

II EVOLUÇÃO MICROBIANA

14.5 O processo evolutivo

A evolução é a descendência com modificação, uma alteração na sequência do DNA genômico de um organismo e a herança daquela alteração pela geração seguinte. A partir dessa visão claramente darwiniana da vida, todos os organismos são relacionados pela descendência, a partir de um ancestral que viveu no passado. Traçamos uma hipótese para a origem do mais distante desses ancestrais, LUCA (Seção 14.2). Desde aquele período, há cerca de 4 bilhões de anos, a vida sofreu um extenso processo de alteração, à medida que novos tipos de organismos surgiram a partir de outros tipos, existentes no passado. A evolução também levou à perda de formas de vida, com a extinção de organismos mal sucedidos ao longo do tempo. A evolução é responsável não somente pela vasta diversidade que observamos atualmente, mas também pelo alto grau de complexidade dos organismos modernos. De fato, nenhum organismo vivo atualmente é primitivo. Todas as formas de vida existentes são organismos modernos, bem adaptados e bem sucedidos em seus nichos ecológicos, tendo surgido pelo processo de alterações evolutivas sujeitas à pressão da seleção natural.

Mutações e seleção

Uma variação na sequência do DNA pode surgir de inúmeras maneiras diferentes. A forma mais importante para a evolução dos organismos consiste nas mutações, alterações na sequência nucleotídica do genoma de um organismo (Seções 11.4-11.8). As mutações ocorrem em decorrência de erros na fidelidade da replicação, da radiação UV e de outros fatores, sendo as mutações essenciais para que a vida seja capaz de modificar-se e adaptar-se por seleção natural. Mutações adaptativas são aquelas que aprimoram a adequação de um organismo, aumentando sua capacidade de sobrevivência ou de reprodução em comparação aos organismos competidores. Contrariamente, mutações danosas diminuem a adequação de um organismo. A maioria das mutações, no entanto, é neutra, sem acarretar benefício ou prejuízo à célula e, ao longo do tempo, essas mutações podem acumular-se no genoma do organismo.

Outros processos também contribuem para as alterações hereditárias na sequência genômica de um organismo. Esses incluem a duplicação gênica, a qual pode preparar o cenário para o desenvolvimento evolutivo de novas funções, à medida que a sequência do gene duplicado altera-se ao longo do tempo; a **transferência horizontal de genes** (Seção 13.11), que pode transmitir genes oriundos de linhagens distantes e relacionadas; e a perda gênica, que pode levar à redução do genoma, frequentemente observada em simbioses e parasitas obrigatórios. Além disso, a recombinação de DNA homólogo que sofreu divergência a partir de linhagens estreitamente relacionadas de uma espécie, pode contribuir para a variação.

Independentemente de uma mutação ou outra alteração genética ser neutra, benéfica ou prejudicial, essas alterações propiciam a oportunidade para a seleção de organismos cujos genomas as contenham. À medida que os ambientes modificam-se e novos habitats surgem, as células são submetidas a novas condições, nas quais devem sobreviver e competir pelos nutrientes de forma bem sucedida, ou extinguirem-se. A variação de sequência presente em uma população fornece a matéria-prima a partir da qual a reprodução daqueles indivíduos portando mutações benéficas diante das novas

circunstâncias é favorecida. Retornaremos a esses conceitos posteriormente, em uma discussão sobre a especiação bacteriana, porém, neste momento, analisaremos como rastrear a história evolutiva de um organismo.

Minirrevisão de 14.5

A evolução é a descendência com modificação. A seleção natural atua favorecendo a sobrevivência e a reprodução de organismos que, por acaso, sofreram mutações que aumentam a adequação diante de novas condições ambientais.

- De acordo com a visão darwiniana da vida, todos os organismos são relacionados por _____.
- Que classe de mutação – benéfica, neutra ou prejudicial – é mais comum?
- De que modo o acúmulo de mutações prepara o cenário para a seleção?

14.6 Análise evolutiva: aspectos teóricos

A história evolutiva de um grupo de organismos é denominada **filogenia**, e o principal objetivo da análise evolutiva consiste em conhecer essa história. Pelo fato de não dispormos do conhecimento direto da via evolutiva, exceto em relação a determinadas populações de bactérias cultivadas em laboratório, a filogenia é deduzida indiretamente, a partir de dados da sequência nucleotídica. Nossas premissas são de que todas as bactérias (e todos os organismos) são relacionadas por descendência e que a sequência do genoma de uma bactéria é um registro explícito, embora algumas vezes vago, da ascendência da bactéria. Uma vez que a evolução é um processo de herança de uma alteração na sequência de nucleotídeos, a análise das diferenças nas sequências de DNA dentre as bactérias permite reconstruir sua história filogenética. Agora examinaremos algumas das formas pelas quais esse processo é realizado.

Genes utilizados na análise filogenética

Vários genes são utilizados nos estudos de filogenia molecular dos micro-organismos. Os mais amplamente utilizados e úteis para a definição de relações são os genes que codificam o rRNA 16S (**Figura 14.11**) e seu equivalente eucariótico, rRNA 18S. Estes genes que codificam o **RNA ribossomal da subunidade menor (SSU rRNA, SSU** – do inglês, *small subunit*) foram extensamente utilizados para a análise evolutiva baseada em sequências porque são (1) distribuídos universalmente, (2) funcionalmente constantes, (3) suficientemente conservados (isto é, modificam-se lentamente), e (4) de tamanho adequado, de forma que permitem uma visão da evolução englobando todos os seres vivos.

Carl Woese, da Universidade de Illinois, foi o pioneiro no uso de SSU rRNA em estudos filogenéticos, no início da década de 1970. Seu trabalho estabeleceu a existência de três domínios da vida, *Bacteria*, *Archaea* e *Eukarya*, e forneceu pela primeira vez um arcabouço filogenético unificado para as bactérias. Por seus feitos, Woese foi agraciado pela Academia Real de Ciências da Suécia com o Premio Crafoord, o mais alto reconhecimento para uma realização científica na biologia, em 2003.

Existe um grande e crescente banco de dados referente a sequências de genes de rRNA. Por exemplo, o **Projeto Banco**

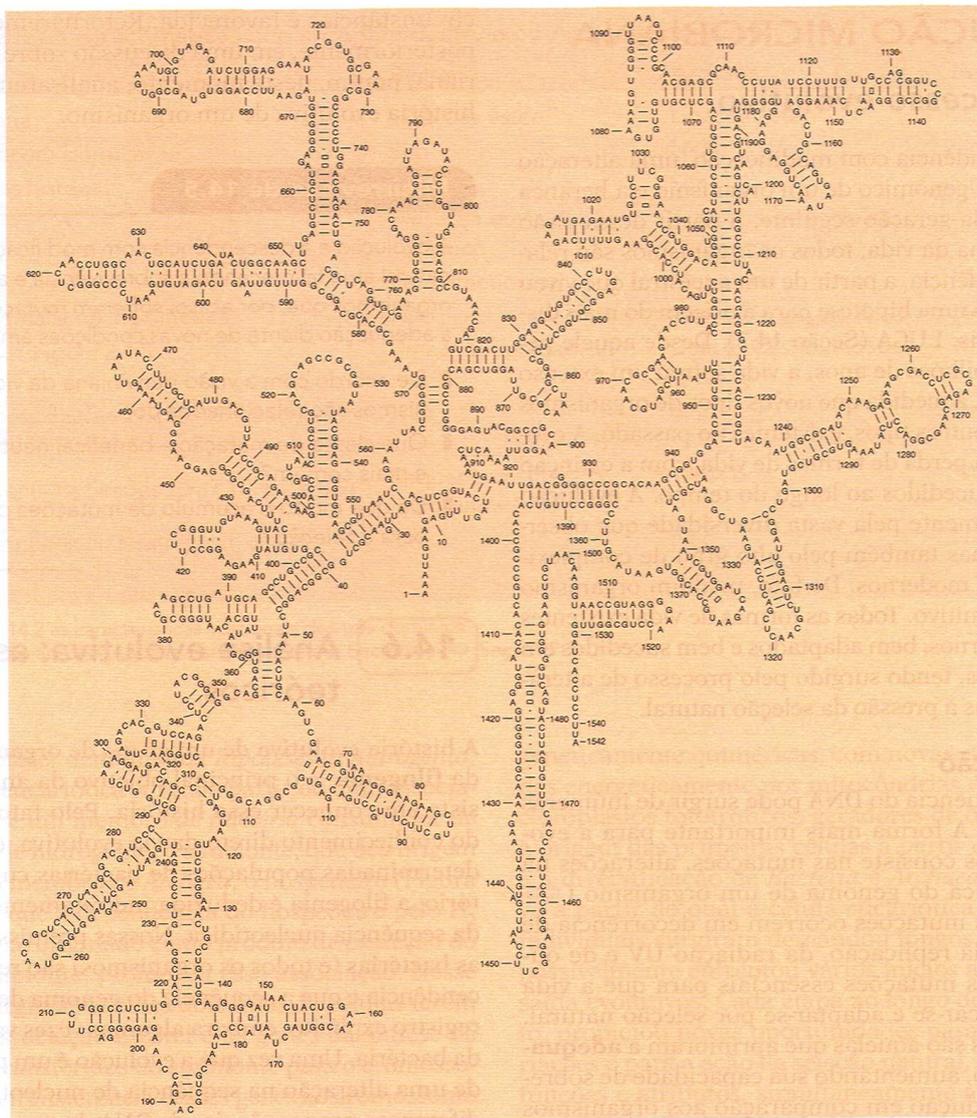


Figura 14.11 RNA ribossomal. Estruturas primária e secundária do rRNA 16S de *Escherichia coli* (Bacteria). O rRNA 16S de *Archaea* tem similaridades globais em relação à estrutura secundária (dobramento), mas numerosas diferenças na estrutura primária (seqüência). Em *Eukarya*, o equivalente ao rRNA 16S bacteriano é o rRNA 18S, presente nos ribossomos citoplasmáticos.

de Dados Ribossomais II (RDP-II; <http://rdp.cme.msu.edu>) possui uma coleção de tais seqüências, atualmente superior a 440.000, e disponibiliza uma variedade de programas analíticos. O gene do rRNA 23S da subunidade maior (LSU rRNA, LSU – do inglês, *large subunit*) é também altamente informativo em termos filogenéticos, sua seqüência mais longa fornece informações adicionais, porém seu comprimento torna o sequenciamento mais dispendioso e demorado. Juntamente com esses genes, aqueles relacionados a diversas proteínas altamente conservadas foram eficientemente utilizados em análises filogenéticas, incluindo o fator TU de alongação da síntese proteica (∞ Seção 7.15), a proteína de choque térmico Hsp60 (∞ Seção 9.11), além de diversas tRNA sintetases (∞ Seção 7.15).

Os genes altamente conservados da SSU e LSU modificaram-se lentamente, fornecendo uma visão da evolução profunda o suficiente para englobar todos os organismos vivos. Esse poder, no entanto, constitui também uma limitação, uma vez que as funções essenciais dos rRNAs aparentemente limitaram o quanto tais genes puderam sofrer modificações ao longo do tempo evolutivo. Consequentemente, o grau de variação encontrado nas seqüências do gene de SSU rRNA pode não ser

suficiente para propiciar uma discriminação adequada das espécies bacterianas. Outro possível problema quando se utiliza um único gene para estudar as relações evolutivas bacterianas é o fato de um determinado gene possivelmente não estar presente em todos os organismos. Um exemplo corresponde ao gene *recA*, que codifica uma enzima recombinase que facilita a recombinação genética em *Bacteria* (∞ Seção 11.9). Genes homólogos a *recA*, isto é, que exibem uma ancestralidade compartilhada com *recA*, não estão presentes em *Archaea* e *Eukarya*, de modo que *recA* não seria adequado para estudos evolutivos, estendendo-se além do domínio *Bacteria*. Discutiremos posteriormente (Seção 14.8) formas de contornar esses problemas na filogenia e taxonomia, mediante o uso de genes cujas seqüências divergiram mais que o gene do rRNA 16S, consequentemente revelando diferenças entre bactérias estreitamente relacionadas, e pelo uso de múltiplos genes em análises evolutivas.

Relógios moleculares

Uma questão não resolvida na filogenética é se as seqüências de DNA (e de proteínas) sofrem alterações em uma ve-

locidade constante. Em caso positivo, a quantidade de modificações entre duas sequências homólogas poderia servir como um relógio molecular ou cronômetro, aproximado da evolução, permitindo estimar quando, no passado, as duas sequências divergiram a partir de uma sequência ancestral comum. As principais suposições envolvidas nessa proposta são acumuladas em uma sequência de forma proporcional ao tempo, que tais alterações geralmente são neutras, não interferindo na função do gene, e que são aleatórias. A ideia do relógio molecular foi utilizada para estimar que o período de divergência de *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*, membros estreitamente relacionados de *Gammaproteobacteria* (∞ Seção 15.11), a partir de um ancestral comum, ocorreu há cerca de 120-140 milhões de anos. Esses dados foram também associados às evidências de registro geológico de isótopos e marcadores biológicos específicos para determinar, de forma aproximada, quando diferentes padrões metabólicos surgiram em bactérias (Seção 14.3).

O principal problema em relação à ideia do relógio molecular, contudo, está no fato de as sequências de DNA sofrerem alterações em velocidades diferentes, significando que correlações diretas e confiáveis em relação a um período de tempo são de difícil execução. Todavia, grande parte das análises filogenéticas refere-se às relações relativas dentre os organismos, ilustradas pela ordem das ramificações nas árvores filogenéticas. Essas relações são geralmente discerníveis, independentes das diferentes sequências sofrerem alteração em taxas similares, de modo que a precisão da abordagem do relógio molecular não é a principal preocupação.

Minirrevisão de 14.6

A história evolutiva da vida, também denominada filogenia, pode ser reconstruída por meio da análise de sequências de DNA. O trabalho de Carl Woese estabeleceu a existência de três domínios da vida. Dois domínios, *Bacteria* e *Archaea*, são desprovidos de núcleo, enquanto o terceiro domínio, *Eukarya*, apresenta núcleo.

- Por que os genes de SSU rRNA são adequados às análises filogenéticas?
- Que informação é fornecida pelo RDP-II?
- Qual o valor dos relógios moleculares nas análises filogenéticas?

14.7 Análise evolutiva: métodos analíticos

A filogenética moderna baseia-se em comparações de sequências nucleotídicas, para as quais foram desenvolvidos métodos específicos. Passaremos a considerar agora esses métodos.

Obtenção de sequências de DNA

A análise filogenética utilizando sequências de DNA depende especialmente da reação de polimerização em cadeia (PCR, do inglês, *polymerase chain reaction*) para obter cópias suficientes de um gene para o sequenciamento eficiente (∞ Seção 12.8). São desenvolvidos iniciadores oligonucleotídicos específicos, os quais se ligam às extremidades do gene de interesse, ou ao DNA que flanqueia o gene, permitindo que a DNA polimerase ligue e copie o gene. A fonte de DNA que apresenta um gene de in-

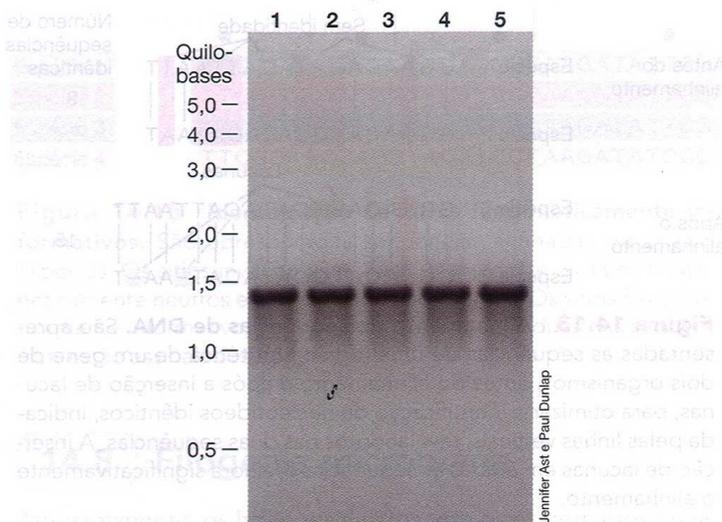


Figura 14.12 Amplificação do gene de rRNA 16S por PCR. Os iniciadores padrão, complementares às extremidades do gene de rRNA 16S, 27f (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') e 1492r (5'-TACGGYTACCTTGTACGACTT-3') foram utilizados para amplificar, por PCR, o gene de rRNA 16S oriundo do DNA genômico de cinco diferentes linhagens bacterianas desconhecidas (poços 1 a 5) e os produtos foram separados por eletroforese em gel de agarose (no iniciador apresentado, Y pode ser C ou T). As bandas de DNA amplificado apresentam aproximadamente 1.465 nucleotídeos. As posições dos marcadores de tamanho do DNA em quilobases são indicadas à esquerda. A excisão do gel e a purificação destes produtos de PCR são seguidas pelo sequenciamento (∞ Seções 12.5 e 22.6) e análise para identificar as bactérias.

teresse normalmente é DNA genômico purificado de linhagens bacterianas individuais. O produto da PCR é então visualizado por eletroforese em gel de agarose (Figura 14.12), excisado do gel, extraído e purificado da agarose, e então sequenciado, frequentemente utilizando os mesmo oligonucleotídeos como iniciadores nas reações de sequenciamento.

Maiores informações sobre PCR, eletroforese em gel e sequenciamento de DNA são apresentadas no Capítulo 12. Um aspecto importante da amplificação por PCR corresponde ao desenho do iniciador, a fim de decidir que sequência de iniciadores deve ser utilizada para amplificar um gene específico. Existem iniciadores padrão para vários genes altamente conservados, como os iniciadores 27f e 1492r, dentre outros, para o gene de rRNA 16S de *Bacteria* (Figuras 14.11 e 14.12). Esses iniciadores padrão permitem que os genes de rRNA 16S de diferentes *Bacteria* sejam amplificados para posterior sequenciamento. Todavia, a amplificação de genes recém-caracterizados ou com maior divergência, frequentemente requer o uso de um programa computacional, e uma série de tentativas e erros, para identificar os iniciadores capazes de amplificar de forma efetiva e específica o gene de interesse.

Alinhamento de sequências

A análise filogenética baseia-se na homologia, isto é, a análise de sequências de DNA que são relacionadas por uma ancestralidade comum. Genes homólogos de diferentes organismos podem ser *ortólogos*, isto é, que diferem devido à divergência de sequência ocorrida à medida que os organismos seguiram diferentes caminhos evolutivos, ou *parálogos*, que surgem pela duplicação gênica (∞ Figura 13.11 e Seção 13.9, para uma explicação adicional destes termos). Uma vez obtida a sequência de

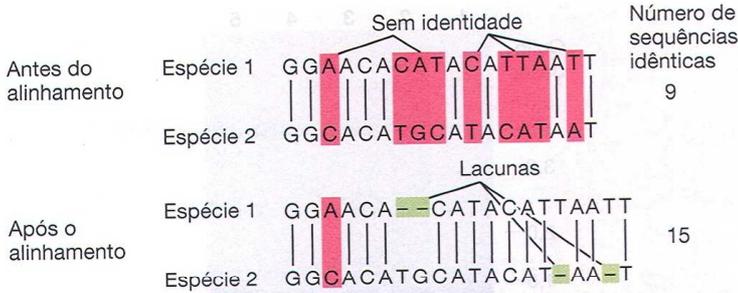


Figura 14.13 Alinhamento de seqüências de DNA. São apresentadas as seqüências de uma região hipotética de um gene de dois organismos, antes do alinhamento e após a inserção de lacunas, para otimizar a identificação de nucleotídeos idênticos, indicada pelas linhas verticais, revelando-os nas duas seqüências. A inserção de lacunas em ambas as seqüências melhora significativamente o alinhamento.

DNA de um gene, a próxima etapa no desenvolvimento de uma filogenia consiste em alinhar aquela seqüência com seqüências de genes homólogos (ortólogos) de outras linhagens ou espécies. Dessa forma, as diferenças entre as seqüências, isto é, os pareamentos incorretos de nucleotídeos, assim como inserções e deleções (lacunas), algumas das quais podem ser filogeneticamente informativas, podem ser exatamente localizados.

A **Figura 14.13** apresenta um exemplo de alinhamento de seqüência. O programa BLAST (do inglês, *Basic Local Alignment Search*, Ferramenta Básica de Busca de Alinhamento Local), disponibilizado na internet pelo National Institutes of Health (Instituto Nacional de Saúde) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>), realiza esse procedimento automaticamente e pode auxiliar na identificação de genes homólogos a uma nova seqüência, a partir da comparação com os vários milha-

res de genes já seqüenciados. Pode-se então realizar o *download* das seqüências homólogas a partir do GenBank (<http://www.ncbi.nih.gov/Genbank>), uma coleção anotada de todas as seqüências de DNA disponíveis ao público, e alinhadas. O alinhamento é crítico para a análise filogenética porque a determinação de pareamentos incorretos e de lacunas corresponde a uma hipótese explícita de como as seqüências divergiram a partir de uma seqüência ancestral comum. Genes codificadores de proteína geralmente são alinhados a partir de suas seqüências de aminoácidos prognosticadas. Outros genes, como aqueles codificadores do rRNA 16S, podem ser alinhados visualmente, ou pelo uso de programas computacionais, desenvolvidos para minimizar o número de pareamentos incorretos e lacunas. A estrutura secundária, por exemplo, o dobramento do **RNA ribossomal 16S** (Figura 14.11), também é útil na realização de alinhamentos gênicos precisos.

Árvores filogenéticas

A reconstrução da história evolutiva a partir de diferenças observadas nas seqüências nucleotídicas envolve a construção de um *árvore filogenética*, que consiste em uma ilustração gráfica das relações entre as seqüências dos organismos em estudo, muito semelhante a uma árvore genealógica. Uma árvore filogenética é composta de nós e ramos (**Figura 14.14**). Os nós internos são pontos da evolução onde um ancestral divergiu em duas novas entidades, cada uma das quais passou então a acumular diferenças durante sua subsequente evolução independente. Os ramos definem (1) a ordem de descendência e (2) a ancestralidade dos nós, enquanto o comprimento do ramo representa o número de al-

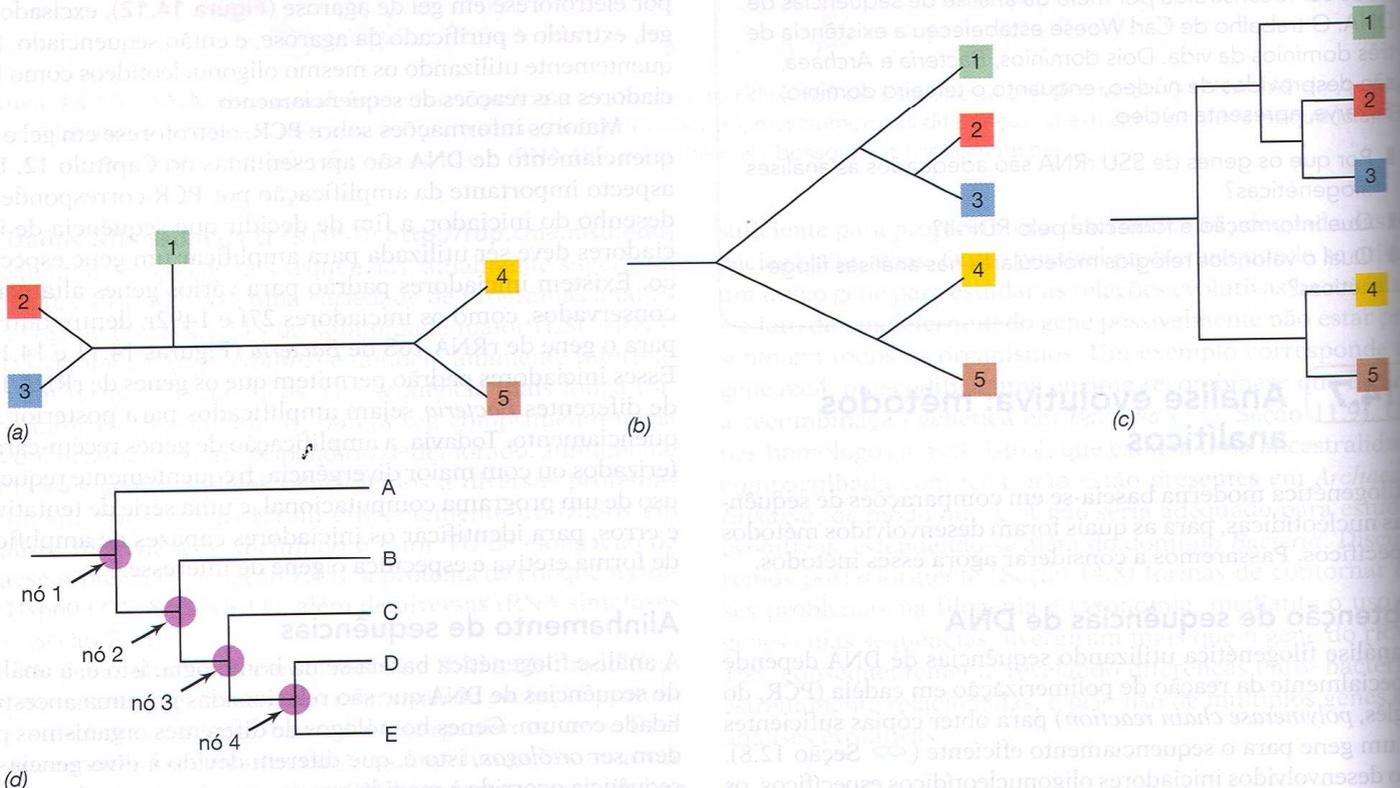


Figura 14.14 Árvores filogenéticas. São apresentadas formas de uma árvore filogenética sem raiz (a) e com raiz (b-d). Os nós nas pontas são as espécies (ou linhagens) e os nós internos são os ancestrais. Relações ancestrais são reveladas pela ordem de ramificação das árvores com raiz (d).

terações que ocorreram ao longo daquele ramo. As árvores podem ser *sem raiz*, exibindo as relações entre as linhagens bacterianas em estudo, mas não a trajetória evolutiva levando do ancestral até a linhagem (Figura 14.14a), ou *com raiz*, em cujo caso a trajetória única de um ancestral (nó interno) até cada linhagem é definida (Figura 14.14b-d). As árvores recebem raiz pela inclusão na análise de um *grupo externo*, uma bactéria que exibe menor relação com os organismos em estudo do que os organismos entre si, mas que compartilha com esses homólogos ao gene ou genes em estudo.

Uma árvore filogenética é uma descrição das linhas de descendência e da relação entre dois organismos, portanto, deve ser lida em termos da ancestralidade comum. Isto é, quanto mais recente o compartilhamento de um ancestral comum por duas espécies, mais estreitamente relacionadas elas são. A árvore apresentada na Figura 14.14d ilustra essa questão. A espécie B é mais estreitamente relacionada à espécie C do que à espécie A, pois B e C compartilham um ancestral comum mais recente (nó 2) do que B e A (nó 1).

Reconstrução da árvore

A análise evolutiva moderna utiliza métodos de estado de caráter, também denominados *cladística*, para a reconstrução de árvores. Os métodos de estado de caráter definem as relações filogenéticas examinando as alterações de nucleotídeos em posições individuais da sequência, utilizando aqueles caracteres que são *filogeneticamente informativos*. Esses são os caracteres que definem um grupo **monofilético**. A Figura 14.15 descreve como os caracteres filogeneticamente informativos são reconhecidos. A análise computacional dessas alterações gera uma árvore filogenética, ou *cladograma*.

Um método cladístico amplamente utilizado corresponde à *parcimônia*, que se baseia no pressuposto de que a evolução provavelmente seguiu o caminho que requeria o menor número de alterações. Algoritmos computacionais baseados na parcimônia propiciam uma forma de identificar a árvore com o menor número de alterações de caracteres. Outros métodos cladísticos, a *probabilidade máxima* e a *análise Bayesiana*, atuam como a parcimônia, porém diferem pelo fato de assumirem um modelo de evolução, por exemplo, onde determinados tipos de alterações nucleotídicas são mais comuns do que outras (p. ex., a alteração de A para C ocorre com maior frequência que uma alteração de A para T ou G). Aplicativos computacionais de baixo custo, como PAUP* (do inglês, *Phylogenetic Analysis Under Parsimony, and Other Methods*), guias e tutoriais *online*, estão disponíveis para o aprendizado dos procedimentos básicos da análise cladística e de reconstrução de árvores.

Minirrevisão de 14.7

Métodos analíticos utilizados na análise evolutiva incluem o alinhamento de sequências e a reconstrução de árvores filogenéticas, as quais devem ser interpretadas em termos de ancestralidade comum. Métodos de estado de caráter, como a parcimônia, são utilizados para a reconstrução de árvores

- Como são obtidas as sequências de DNA para a análise filogenética?
- O que é retratado por uma árvore filogenética?
- Por que o alinhamento de sequências é crítico para a análise filogenética?

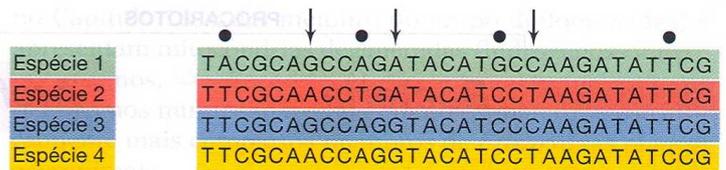


Figura 14.15 Identificação de sítios filogeneticamente informativos. São apresentadas sequências alinhadas de quatro espécies. Os sítios invariantes não são marcados e os sítios filogeneticamente neutros estão indicados por pontos. Os sítios filogeneticamente informativos, variando em pelo menos duas das sequências, estão assinalados por uma seta.

14.8 Filogenia microbiana

Anteriormente, os biólogos agrupavam os organismos vivos em cinco reinos: plantas, animais, fungos, protistas e bactérias. A análise filogenética baseada nas sequências de DNA, ao contrário, revelou que os cinco reinos não representam cinco linhas evolutivas primárias. Em vez disso, conforme destacado no Capítulo 2, a vida celular na Terra evoluiu ao longo de três linhagens primárias, denominadas **domínios**, quais sejam *Bacteria*, *Archaea* e *Eukarya*. Dois destes domínios, *Bacteria* e *Archaea*, são exclusivamente microbianos e constituídos somente por células desprovidas de um núcleo envolto por membrana (isto é, células procarióticas). A terceira linhagem é composta pelos eucariotos (Figura 14.16), sendo primariamente microbiana (isto é, unicelular), e incluindo todos os cinco reinos originais, exceto as bactérias. Os termos *Bacteria*, *Archaea* e *Eukarya* designam os três domínios da vida, sendo domínio o táxon biológico mais elevado. Assim, plantas, animais, fungos e protistas são os reinos pertencentes ao domínio *Eukarya*.

Uma filogenia da vida baseada no gene de SSU rRNA

A **árvore filogenética universal** baseada em genes de SSU rRNA (Figura 14.16) corresponde à genealogia de toda a vida na Terra. Ela retrata a história evolutiva das células de todos os organismos, revelando claramente os três domínios. A raiz da árvore universal representa um ponto da história evolutiva em que toda a vida existente na Terra compartilhava um ancestral comum, LUCA, o último ancestral universal comum.

Sequências completas de DNA genômico confirmaram o conceito de *Archaea*, cujas espécies contêm um grande conjunto de genes, sem equivalentes em *Bacteria* e *Eukarya*. O conceito de três domínios é também sustentado pela análise de genes específicos compartilhados por todos os organismos. A análise de mais de 30 genes presentes em mais de 190 espécies de *Bacteria*, *Archaea* e *Eukarya*, cujos genomas foram totalmente sequenciados, confirma a separação distinta e inequívoca dessas três linhas de descendência. Embora a ordem das ramificações e as relações entre algumas linhagens de *Bacteria*, *Archaea* e *Eukarya* estejam sujeitas a revisões à medida que novos conhecimentos são adquiridos, a análise de múltiplos genes, a partir de estudos genômicos, sustenta a estrutura básica da vida proposta por Woese, com base na análise de sequências de genes de SSU rRNA.

A presença de genes comuns em *Bacteria*, *Archaea* e *Eukarya* suscita uma interessante questão. Se essas linhagens

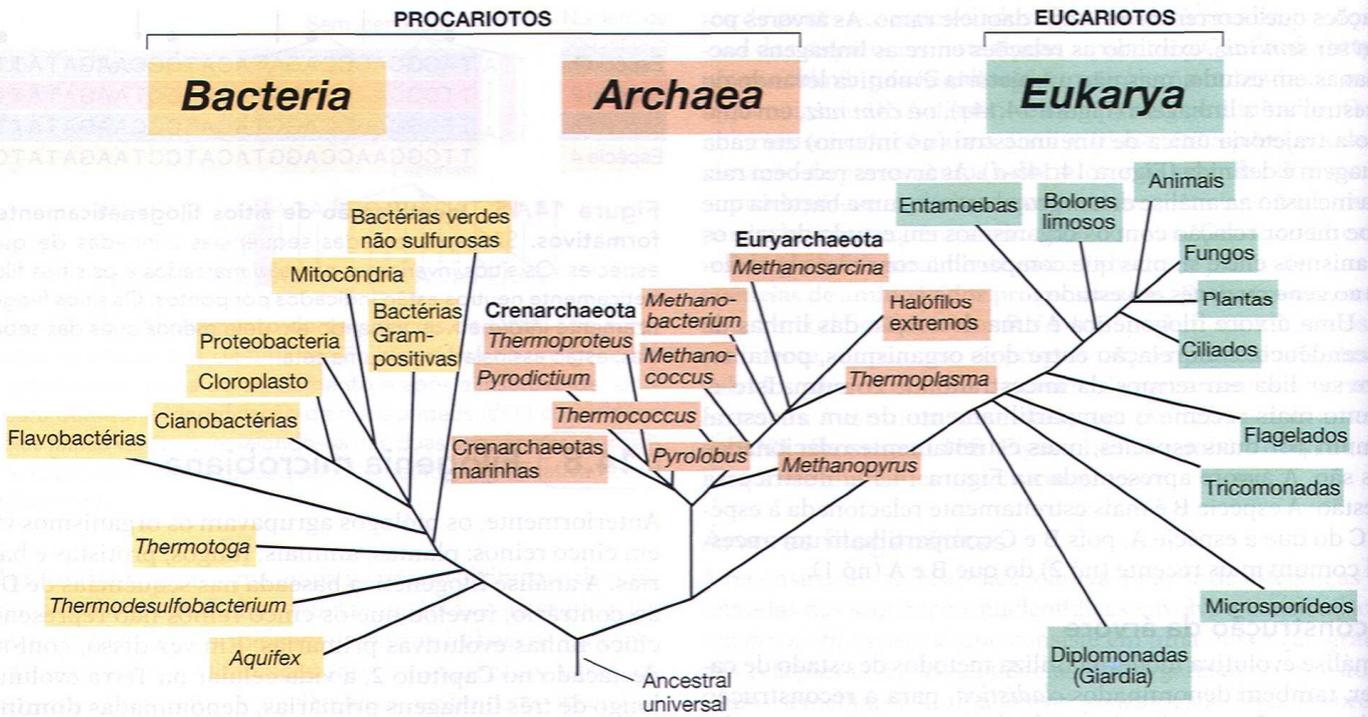


Figura 14.16 Árvore filogenética universal, determinada pela análise comparativa de seqüências do gene de rRNA. São apresentados apenas alguns dos principais organismos ou linhagens de cada domínio. Dos três domínios, dois (*Bacteria* e *Archaea*) contêm apenas organismos desprovidos de núcleo envolto por membrana (células procarióticas, ∞ Seção 2.5).

divergiram há tanto tempo a partir de um ancestral comum, por que compartilham tantos genes? Uma hipótese propõe que, nos primórdios da história da vida, antes da divergência dos domínios primários, houve extensa transferência horizontal de genes (∞ Seção 13.11). Durante esse período, os genes codificadores de proteínas que conferiam adequação excepcional, por exemplo, os genes das funções celulares centrais de transcrição e tradução, foram promiscuamente transferidos entre uma população de organismos primitivos, derivados de uma célula ancestral comum. Se verdadeiro, esse fato explicaria por que, conforme demonstrado pelas análises genômicas, todas as células, independentemente do domínio, apresentam vários genes funcionais centrais em comum, como seria esperado, caso todas as células compartilhassem um ancestral comum (Figura 14.16).

Como interpretar as diferenças genéticas observadas em seqüências genômicas completas? Há hipóteses adicionais de que, ao longo do tempo, foram desenvolvidas barreiras contra a transferência horizontal irrestrita, talvez decorrentes da colonização seletiva de habitats (consequentemente, originando o isolamento reprodutivo), ou como resultado de barreiras estruturais ou enzimáticas (p. ex., uma endonuclease de restrição), que impediram de alguma forma a livre permuta genética. Como resultado, a população anteriormente promíscua do ponto de vista genético passou a separar-se nas linhas primárias de descendência evolutiva, as *Bacteria* e *Archaea* (Figura 14.16). À medida que cada linhagem continuou a evoluir, determinadas características biológicas específicas fixaram-se em cada grupo. Atualmente, após cerca de quatro bilhões de anos de evolução microbiana (Figura 14.7), podemos observar o grande resultado: três domínios de vida celular que, por um lado, compartilham várias características em comum mas, por outro, têm histórias evolutivas próprias e distintas.

Bacteria

Dentre as *Bacteria*, foram descobertos pelo menos 80 grupos evolutivos principais (denominados **filos** ou divisões) até o momento; vários dos principais são apresentados na árvore universal, na Figura 14.16. Muitos grupos foram definidos somente a partir de seqüências ambientais (Seção 14.9). Algumas das linhagens do domínio *Bacteria* foram previamente distinguidas por algumas propriedades fenotípicas, como a morfologia ou fisiologia; as espiroquetas (∞ Seção 16.16) e as cianobactérias (∞ Seção 16.7), respectivamente, correspondem a bons exemplos desse fato. No entanto, a maioria dos grupos principais de *Bacteria* consiste em espécies que, embora especificamente relacionadas do ponto de vista filogenético, não tem semelhança fenotípica significativa. As **proteobactérias** são um bom exemplo; a variedade de tipos fisiológicos presente nesse grupo abrange todas as formas conhecidas de fisiologia microbiana. Esse fato indica de forma clara que a fisiologia e a filogenia não estão necessariamente associadas.

As organelas eucarióticas claramente originaram-se a partir do domínio *Bacteria*. Conforme apresentado na árvore universal, as mitocôndrias surgiram a partir de *Proteobacteria*, um importante grupo de *Bacteria* (Figura 14.16), especificamente de um organismo relacionado a *Rhizobium* e às riquetsias. Curiosamente, assim como as mitocôndrias, esses organismos vivem de forma intracelular, tanto em plantas (∞ Seções 24.14 e 24.15), como em animais (∞ Seções 15.13 e 35.3). Os cloroplastos surgiram a partir do filo das cianobactérias (Figuras 14.10 e 14.16), conforme o esperado, uma vez que ambos realizam a fotossíntese oxigênica (∞ Seção 20.5).

Archaea

Em uma perspectiva filogenética, o domínio *Archaea* consiste em dois grupos, *Crenarchaeota* e *Euryarchaeota* (Figura

14.16). Ramificando-se próximo à raiz da árvore universal, estão os *Crenarchaeota* hipertermofílicos, como *Thermoproteus*, *Pyrolobus* e *Pyrodicticum* (Figura 14.16). Eles são seguidos pelos *Euryarchaeota*, as *Archaea* produtoras de metano (metanogênicas) e os halófilos extremos; *Thermoplasma*, um membro de *Archaea* desprovido de parede celular, acidófilo e termofílico, relaciona-se fracamente a este último grupo (Figura 14.16).

Alguns ramos na linhagem *Crenarchaeota* (Figura 14.16 e Figura 17.1) são conhecidos somente a partir da amostragem de genes ribossomais de comunidades ambientais (Seções 14.9, 13.13 e 22.6). Curiosamente, no entanto, essas sequências são oriundas de organismos que habitam mares abertos, incluindo as águas do oceano Antártico, onde as temperaturas são muito mais baixas do que nas fontes quentes ou nas fendas hidrotermais profundas, habitats de *Crenarchaeota* conhecidos (Seção 17.9). Outras sequências de *Crenarchaeota* foram obtidas a partir de amostras ambientais de solos e águas lacustres. Discutiremos os *Crenarchaeota* adaptados ao frio, em maiores detalhes, na Seção 17.12.

Eukarya

As árvores filogenéticas das espécies do domínio *Eukarya* são construídas a partir da análise comparativa das sequências do gene de rRNA 18S, o equivalente funcional do gene de rRNA 16S. O domínio *Eukarya* inclui uma grande diversidade de organismos. Em um extremo estão os microspóridios e diplomonadas unicelulares, parasitas obrigatórios que vivem em associação com representantes de vários grupos de eucariotos (p. ex., o patógeno *Giardia*, discutido

no Capítulo 18, é um membro do grupo diplomonadas) e apresentam mitocôndrias degeneradas (hidrogenossomos e mitossomos, Seção 18.4). No outro extremo estão os organismos multicelulares, incluindo os maiores e estruturalmente mais complexos membros de *Eukarya*, as plantas e os animais.

Quando o registro fóssil é comparado à árvore filogenética de *Eukarya*, o início de uma rápida radiação evolutiva pode ser datada em cerca de 2 bilhões de anos. A evidência geoquímica sugere ser esse o período na história da Terra em que houve o acúmulo de concentrações significativas de oxigênio na atmosfera (Figura 14.7). Portanto, é provável que o estabelecimento de condições óxicas e o desenvolvimento subsequente de uma camada de ozônio (que teria expandido significativamente o número de habitats superficiais disponíveis à colonização) corresponderam a um importante fator desencadeador da rápida diversificação do domínio *Eukarya*. Discutimos os principais grupos de *Eukarya* microbianos e sua biologia no Capítulo 18.

Características diferenciais dos domínios da vida

Embora os domínios primários (*Bacteria*, *Archaea* e *Eukarya*) tenham sido definidos com base no sequenciamento comparativo do gene do RNA ribossomal – critérios genéticos – cada domínio pode também ser caracterizado por várias propriedades fenotípicas. A Tabela 14.1 relaciona as características que vinculam *Eukarya* a *Bacteria* ou *Archaea*. Outras propriedades diferenciam *Eukarya* de *Bacteria* e *Archaea*, sendo elas resumidas na Tabela 14.2. Os Capítulos 4, 8 e 18 fornecem informações adicionais sobre essas propriedades.

Tabela 14.2 Principais características distintivas de *Bacteria*, *Archaea* e *Eukarya*^a

Característica	<i>Bacteria</i>	<i>Archaea</i>	<i>Eukarya</i>
Morfológica e Genética			
Estrutura celular procariótica	Sim	Sim	Não
Presença de DNA na forma circular, covalentemente fechada	Sim	Sim	Não
Núcleo envolto por membrana	Ausente	Ausente	Presente
Ribossomos (massa)	70S	70S	80S
Introns na maioria dos genes	Não	Não	Sim
Operons	Sim	Sim	Não
Adição de <i>cap</i> e cauda poli(A) no mRNA	Não	Não	Sim
Plasmídeos	Sim	Sim	Raros
Estruturas Fisiológicas/Especiais			
Redução dissimilativa de S ⁰ ou SO ₄ ²⁻ a H ₂ S, ou Fe ³⁺ a Fe ²⁺	Sim	Sim	Não
Nitrificação	Sim	Não ^b	Não
Denitrificação	Sim	Sim	Não
Fixação de nitrogênio	Sim	Sim	Não
Metabolismo energético baseado em rodopsina	Sim	Sim	Não
Quimiolitotrofia (Fe, S, H ₂)	Sim	Sim	Não
Vesículas de gás	Sim	Sim	Não
Síntese de grânulos de armazenamento de carbono, compostos por poli-β-hidroxialcanoatos	Sim	Sim	Não
Crescimento acima de 70°C	Sim	Sim	Não

^aObserve que algumas propriedades são apresentadas somente por determinados representantes do domínio.

^bEstudos genômicos ambientais de *Bacteria* e *Archaea* em águas oceânicas sugerem fortemente a existência de *Archaea* nitrificantes (Seção 22.6).

Minirrevisão de 14.8

A vida na Terra evoluiu ao longo de três linhas principais, os domínios *Bacteria*, *Archaea* e *Eukarya*. Cada domínio é constituído por vários grupos evolutivos principais.

- Como a árvore da vida baseada em SSU rRNA difere da divisão da vida baseada em cinco reinos?
- Que evidências sustentam o conceito de três domínios da vida?
- De que forma a árvore universal sustenta a hipótese da endossimbiose (Figura 14.10)?