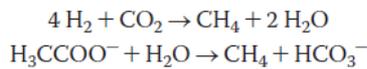
Plants

Ancestor of chloroplast

Ancestor of mitochondrion

Nucleus forme

Metanogenese



4.1-3.9 bia

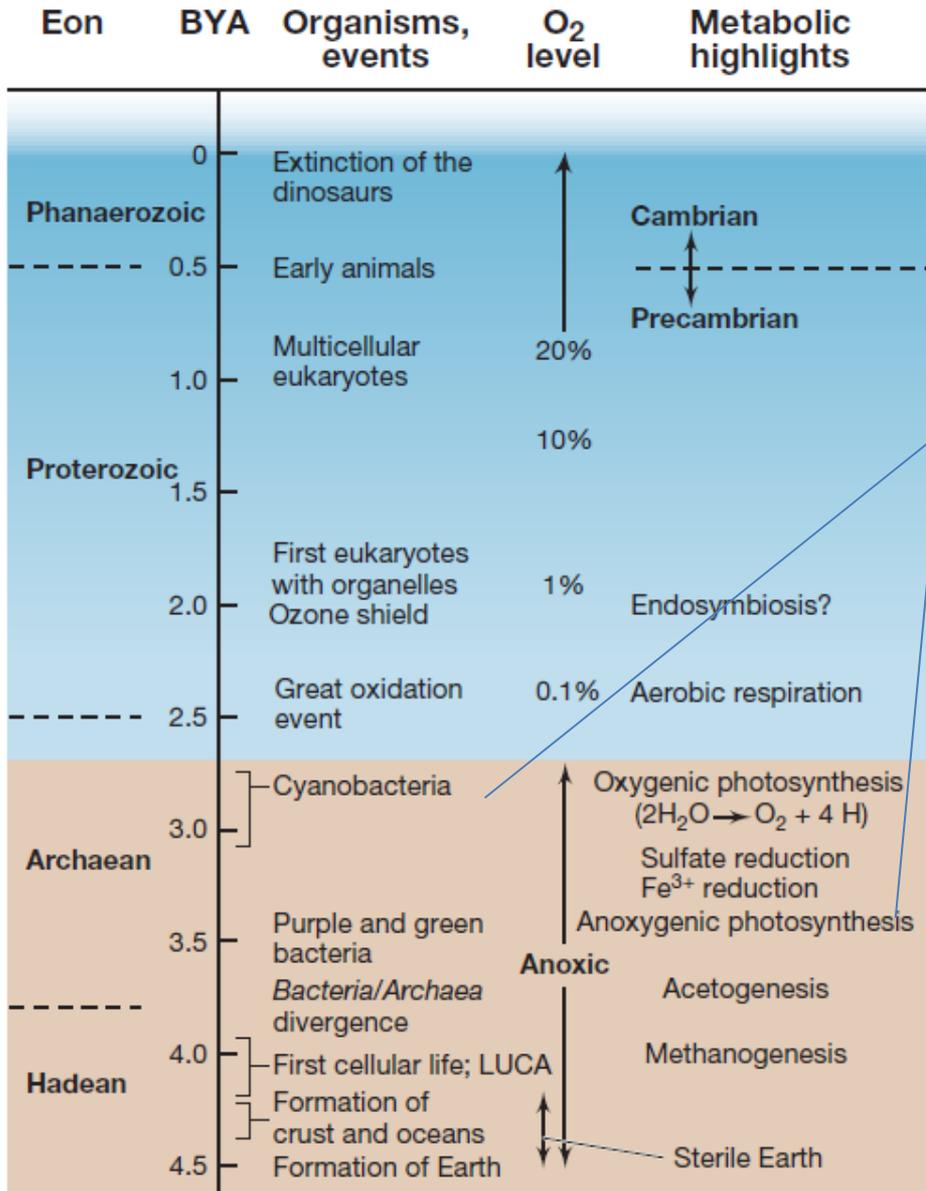
Desenvolveram metabolismos diferentes

LUCA
(4.25bia)

O último ancestral universal comum

Archaea
Algumas características interessantes:

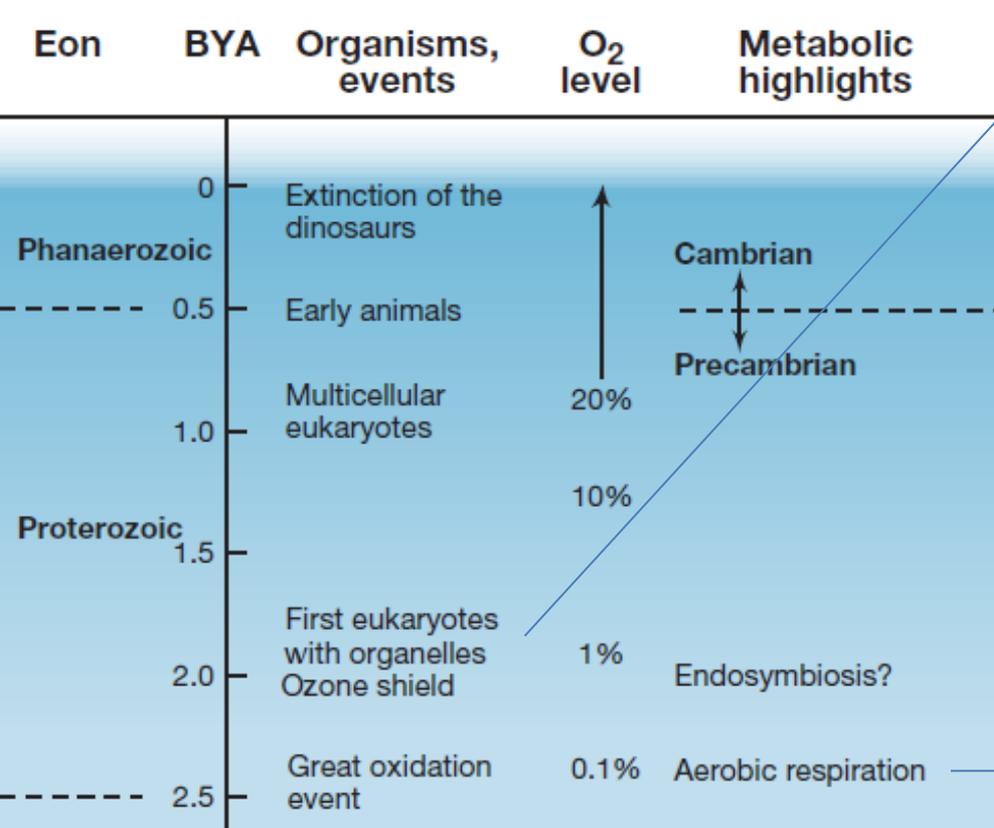
- A maioria são extremófilas
- Altas temperaturas
- Extremos de pH e salinidade
- Todos são quimiotróficos
- Exceção: *Halobacterium* pode usar luz para obter energia (forma muito diferente dos fototróficos)



- 3.2 bia fototrofia (só em bactérias)
Utilização da Luz solar (como fonte de energia) possibilitou a diversificação

- 2.7 bia a linhagem de cyanobacterias desenvolveu a capacidade de usar água ao invés de H₂S na redução do CO₂, liberando O₂ e não S⁰

- O surgimento da fotossíntese oxigênica alterou o curso da evolução



Formação da camada de ozônio
 Protege os organismos dos raios UV
 (causam danos ao DNA).
 Sem isso eles teriam que ficar abaixo
 da superfície oceânica, lugares
 terrestres protegidos

Organismos puderam disseminar por
 toda a superfície terrestre – Criando
 grande diversidade

Evolução nas vias metabólicas
 Organismos anaeróbicos ficaram
 restritos em seus habitats
 Facultativos diversificaram
 rapidamente

Origem dos eucariotos - Endossimbioótica

- Bactérias e as Archaea perduram por 2 bilhões de anos até surgir os organismos eucarióticos
- 2 bilhões de anos surgimento dos organismos eucarióticos –
 - Possuem Núcleo envolto por membrana
 - Possuem organelas
 - Surgiram após o desenvolvimento de uma atmosfera com O₂
- Endossimbiose

- Mitocôndrias e os cloroplastos



Cianobacterias
(fotossíntese oxigenados)

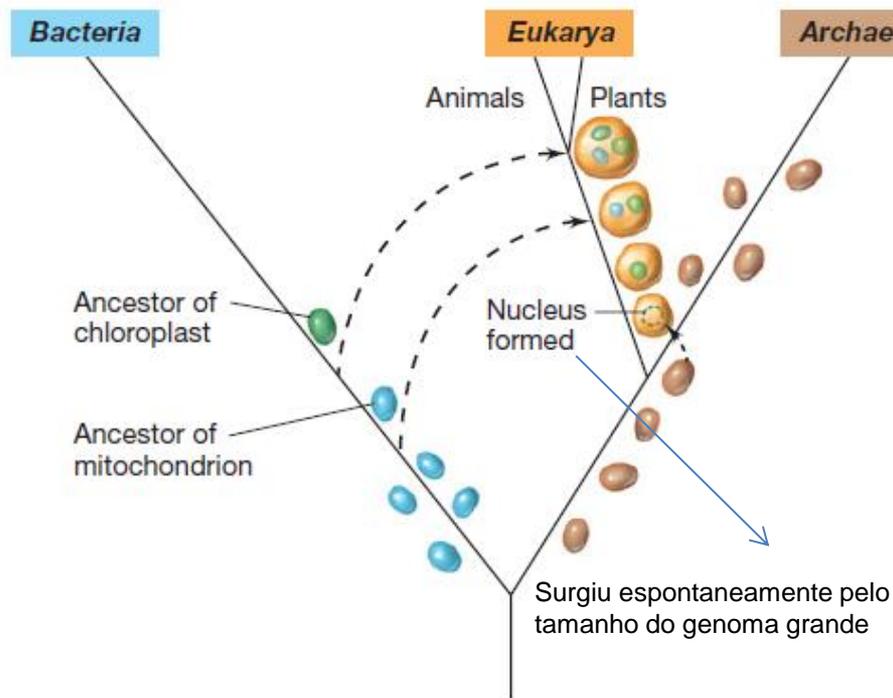
Bactérias quimiorganotróficas
(metabolismo aeróbico facultativo)



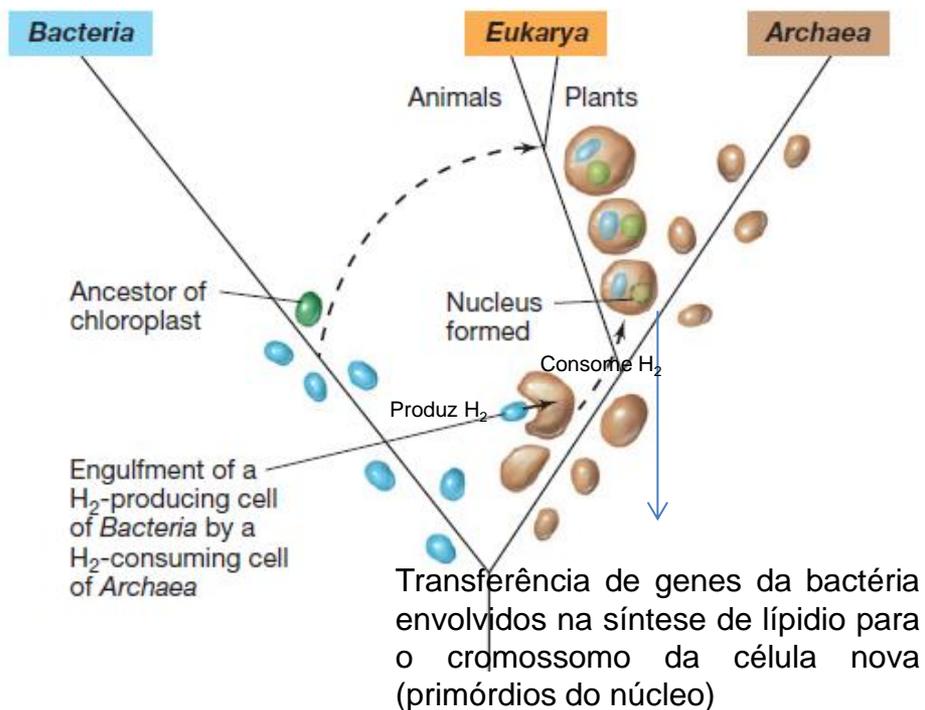
Respiração bastante energética e a capacidade de usar a luz como fonte de energia

Origem dos eucariotos - Endossimbioótica

- Como a membrana nuclear foi formada?
- Qual célula adquiriu as mitocôndrias e posteriormente o cloroplasto



Hipótese do hidrogênio



Evolução

A evolução é guiada em grande parte pela seleção natural proposta por Charles Darwin 1859



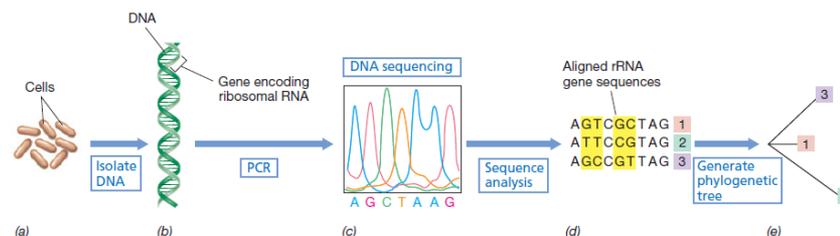
Processo de modificação de características através de mudanças genéticas que se tornam hereditária

Seleção Natural (características adquiridas conferem habilidades diferenciadas para melhor), maior adequação ao meio

- Mutações
 - Erros no processo de replicação
 - radiação UV
- Duplicação génica (parálogos)
- Transferência horizontal de genes
- Recombinação

Análise Evolutiva – árvore Filogenética

- Woese introduziu o conceito de que a comparação das sequências de DNA que codificam a subunidade menor do RNA ribossômico (SSU rRNA) poderia ser utilizada para distinguir um organismo do outro.
 - Distribuídos Universalmente
 - Função constante entre os organismos vivos
 - Modificam lentamente – altamente conservados
 - Tamanho adequado para análise evolutiva
- As sequências de rRNA (16S (procarioto) ou 18S (eucarioto)) de 2 organismos diferentes são alinhadas, a porcentagem de similaridade é computada e considerada como uma medida da “distância evolucionária” entre os 2 organismos.



- Banco de dados de sequências de rRNA “Projeto Banco de Dados Ribossômicos II” (<http://rdp.cme.msu.edu>)
- Assim são construídas as ÁRVORES FILOGENÉTICAS
(Woese estabeleceu que existem 3 domínios – Bactérias, Archaea e Eucariótos)

Filogenia Microbiana

Antigamente os seres vivos eram agrupados em: Plantas, animais, fungos, protistas e bactérias

Domínios

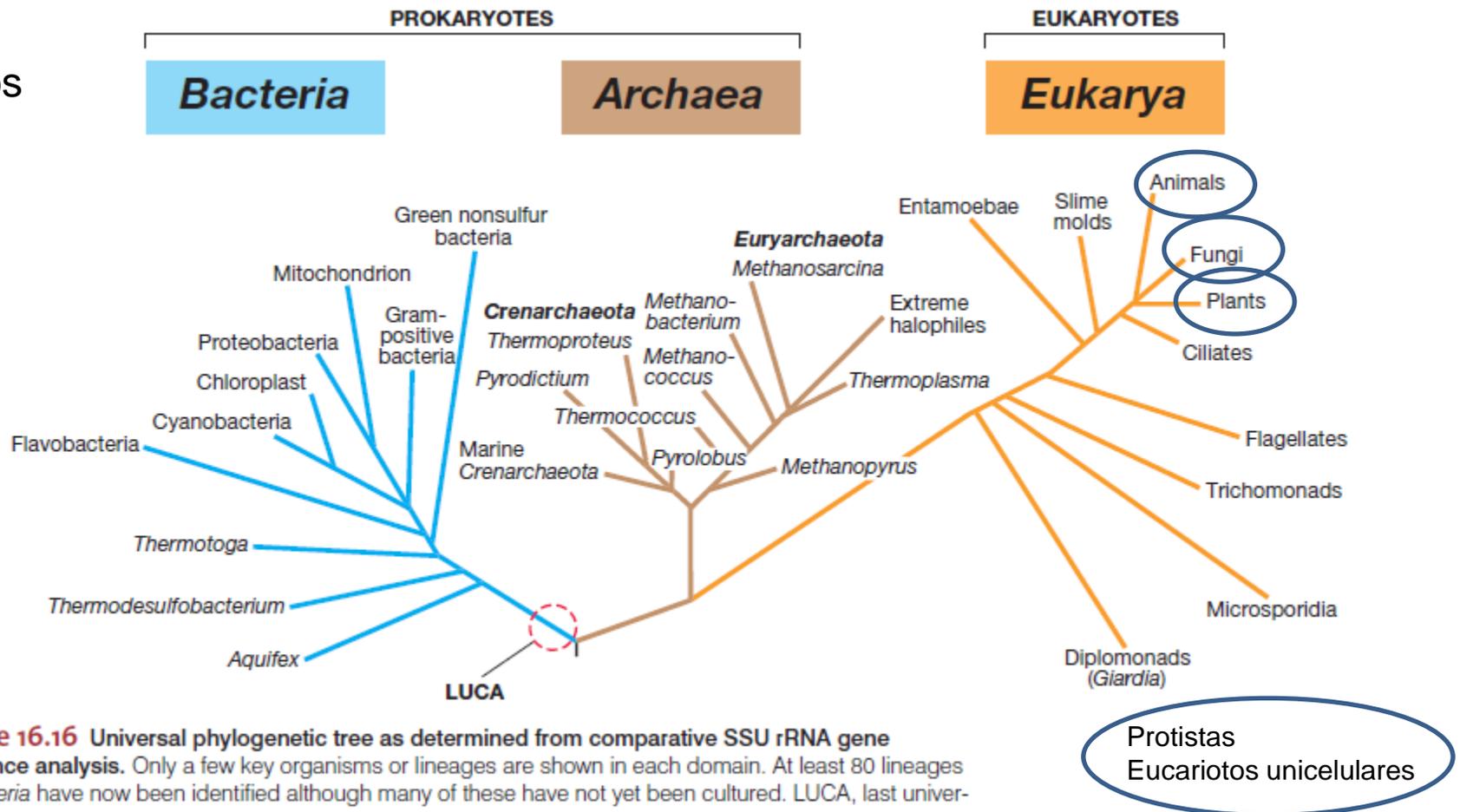
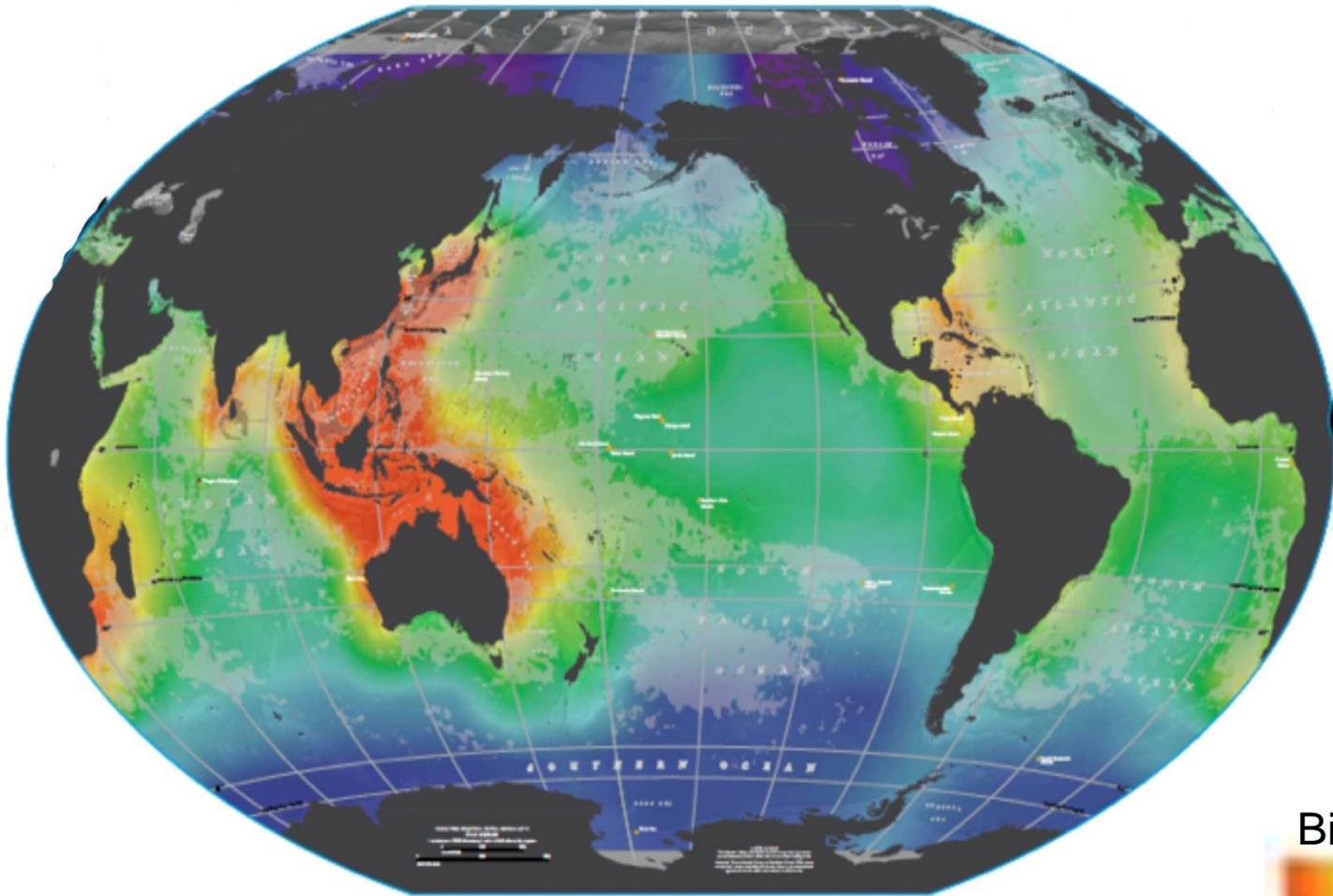


Figure 16.16 Universal phylogenetic tree as determined from comparative SSU rRNA gene sequence analysis. Only a few key organisms or lineages are shown in each domain. At least 80 lineages of *Bacteria* have now been identified although many of these have not yet been cultured. LUCA, last universal common ancestor.

Análise Evolutiva – árvore Filogenética

- Outros genes podem auxiliar na filogenia
 - Fator TU de alongação da síntese proteica
 - Hsp60 – choque térmico
 - tRNA sintetases (vários)
- Relógios Moleculares
 - Correlaciona o número de modificações no DNA com o tempo. O problema é que velocidade de mutação não é constante entre os três domínios
 - Correlações diretas e confiáveis são difíceis
 - Medidas relativas são mais confiáveis

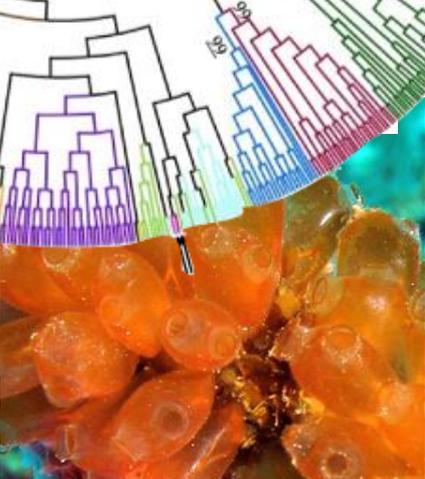
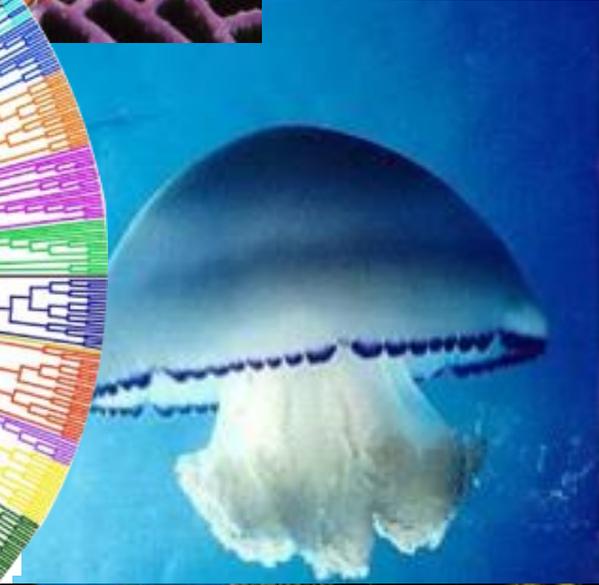
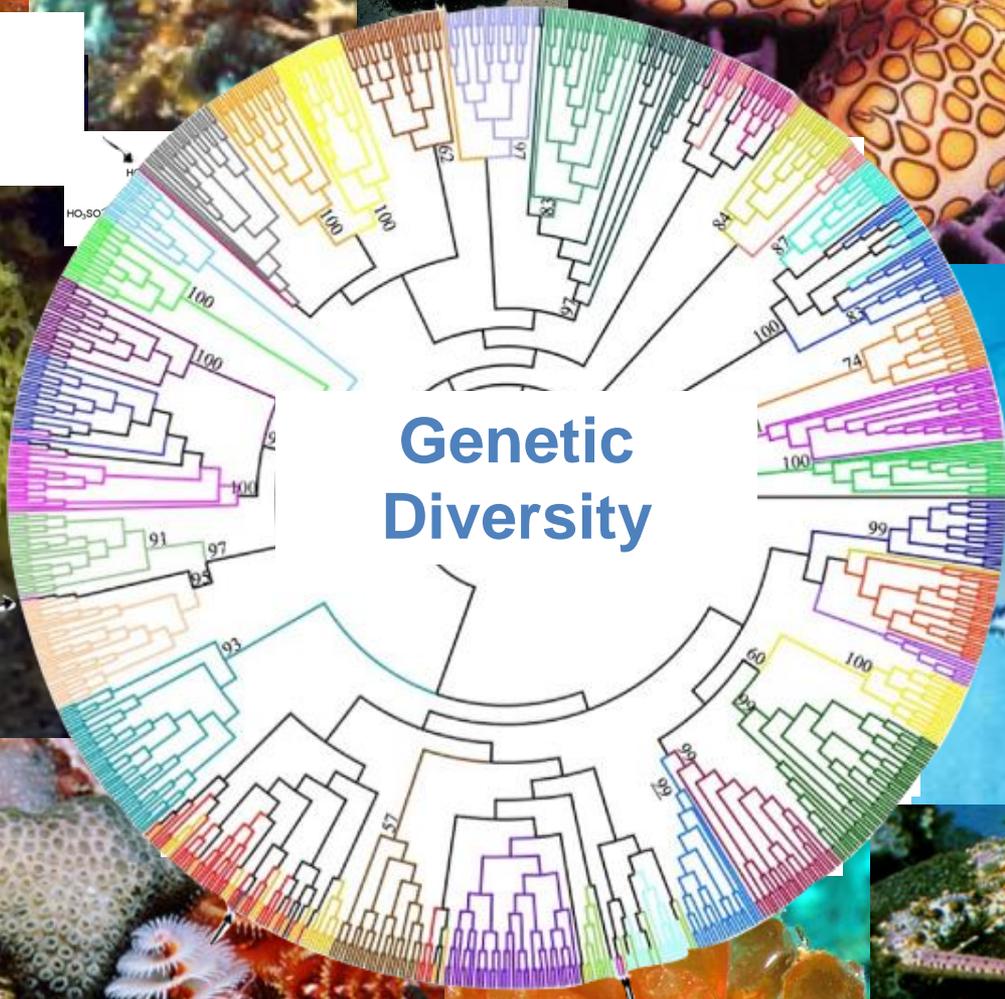
Biological Diversity: Marine



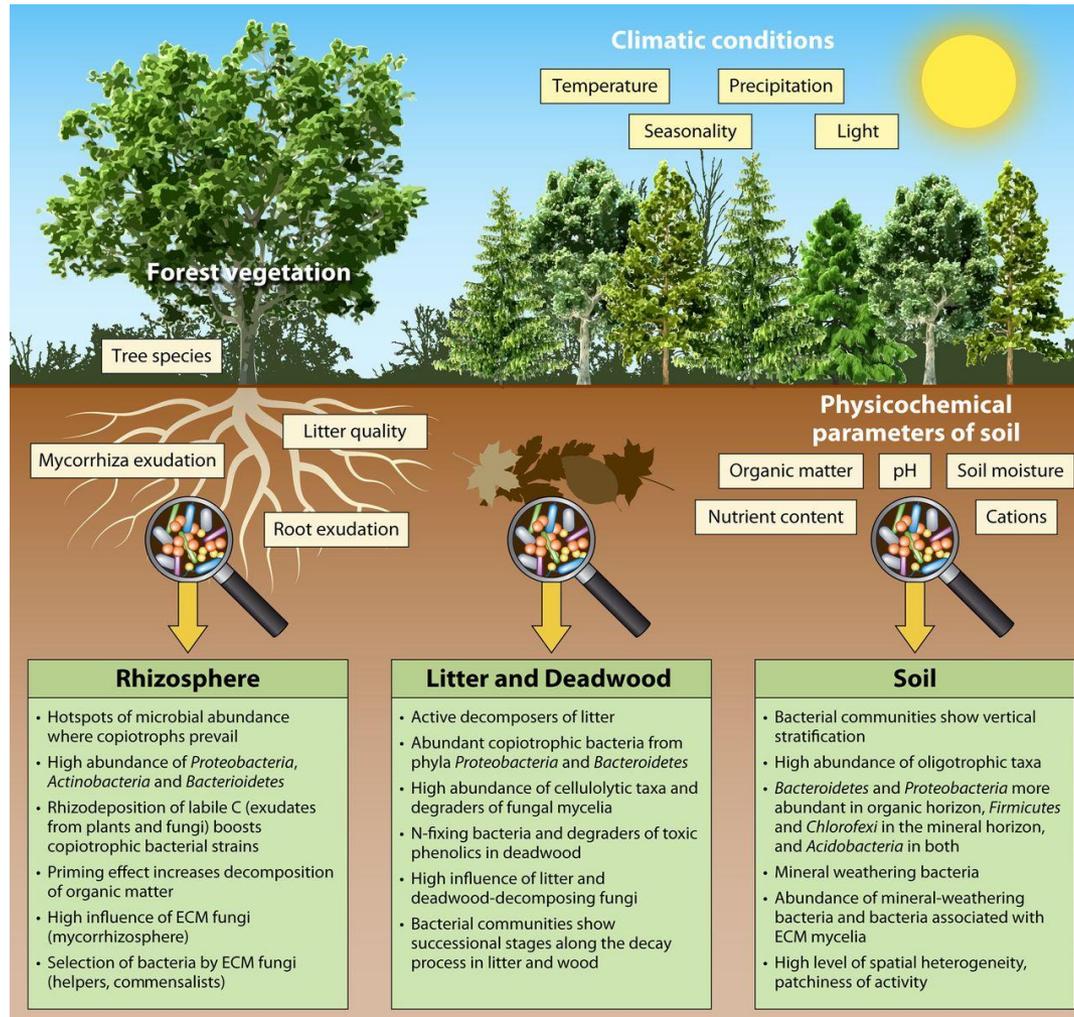
<http://comlmaps.org/oceanlifemap/past-present-future>



**Biological
Diversity**



Drivers of bacterial community composition in forest soils and features of bacterial ecology in the rhizosphere, litter/deadwood, and soil compartments of the forest floor.

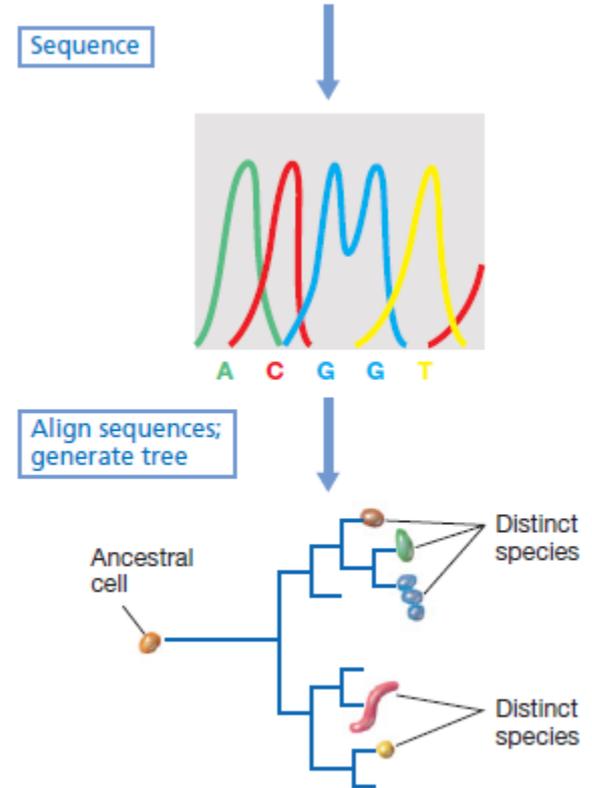
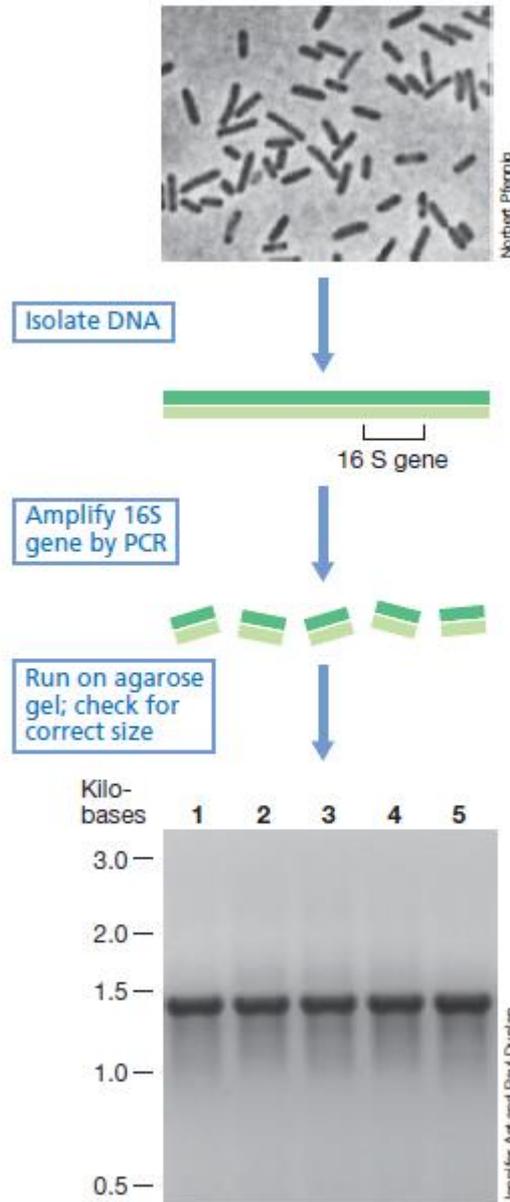


Salvador Lladó et al. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*
2017;81:e00063-16

Microbiology and Molecular Biology Reviews

Métodos Analíticos

- Amplificação da subunidade 16S da rRNA por PCR
- Sequenciamento

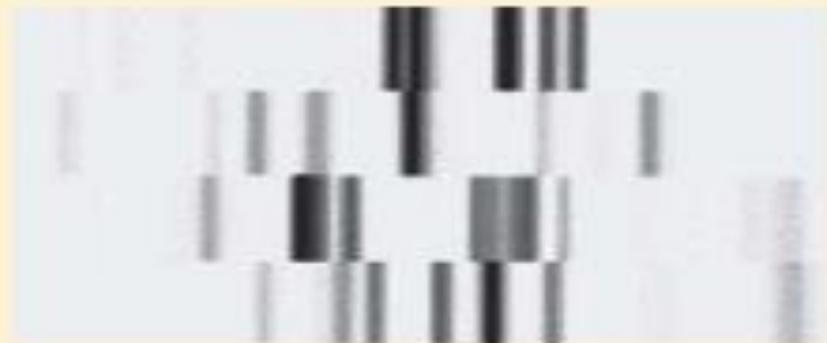


Árvore filogenética baseia-se na homologia – com base no alinhamento de ortólogos

Ribotipagem

- DNA genômico
- Digestão com enzimas de restrição
- Padrão das bandas (Finger print)
- Hibridização com uma sonda marcada de rRNA (16S da rRNA)
- Rápido e específico
- Descriminação entre espécies
- Padrão das bandas (mapa de restrição para plasmídeo) é o ribotipo

*Lactococcus
lactis*
*Lactobacillus
acidophilus*
*Lactobacillus
brevis*
*Lactobacillus
kefir*



Carl A. Batt

Sistemática e Taxonomia

- É o estudo da diversidade dos organismos e suas relações
- Taxonomia, nomeia e classifica os organismos
- Muitos fenótipos são usados para caracterizar os organismos

Table 16.2 *Some phenotypic characteristics of taxonomic value*

| Category | Characteristics |
|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Morphology | Colony morphology; Gram reaction; cell size and shape; pattern of flagellation; presence of spores, inclusion bodies (e.g., PHB, ^a glycogen, or polyphosphate granules, gas vesicles, magnetosomes); capsules, S-layers or slime layers; stalks or appendages; fruiting-body formation |
| Motility | Nonmotile; gliding motility; swimming (flagellar) motility; swarming; motile by gas vesicles |
| Metabolism | Mechanism of energy conservation (phototroph, chemoorganotroph, chemolithotroph); utilization of individual carbon, nitrogen, or sulfur compounds; fermentation of sugars; nitrogen fixation; growth factor requirements |
| Physiology | Temperature, pH, and salt ranges for growth; response to oxygen (aerobic, facultative, anaerobic); presence of catalase or oxidase; production of extracellular enzymes |
| Cell lipid chemistry | Fatty acids ^b ; polar lipids; respiratory quinones |
| Cell wall chemistry | Presence or absence of peptidoglycan; amino acid composition of cross-links; presence or absence of cross-link interbridge |
| Other traits | Pigments; luminescence; antibiotic sensitivity; serotype; production of unique compounds, for example, antibiotics |

^aPHB, poly- β -hydroxybutyric acid ( Section 3.10).

^bFigure 16.19