

The background of the slide is a collage of four panels, each containing various colorful illustrations of microorganisms. The top-left panel shows purple and red elongated forms, green spheres, and a pink chain of cells. The top-right panel features large red, multi-armed organisms and green circular structures. The bottom-left panel depicts green, fan-like structures, blue circular forms, and a yellow ladder-like structure. The bottom-right panel shows a dense cluster of red and orange spheres, with blue branching structures at the base. A central blue circle with a white border contains the text.

**Microrganismos
com Potencial
Biotecnológico**

(Organizadores)

Fábio Luís Maciel
Cássia Beatriz Silva de Souza
Cassio Breno Reis Carvalho Vieira
Évelyn Lucélia da Silva Salbego
Gabriela Denardi Balzan
Ícaro Da Ré
Victória Martins Sávio

Microrganismos com Potencial Biotecnológico

1º Edição

Universidade Estadual do Rio Grande do Sul – Curso de Engenharia
de Bioprocessos e Biotecnologia

Bento Gonçalves

UERGS

2020

ISBN 9786586105155

Sobre os Organizadores desta publicação:

Fábio Luís Maciel

Docente – Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, UERGS – Bento Gonçalves

Cássia Beatriz Silva de Souza

Acadêmica – Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, UERGS – Bento Gonçalves

Cassio Breno Reis Carvalho Vieira

Acadêmico – Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, UERGS – Bento Gonçalves

Évelyn Lucélia da Silva Salbego

Acadêmica – Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, UERGS – Bento Gonçalves

Gabriela Denardi Balzan

Acadêmica – Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, UERGS – Bento Gonçalves

Ícaro Da Ré

Acadêmico – Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, UERGS – Bento Gonçalves

Victória Martins Sávio

Acadêmica – Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, UERGS – Bento Gonçalves

REVISÃO DA PUBLICAÇÃO

Adriana Marianna dos Santos Marques

Bacharel em Letras – Português, Latim, Literaturas, UERJ – Rio de Janeiro

DESIGN E CRIAÇÃO DA CAPA

Lisete Lorensatti

Mestre em Bioquímica – UFRGS e Artista Plástica – AAPLASG

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL GESTÃO 2018/2022

Reitor

Prof. Dr. Leonardo Beroldt

Vice-reitora

Prof.^a. Dr.^a. Sandra Monteiro Lemos

*Todos os direitos reservados.

© 1. ed. 2020 – Organizadoras (es) da Publicação

Qualquer parte desta publicação pode ser reproduzida, desde que citada a fonte.

Esta publicação pode ser disponibilizada, no todo, em Repositórios Digitais.

E-book – PDF

Catálogo de publicação na fonte (CIP)

M626 Microrganismos com potencial biotecnológico/ Organizadores (as): Fábio Luís Maciel... [et al.]. – Bento Gonçalves - RS: UERGS, 2020.

148 f.: il.

ISBN 9786586105155

1. Domínio *Archaea*. 2. Domínio *Bacteria*. 3. Reino *Fungi*. 4. Reino *Protista*. I. Maciel, Fábio Luís. II. Souza, Cássia Beatriz Silva de. III. Carvalho, Cassio Breno Reis de. IV. Salbego, Évelyn Lucélia. V. Balzan, Gabriela Denardi. VI. Da Ré, Ícaro. VII. Sávio, Victória. VIII. Título.

CDU: 579.22: 57.08

Elaborada pelo bibliotecário Marcelo Bresolin – CRB 10/2136

SUMÁRIO

Autores e revisão.....	03
Introdução.....	06
Apresentação da Ficha Técnica.....	09
Domínio <i>Bacteria</i>.....	10
Domínio <i>Archaea</i>.....	63
Reino Protista (Microalgas).....	93
Reino <i>Fungi</i> (Leveduras e Fungos Filamentosos).....	123

A diversidade microbiana representa uma importante fonte de recursos genéticos para o avanço da biologia e da biotecnologia. Estudos recentes em ecologia e biologia molecular têm demonstrado que a extensão e a heterogeneidade da diversidade microbiana na natureza é muito maior do que o previamente estimado e que a distribuição desses organismos é universal, abrangendo praticamente todos os ambientes do planeta e onde quer que as condições físico-químicas o permitam, incluindo-se ambientes extremos, sob temperaturas abaixo de 0°C em ambientes glaciais, acima de 100°C em fontes termais oceânicas a grandes profundidades, em condições de extrema salinidade em lagos saturados de cloreto de sódio ou hidróxido de sódio e, até mesmo, em fraturas de rochas continentais (incluindo rochas da Antártida), ou a quilômetros abaixo da superfície terrestre – inclusive, atualmente, existe renovado interesse na ecologia e na diversidade da vida microbiana presente em ambientes extremos, em especial porque teoriza-se que sua existência possa ser útil como modelo de estudo para a vida em outros planetas.

Os microrganismos podem ser considerados os pilares da vida na Terra. Ao longo de bilhões de anos, eles evoluíram para todos os nichos concebíveis do planeta, remodelaram os oceanos e a atmosfera e deram origem a condições propícias aos organismos multicelulares. Somente na década passada começamos a investigar profundamente o universo microbiano, e o que descobrimos é incrível. Os ecossistemas microbianos se comportam de várias maneiras, como ecossistemas de grande escala, embora existam exceções importantes. Analisamos os recentes avanços em nossa compreensão de como a diversidade microbiana é distribuída entre os

ambientes, como os micróbios influenciam os ecossistemas em que vivem, e como essas nanomáquinas podem ser aproveitadas para melhorar nossa compreensão do mundo natural. Descobrimos que eles desempenham funções únicas e cruciais na manutenção de ecossistemas, como componentes fundamentais das cadeias alimentares e dos ciclos biogeoquímicos, representando quase 90% das espécies da biosfera. Contudo, apesar de sua grande importância na sobrevivência e manutenção das formas de vida na biosfera, estima-se que menos de 10% dos microrganismos existentes no planeta tenham sido caracterizados e descritos, com os maiores esforços envidados no estudo da biodiversidade dos macrorganismos (mamíferos, aves, peixes e plantas). Em decorrência disso, conhecemos mais de 80% das plantas e mais de 90% dos vertebrados existentes na natureza, enquanto somente cerca de 1% das bactérias e vírus, e menos de 5% dos fungos.

Embora a real amplitude da diversidade microbiana ainda esteja sendo estudada, caracterizada e melhor descrita, é importante ressaltar que, nos últimos anos, grande parte dos avanços da biotecnologia e da agricultura deriva das descobertas nas áreas da genética, fisiologia e metabolismo dos microrganismos. Estratégias tradicionais de isolamento, estudo e seleção têm permitido explorar a diversidade genética e metabólica dos microrganismos visando à obtenção de uma ampla variedade de produtos ou processos biotecnológicos, tais como: a produção de novos antibióticos, fármacos e agentes terapêuticos ou profiláticos imunológicos, hormônios e vitaminas, alimentos de alto teor protéico (cogumelos comestíveis e suplementos alimentares), fermentados (molho de soja, probióticos) ou processados (queijo, iogurte, vinagre), bebidas alcoólicas (vinho, cerveja), ácidos orgânicos (cítrico e fumárico), álcoois (etanol), enzimas e polímeros para

aplicações industriais e tecnológicas, além de processos de tratamento e/ou biorremediação de poluentes e resíduos (esgotos domésticos, efluentes industriais, lixo), e de biolixiviação e recuperação de minérios, bem como na agricultura, em especial, na fertilização de solos (fixação biológica de nitrogênio e fósforo), no controle biológico de pragas e doenças (controle da lagarta da soja, da cigarrinha da cana de açúcar, de fitopatógenos como *Rhizoctonia*, entre muitos outros), ou no desenvolvimento de agentes de proteção e promoção do crescimento das plantas.

Os benefícios científicos esperados a partir de um maior conhecimento sobre a diversidade microbiana são extensos, entre outros, a melhor compreensão das funções exercidas pelas comunidades microbianas nos ambientes terrestres e o conhecimento das suas interações com outros componentes da biodiversidade, como por exemplo, as plantas e os animais. Os benefícios econômicos e estratégicos estão relacionados, por sua vez, com a descoberta de microrganismos potencialmente exploráveis e úteis para o desenvolvimento de novos processos biotecnológicos. Outros benefícios de destaque incluem o desenvolvimento de kits diagnósticos de doenças humanas, de animais e de plantas, e a otimização da capacidade microbiana para a fertilização dos solos e a despoluição das águas, além de tecnologias de biocatálise e química verde, de produção de biopolímeros e biomateriais, biosurfactantes e emulsificantes, entre muitos outros bioprodutos. A diversidade de aplicações dos microrganismos encontra-se na mesma escala que a dos produtos químicos. E o mais relevante – a variedade de aplicações encontra-se em franca expansão, testemunhando a explosão de novas aplicações no campo da tecnologia de microbiomas. Isso significa que o leque de

possibilidades de geração de produtos especializados e de novos nichos da biotecnologia microbiana é excepcionalmente amplo e pode, assim, alimentar muitas grandes, médias e pequenas empresas com oportunidades de novos negócios e bioprodutos lucrativos.

A biotecnologia microbiana constitui a área de conhecimento e investigação fundamental na descoberta de recursos microbiológicos industrialmente exploráveis. Ela representa uma das tecnologias mais antigas (a história da fermentação é tão antiga quanto a civilização) e uma das indústrias mais recentes e de crescimento mais rápido (o maior número de startups, globalmente, são empresas de biotecnologia baseadas em microbiomas). O campo tem, portanto, uma longa linhagem de experiência e experimentação e atualmente desfruta de um período excepcionalmente emocionante de descobertas contínuas. Uma abordagem clássica das etapas de um processo de desenvolvimento de um produto biotecnológico passa, resumidamente, pela coleta de material biológico adequado, seguida pela seleção e triagem de materiais com os atributos desejados, seleção final do(s) melhor(es) candidato(s), a partir de uma lista reduzida de opções e culmina com o desenvolvimento de um produto comercial ou processo industrial. Este conceito clássico de exploração de recursos biológicos ainda se mantém válido nos dias de hoje e constitui o modelo utilizado em diversos setores da indústria de biotecnologia mundial. No âmbito das aplicações microbianas em biotecnologia tradicional, o valor dos microrganismos é geralmente definido pela potencialidade de aplicação direta dos mesmos nos processos biotecnológicos ou pelo valor de mercado dos produtos. O valor indireto das biotecnologias baseadas em processos microbianos, contudo, é raramente contemplado, tal como: benefícios ambientais e sociais

decorrentes do tratamento de resíduos industriais e da poluição ambiental. Avanços científicos e tecnológicos alcançados nos últimos anos vêm revolucionando as abordagens tradicionais de exploração de recursos biológicos. O processo de busca e descoberta biotecnológica em si vem sofrendo profundas alterações em função das mudanças de modelos desencadeadas pelos avanços em biologia molecular, genômica e bioinformática. As principais forças indutoras e direcionadoras do desenvolvimento em biotecnologia são a demanda econômica, direcionada pela indústria, políticas nacionais e internacionais, frequentemente influenciadas pela pressão pública, e os avanços em ciência e tecnologia. Juntos, estes componentes catalisam o desenvolvimento da biotecnologia, com a geração de novos mercados, solução de problemas crônicos e emergentes, e a melhoria da eficiência e a redução do custo dos processos industriais. Nesse sentido, a biotecnologia representa um exemplo primo de área de excelência em inovação tecnológica, gerando tecnologias inteiramente novas para atividades industriais existentes e permitindo a geração de novas indústrias.

Este e-book foi elaborado pelos acadêmicos do Curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, da Unidade da Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS) em Bento Gonçalves, como uma atividade de pesquisa proposta e orientada pelo docente responsável pelo Componente Curricular "Genética de Microrganismos", e representa um material disponibilizado para consulta bibliográfica, organizado sob a forma de "Fichas Técnicas", as quais apresentam informações concisas e referências de pesquisas relativas a um grupo de microrganismos que se caracterizam como potenciais alvos de estudo e aplicação em processos biotecnológicos, incluindo a geração de novos bioprodutos ou

processos de interesse. Pretende-se, igualmente, além de fornecer informações, contribuir para o estabelecimento de novas linhas de investigação científica e o desenvolvimento de biotecnologias inovadoras.

Referências

LOCEY, K. J.; LENNON, J. T. Scaling laws predict global microbial diversity. **Proc. Natl Acad. Sci. USA**, v. 113, p. 5970–5975, 2016.

GILBERT, J. A.; JANNON, J. K.; KNIGHT, R. The Earth Microbiome project: successes and aspirations. **BMC Biol.** v.12, p. 69, 2014.

THOMPSON, L. R. *et al.* A communal catalogue reveals Earth's multiscale microbial diversity. **Nature**, v. 551, p. 457–463, 2017. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nature24621>. Acesso em: 01 dez. 2020. DOI: [10.1038/nature24621](https://doi.org/10.1038/nature24621).

AMIR, A. *et al.* Deblur rapidly resolves single-nucleotide community sequence patterns. **mSystems**, v. 2, p. 1-7, March/April 2017. Disponível em: <https://msystems.asm.org/content/msys/2/2/e00191-16.full.pdf>. Acesso em: 01 dez. 2020. DOI:10.1128/mSystems.00191-16.

THE HUMAN Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. **Nature**, v. 486, p. 207–214, 2012.

LLOYD-PRICE, J. *et al.* Strains, functions and dynamics in the expanded Human Microbiome Project. **Nature**, v. 550, p. 61–66, 2017.

APRESENTAÇÃO DA FICHA TÉCNICA

Para uma melhor compreensão e organização deste *e-book*, as informações relativas a cada microrganismo abordado serão apresentadas sob o formato de uma Ficha Técnica contendo os tópicos mais relevantes acerca do organismo (descrição explicativa abaixo). Nas Fichas Técnicas, os microrganismos encontram-se ordenados nos grupos (constituintes de Reinos biológicos ou Domínios): *Bacteria*, *Archaea*, Protista (microalgas) e *Fungi* (leveduras e fungos filamentosos), sendo cada grupo representado por um ícone (Figura 1). Após uma introdução, os tópicos sobre cada microrganismo se dividem em:

Características Biológicas. Nesta seção serão abordadas as características morfológicas, o habitat de vida, as formas de obtenção de energia, as interações com o meio ambiente e demais atributos do microrganismo, incluindo uma imagem ilustrativa do mesmo.

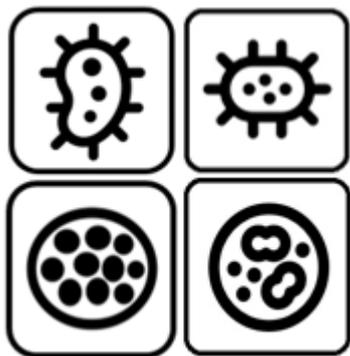


Figura 1 - Ícones escolhidos para representar cada grupo de microrganismos. De cima para baixo e, da esquerda para direita: Domínio *Archaea*; Domínio *Bacteria*; Reino Protista (Microalgas); Reino Fungi (Leveduras e Fungos filamentosos).

Taxonomia. Tabela da divisão taxonômica (reino, divisão, classe, ordem, família, gênero e espécie).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos.

Nesta seção serão abordadas as formas de reprodução do microrganismo (acrescidas de ilustrações representativas) e os seus mecanismos de expressão gênica.

Genoma. Seção contendo dados sobre a linhagem do organismo, número de cromossomos, relação nucleotídeos GC%, entre outras informações relevantes, apresentados por meio de uma tabela.

Aplicações Biotecnológicas. O enfoque fundamental desta seção reside nos atributos (qualificações) de cada microrganismo e seu potencial de estudo e exploração tecnológica.

Referências Bibliográficas. Lista as fontes de informação consultadas e ordenadas de acordo com as regras ABNT.

O objetivo da adoção deste modelo de apresentação é ofertar ao leitor uma organização simplificada das informações, sem abrir mão do conteúdo informativo, possibilitando que o leitor se concentre em tópicos específicos, conforme o seu interesse, tornando assim a leitura mais prazerosa, clara e objetiva.

Boa leitura!

Referências

SADAVA, David H. *et al.* **Vida: A Ciência da Biologia.** 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. Volume II: Evolução, Diversidade e Ecologia.

Domínio *Bacteria*

O Reino Monera compreende o mais antigo grupo de microrganismos presente na Terra, bem como o mais numeroso e diversificado. Filogeneticamente, pode ser dividido em dois grupos distintos, ou “Domínios”: Domínio Bacteria, também denominado Eubacteria (bactérias verdadeiras), e Domínio Archaea (arqueobactérias) – divisão proposta por Carl Woese e George E. Fox (1977), que identificaram que as arqueobactérias (metanogênicas) são geneticamente distintas (com base em análises de RNA ribossômico) das bactérias, e mais próximas dos eucariotos.

O Domínio Bacteria compreende procariontes unicelulares autotróficos quimiossintetizantes, como as bactérias nitrificantes do ciclo do nitrogênio, além de espécies que desempenham um papel fundamental na reciclagem de outros nutrientes, tais como fósforo, ferro e enxofre, ou ainda espécies autotróficas fotossintetizantes, como as bactérias sulfurosas roxas. Outras bactérias se enquadram como heterotróficas, como as decompositoras saprofíticas, que se alimentam de matéria orgânica morta do solo, ou as parasitas, que adquirem alimento de um hospedeiro vivo, geralmente causando danos. Tais organismos enriquecem o solo e são muito importantes nos ciclos biogeoquímicos, garantindo a sobrevivência da vida na Terra. Eles também são úteis em bioprocessos industriais destinados à produção de alguns alimentos, como queijos, iogurtes e vinagre, ou na produção de uma série de antibióticos e outros bioprodutos de interesse farmacológico, agrícola e industrial.

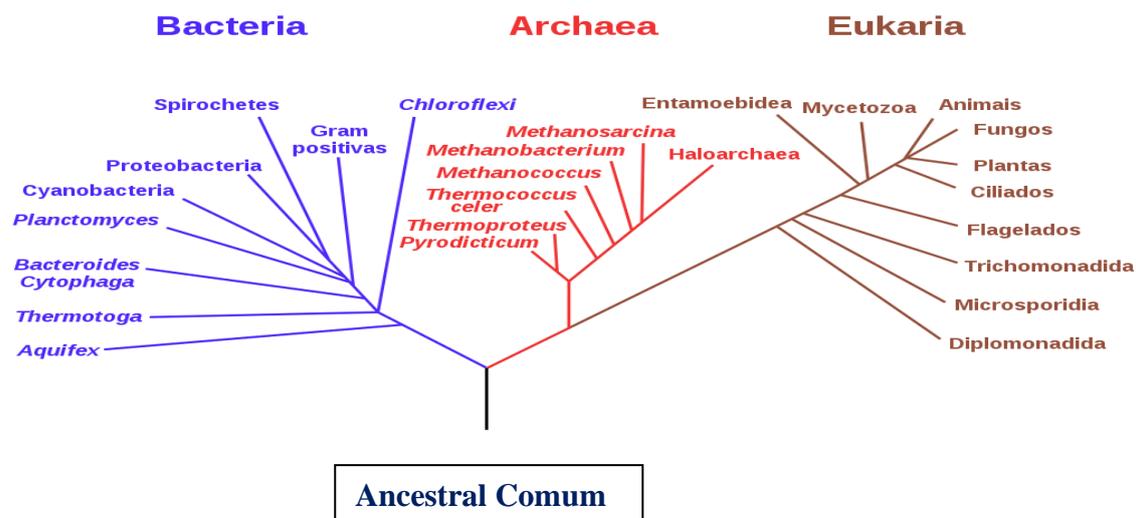


Figura 1 - Árvore filogenética baseada na análise do rRNA, proposta por Carl Woese e George E. Fox (1977), mostrando a separação dos grandes grupos biológicos: Bacteria, Archaea e Eukarya. O Domínio Bacteria (Reino Monera) encontra-se representado em azul.

Referências

WOESE, Carl R.; FOX, George E. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 74, n. 11, p.5088-5090, 1977. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/74/11/5088>. Acesso em: 01 dez 2020. DOI: 10.1073/pnas.74.11.5088.



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Índice

- 1.1 *Acetobacter aceti*
- 1.2 *Acidithiobacillus ferrooxidans*
- 1.3 *Acidithiobacillus thiooxidans*
- 1.4 *Aphanizomenon flos-aquae*
- 1.5 *Arthrorospira platensis*
- 1.6 *Bacillus thuringiensis*
- 1.7 *Bifidobacterium animalis subsp, lactis*
- 1.8 *Cupriavidus metallidurans CH34*
- 1.9 *Deinococcus radiodurans*
- 1.10 *Geobacillus stearothermophilus*
- 1.11 *Geobacter metallireducens*
- 1.12 *Ideonella sakaiensis*
- 1.13 *Magnetospirillum magnetotacticum*
- 1.14 *Photobacterium luminescens*
- 1.15 *Streptococcus pyogenes*
- 1.16 *Streptomyces griseus*

1.1 *Acetobacter aceti*

Acetobacter aceti foi descrita pela primeira vez no ano de 1864, quando Louis Pasteur publicou “Mémoire sur la fermentation acétique” trazendo as primeiras informações sobre a gama de bactérias que fermentavam o etanol presente no vinho em ácido acético (9). Tal bactéria é encontrada em ambientes com presença de oxigênio, além de flores, frutas, mel, saquê, tequila, vinho, cerveja, Kefir e até em leveduras (5).

Características biológicas

O gênero *Acetobacter* pode apresentar formas de cocos ou bacilos com tamanho variando de 0,6 a 0,9 µm de largura e 1,0 a 4,0 µm de comprimento (Figura 1) (5). Podem, ainda, aparecer de forma isolada, aos pares ou em cadeias (1). Além disso, apresentam ou não mobilidade e, quando móveis, utilizam flagelos

peritríqueos (presentes ao longo de toda a célula) ou polares (5). Grande parte dessas bactérias são gram-negativas (2) (5), ou seja, possuem fina camada de peptidoglicano em sua parede celular. Utiliza o etanol como fonte de carbono, transformando-o em ácido acético e liberando CO₂ e H₂O. É catalase-positiva e oxidase-negativa (1).

Além disso, possuem temperatura e pH ótimos de 30°C e 5,0-6,5, respectivamente. Em se tratando de reprodução, essas bactérias se reproduzem assexuadamente por fissão binária e não formam esporos (9).

São aeróbias estritas, por isso demandam ambientes com presença de oxigênio. Quando cultivada, se apresenta em colônias pálidas, não produz pigmentos e se reproduz por brotamento (4)(11).

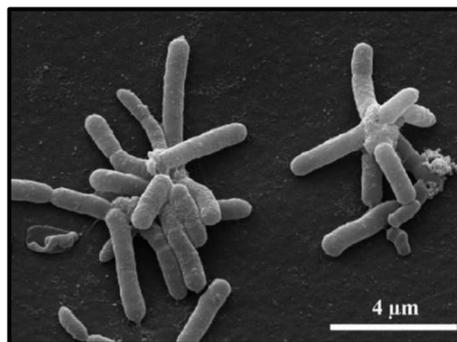


Figura 1 - Micrografia eletrônica de varredura de *Acetobacter aceti*. Fonte: (3).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Acetobacter aceti*.

Domínio	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Alphaproteobacteria</i>
Ordem	<i>Rhodospirillales</i>
Família	<i>Acetobacteraceae</i>
Gênero	<i>Acetobacter</i>
Espécie	<i>A. aceti</i>

Fonte: (8)



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Ciclo de vida e Mecanismos Genéticos

Segundo pesquisas, há um transportador específico para o ácido acético, que confere grande resistência a tal composto pelo microrganismo. A superexpressão da proteína transportadora levou a uma melhoria no crescimento bacteriano quando em altas concentrações de ácido acético (7). Tal resultado se mostra de grande valia para a indústria alimentícia, já que fornece um método de obtenção de bactérias *Acetobacter aceti* capazes de fermentar o próprio vinagre e não o vinho, como ocorre normalmente.

O Ciclo de Vida da *Acetobacter aceti* é comum aos das demais bactérias e está dividido em quatro fases: fase de retardamento, exponencial, estacionária e declínio. Num primeiro momento (fase de retardamento), a bactéria não cresce e apenas se adapta ao meio e metaboliza nutrientes que a preparam para o próximo estágio, iniciando também as cópias do seu DNA. A seguir (fase exponencial), o microrganismo se multiplica exponencialmente. O “tempo de geração” vai variar conforme cada organismo e as condições presentes. É neste momento que se dá a fissão binária (abaixo descrito). Por sua vez, na terceira etapa (fase estacionária), o crescimento microbial diminui alcançando a estabilidade. Num último momento (fase de declínio), o crescimento cessa totalmente ocasionando a morte celular (6). A Figura ilustra a brotação da *A. aceti*.

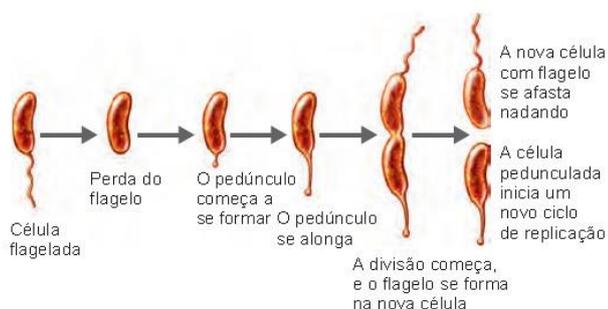


Figura 2 - Ciclo de vida de bactérias pedunculadas da classe *Alphaproteobacteria*. Fonte: (10)

Genoma

Tabela 2 - Genoma referencial da *Acetobacter aceti*.

Genoma	Tamanho (Mb)	GC%	Nº de proteínas	Nº de genes	Ano
ASM200544v1	3,73	57,1	3185	3412	2017

Fonte: (8)

Aplicações Biotecnológicas

As bactérias dessa espécie são conhecidas por produzirem grandes quantidades de compostos como exopolissacarídeos e heteropolissacarídeos, substâncias utilizadas pela indústria de forma a aumentar a viscosidade de soluções aquosas. Dessa forma, diversas pesquisas são conduzidas em relação ao potencial reológico de tais microrganismos (2).

Outrossim, para que o cacau possa produzir o chocolate que conhecemos, é necessário que seus grãos passem por processos fermentativos. Encontram-se bactérias acéticas, lácticas e leveduras, dentre outros microrganismos, na microflora do cacau. O processo se inicia com ação das leveduras e bactérias lácticas que consomem açúcares e ácidos orgânicos da polpa, produzindo etanol e lactato. Após isso, leveduras pectinolíticas degradam a polpa das sementes, desidratando os grãos e favorecendo o estabelecimento das bactérias acéticas, principalmente a *A. aceti*, que produzirão ácido acético a partir do etanol produzindo CO₂ e calor (a temperatura pode alcançar 50°C). A presença de ácido acético e altas temperaturas fazem com que ocorra morte do gérmen das sementes e com que essas percam sua membrana seletiva permeável. A partir disso, há ativação de enzimas que finalizarão o processo com o aparecimento da amêndoa do cacau (1).

Por fim, para além da conversação de etanol em ácido acético, a *A. aceti* ainda pode utilizar açúcares para a produção de celulose. De acordo com DAS et al (2016), é possível utilizar tal microrganismo em simbiose com microalgas de forma a produzir biofilmes naturais



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

potencialmente destinados à integração em dispositivos associados a folhas artificiais. Tal pesquisa contribui para o estudo e desenvolvimento de tecidos biológicos, permitindo a criação de sistemas multifuncionais, vivos e auto-replicantes (3).

Referências

1. ALMEIDA, S. F. O. **Isolamento e identificação bioquímica de bactérias acéticas durante a fermentação do cacau (*Theobroma cacao* L.)**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Pará. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Belém, Pará, 2013.
2. BRANDT, Julia U. *et al.* Multiple Genome Sequences of Heteropolysaccharide-Forming Acetic Acid Bacteria. **American Society for Microbiology**, Freising, v. 5, n. 16, apr. 2017. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1128/genomeA.00185-17>. Acesso em: 29 ago. 2019.
3. DAS, Anupam A. K. *et al.* Fabrication of living soft matter by symbiotic growth of unicellular microorganisms. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 4, n. 21, p. 3685-3694, 2016. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1039/c5tb02489g>. Acesso em: 27 mar. 2020.
4. DEPARTMENT OF VITICULTURE & ENOLOGY, UNIVERSITY OF CALIFORNIA. **Acetobacter aceti**. 2018. Disponível em: <https://wineserver.ucdavis.edu/industry-info/enology/wine-microbiology/bacteria/acetobacter-aceti>. Acesso em: 23 set. 2019.
5. KOWSER, J.; AZIZ, M. G.; UDDIN, M. B. Isolation and characterization of *Acetobacter aceti* from rotten papaya. **Journal of the Bangladesh Agricultural University**, Bangladesh, v. 13, n. 2, p. 299-306, 2015. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.3329/jbau.v13i2.28802>. Acesso em: 29 ago. 2019.
6. MICHAELS, Joel. **Bacteria Lif Cycle**. Sciencing.com Publicado a 25/10/2017. Disponível em: <https://sciencing.com/bacteria-life-cycle-12211284.html>. 5 jun. 2020. Acesso a 5 jun. 2020.
7. NAKANO, S.; FUKAYA, M.; HORINOUCI, S. Putative ABC Transporter Responsible for Acetic Acid Resistance in *Acetobacter aceti*. **Applied and Environmental Microbiology**, Tóquio, v. 72, n. 1, p. 497-505, 2006. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1128/AEM.72.1.497-505.2006>. Acesso em: 30 ago. 2019.
8. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **Acetobacter aceti**. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/3150>. Acesso em: 30 ago. 2019.
9. PASTEUR, L. Mémoire sur la fermentation acétique. **Annales scientifiques de l'É.N.S.** Paris, v. 1, p. 113-158, 1864.
10. TORTORA, G.J., FUNKE, B.R., CASE, C.L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.
11. ZAHOOR, Tahir; SIDDIQUE, Farzana; FAROOQ, Umar. Isolation and characterization of vinegar culture (*Acetobacter aceti*) from indigenous sources. **British Food Journal**, v. 108, n. 6, p. 429-439, jun. 2006. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1108/00070700610668405>. Acesso em: 27 mar. 2020.



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

1.2 *Acidithiobacillus ferrooxidans*

A bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans* fora descoberta no final da década de 1940, por Colmer e Hinkle, sendo a primeira bactéria observada na drenagem ácida mineira. Poucos anos depois, Temple e Colmer, conseguem evidenciar o crescimento autotrófico desta bactéria e sua obtenção de energia através da oxidação de enxofre e ferro (*thiosulfato*), dando origem, então, ao seu nome *Thiobacillus ferrooxidans* (5).

O avanço das técnicas de biologia molecular, nos anos oitenta, permitiu a identificação de diferentes linhagens desta bactéria e sua atuação na biolixiviação (5).

No ano 2000, o seu gênero foi mudado para *Acidithiobacillus* devido a estudos fisiológicos e a comparações feitas por Kelly e Wood, entre as sequências do gene da região 16S rRNA desse microrganismo, que demonstraram a sua filiação a ambientes ácidos (5).

No Brasil, foi isolada por Garcia Jr. no início da década de noventa, a partir de amostras sólidas e líquidas com pH ácido, nos estados de Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e Bahia (5).

Características Biológicas

Esta proteobactéria (Figura 1) é gram-negativa e tem forma de bastonete de 1,0 a 2,0 μm de comprimento, podendo possuir fímbrias e flagelo, o que permitem a sua locomoção (5).

Primeiramente encontrado em profundas escavações de minas, onde se presenciam concentrações elevadas de enxofre, a *A. ferrooxidans* é acidófila e mesófila, vivendo em ambientes cujo pH varia numa faixa entre 1,5 a 4,5 (pH ótimo de crescimento é 2,0) e cuja temperatura varia entre 5°C e 40°C (temperatura ótima de crescimento é de 30°C) (5).

A *A. ferrooxidans* habita, no geral, meios aeróbios, mas algumas linhagens já estudadas crescem também em condições anaeróbicas. Esta espécie está veemente presente em locais onde

ocorre a drenagem ácida mineira, onde há quantidades elevadas de íons metálicos (5).

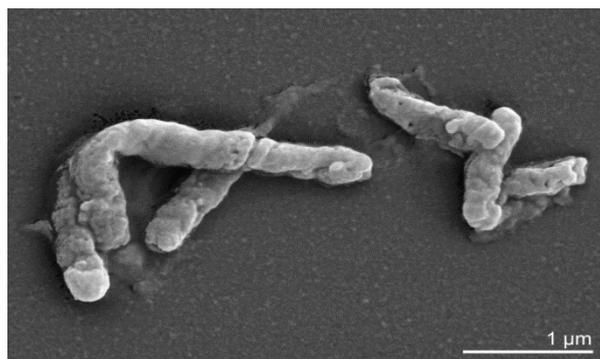


Figura 1 - *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Fonte: (2)

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica de *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

Domínio	Bacteria
Filo	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Acidithiobacillia</i>
Ordem	<i>Acidithiobacillales</i>
Família	<i>Acidithiobacillaceae</i>
Gênero	<i>Acidithiobacillus</i>
Espécie	<i>A.ferrooxidans</i>

Fonte: (4)

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

O Ciclo de Vida da *Acidithiobacillus ferrooxidans* é comum ao das bactérias e está dividido em quatro fases: retardamento, exponencial, estacionária e declínio. Na fase de retardamento, a bactéria não cresce e apenas adapta-se ao meio e metaboliza nutrientes que a prepararão para o próximo estágio, iniciando também as cópias do seu DNA. A seguir, na fase exponencial, o microrganismo se multiplica



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

exponencialmente. É neste momento que se dá a divisão celular (abaixo descrito). Já na terceira etapa, o crescimento microbial diminui alcançando a estabilidade. Num último momento (fase de declínio), o crescimento cessa totalmente, ocasionando a morte celular (3).

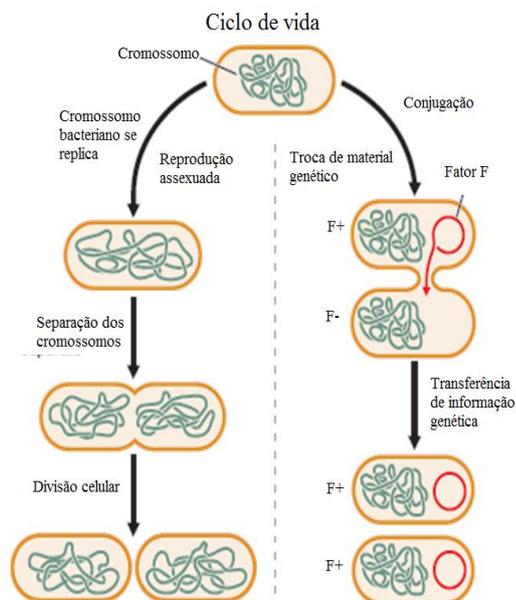


Figura 2 - Esquerda - As células procarióticas se reproduzem por meio da fissão binária, onde cada cromossomo replicado irá estar presente em cada uma das células-filhas. Direita – Reprodução sexual atribuída à *A. ferrooxidans*. O fator F será transferido da célula doadora para a célula receptora. Fonte: (6).

Como se trata de uma bactéria, a reprodução mais comum atribuída à *Acidithiobacillus ferrooxidans* é a divisão celular por fissão binária (Figura 2 à esquerda). Esta bactéria não forma esporos. O seu genoma haploide replica-se e é repartido entre as novas células-filhas. Geralmente, num lugar específico da molécula de DNA (origem de replicação) é onde se inicia o processo de cópia do material genético. Todavia, este lugar não é totalmente conhecido. Os dois cromossomos “filhos” recém-replicados se afastam para lados opostos, ficando juntos à membrana plasmática. Entre os

polos (no centro da célula) é formada uma nova membrana plasmática e parede celular (6).

Após a ativação de mecanismos genéticos, inicia-se o processo de estrangulamento celular, a partir do centro da célula, dando lugar a duas novas células, cada uma com uma cópia idêntica de cromossomos (6).

A presença de plasmídeos não é frequente, embora já tenha sido visualizada em alguns tipos (5). Ademais, não se descarta a forma de reprodução sexuada, no entanto, não se encontra na literatura a descrição desse método em *A. ferrooxidans*. Ainda assim, a reprodução de forma sexuada (Figura 2 à direita), é, maioritariamente, por conjugação e ocorre quando há contato físico entre duas células, geralmente via *pilus*. Uma delas (célula doadora) aporta um pequeno segmento linear de DNA (F-plasmídeo ou fator F) que será transferido para a outra (receptora, fator F ausente). Nesse momento, a enzima DNA polimerase sintetiza uma fita complementar para gerar a dupla fita de DNA. Em alguns casos, a célula doadora transfere também DNA cromossomal. A partir de então, a célula receptora combina o DNA da célula doadora com o seu próprio (1).

Genoma

Tabela 2 - Genoma de referência da *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

Genoma	Tamanho (Mb)	Nº de genes	GC%	Nº de proteínas
NC_011761.1	2,98	3097	58,8	2897

Fonte: (4)

Aplicações Biotecnológicas

A aplicação biotecnológica predominante deste microrganismo é na biolixiviação - ou lixiviação bacteriana, um processo hidrometalúrgico no qual a sua atividade enzimática é capaz de solubilizar certos componentes de um mineral sulfetado, permitindo a recuperação de minérios de baixo



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

teor (concentração inferior a 0,5% (m/m)), como o cobre e urânio, entre outros (7).

Segundo Valdés, J. *et al.* (2008), os benefícios da utilização desta bactéria na biolixiviação são:

- Redução do uso de ácidos e agentes oxidantes.
- Baixo requerimento de energia (em comparação com o processo pirometalúrgico).
- Baixo investimento inicial e baixo custo operacional.
- Menos poluente quando comparado, por exemplo, com a pirometalurgia, que causa poluição atmosférica pela emissão de SO₂, ou com a lixiviação com cianeto.

Para melhor entender-se a importância deste microrganismo, é necessário mencionar a drenagem ácida mineira (DAM), um processo natural de dissolução oxidativa de minerais sulfetados (presentes em resíduos de mineração) quando expostos à água e ao oxigênio, gerando assim uma solução de ácido sulfúrico que, por sua vez, age como lixiviante de outros minerais, produzindo uma solução com elementos altamente tóxicos, como arsênio, cádmio, zinco, urânio, entre outros. Caso esses elementos atinjam os corpos hídricos, eles os tornam impróprios para uso por longo tempo (5).

É neste contexto que, então, atua a *A. ferrooxidans* em conjunto com outros microrganismos, agindo como catalisadores da reação de formação de DAM (Figura 3). Em condições propícias, estes microrganismos aceleram de forma significativa (em mais de 5 vezes em relação aos sistemas puramente abióticos) a taxa de oxidação de minerais (5).

O estudo da *A. ferrooxidans* permitiu o conhecimento sobre “a vida” adaptada a ambientes de extrema acidez. Ofereceu uma possível perspectiva de como viveram os primeiros microrganismos e possibilitou a

criação de potenciais biomarcadores a serem usados na pesquisa em evidências de vida extraterrestre (5).

Ademais, o sequenciamento de genes de algumas linhagens de *A. ferrooxidans* contribuiu para reconstruir a via metabólica de certos componentes de interesse comercial. Devido a isso, a atividade deste microrganismo tem um papel importante na biolixiviação industrial como um processo biotecnológico, o que estimula o interesse pelo estudo da sua biologia e a de outros microrganismos associados a esse processo (5).

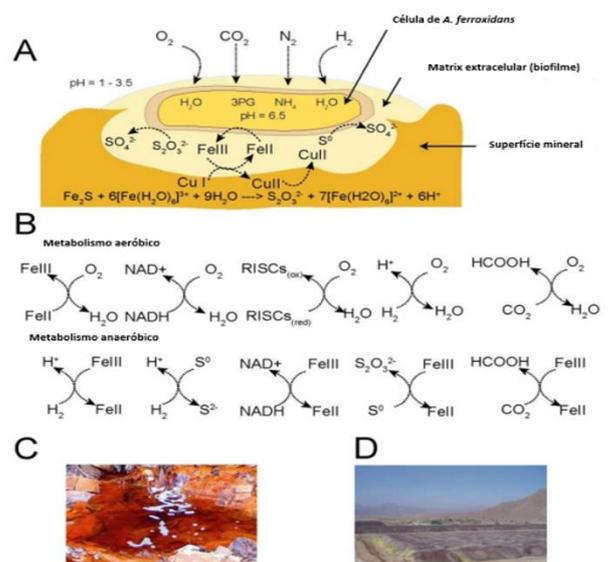


Figura 3 - *A. ferrooxidans* e o papel proposto na biolixiviação. O metabolismo quimiolitotrófico da *A. ferrooxidans* resulta na oxidação/redução de compostos ferrosos e de enxofre, e a solubilização de cobre e outros metais viáveis comercialmente, num processo chamado de biolixiviação ou biomineração. Este processo também resulta na produção de soluções acidificadas em ambientes com pristina, e em drenagem ácida mineira, durante operações de biolixiviação. A) Modelo da biolixiviação do cobre por meio da *A. ferrooxidans*. B) Reação de oxirredução conduzida pela *A. ferrooxidans*. O esquema apresenta conceitos básicos da biolixiviação. C) Drenagem Ácida Mineira no Rio Tinto, Espanha, ocorrida em corpos formados naturalmente de piritita, em minas abandonadas, iniciadas na época pré-romana.



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

D) Campo de biolixiviação comercial para recuperação de cobre, Chile. Fonte: (7).

Disponível em:
<<https://bmcgenomics.biomedcentral.com/article/s/10.1186/1471-2164-9-597#Fig2>> Acesso em:
6 mar. 2020.

Referências

1. BANK, Eric. **Three Mechanisms of Genetic Recombination in Prokaryotes**. Sciencing.com. Publicado a 05/03/2018. Disponível em: <https://sciencing.com/three-mechanisms-genetic-recombination-prokaryotes-18252.html>. Acesso em: 5 jun. 2020
2. CLUM, A. *et al.* **Complete genome sequence of Acidimicrobium ferrooxidans type strain (ICPT)**. Standards in Genomic Sciences. 2009. Disponível em: https://www.researchgate.net/figure/Scanning-electron-micrograph-of-A-ferrooxidans-ICPT-Manfred-Rohde-Helmholtz-Centre-for_fig2_49820680. Acesso em: 30 mar. 2020.
3. MICHAELS, Joel. **Bacteria Life Cycle**. Sciencing.com Publicado a 25/10/2017. Disponível em: <https://sciencing.com/bacteria-life-cycle-12211284.html>. 5 june 2020. Acesso a 5 jun. 2020
4. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **Acidithiobacillus ferrooxidans[orgn]**. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Acidithiobacillus+ferrooxidans> . Acesso em: 18 jun. 2020.
5. OLIVEIRA, Luiz Eduardo Lacerda de. **Identificação e isolamento de bactérias envolvidas na formação de drenagem ácida mineira na região de Jacobina (Bahia) e o seu uso na biolixiviação de cobre**. 2014, 71 f. Tese (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal da Bahia. Salvador. 2014. Disponível em https://repositorio.ufba.br/ri/bitstream/ri/16455/1/Disserta%C3%A7%C3%A3o_ICs_%20Luiz%20Eduardo%20Lacerda%20de%20Oliveira.pdf Acesso em: 01 set. 2019.
6. PIERCE, Benjamin A. **Genética: um enfoque conceitual**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. p. 58-60.
7. VALDÉS, J. *et al.* **Acidithiobacillus ferrooxidans metabolism: from genome sequence to industrial applications**. BMC Genomics. 2008.



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

1.3

Acidithiobacillus thiooxidans

A bactéria *Acidithiobacillus thiooxidans*, também conhecida como *Thiobacillus thiooxidans*, foi isolada pela primeira vez por Waksman e Joffe, no ano de 1921, a partir de solo (10).

Foi vista como a bactéria com o papel mais importante na oxidação do enxofre, produção de ácidos e na biolixiviação. Devido a isso, é tido como um microrganismo de potencial uso biotecnológico (10).

Características Biológicas

A *A. thiooxidans* é uma bactéria gamaproteobacteria gram-negativa. É considerada quimiolitotrófica. Obtém energia e elétrons a partir da oxidação de enxofre redutível e está apta a fixar dióxido de carbono e assimilar nitrato, nitrito e amônio para obter hidrogênio e carbono, sendo aeróbica obrigatória. Ademais, é mesófila e extremamente acidofílica (10).

Esta bactéria não forma esporos e tem a forma de bastonete com extremidades arredondadas. O tamanho médio das células varia entre 1,0 a 2,0 μm de comprimento por 0,5 μm de largura. Possui uma flagela que a permite locomover-se. Além disso, as microcolônias que formam (0.5–1.0 mm) crescem em meio sólido de tiosulfato, são transparentes e possuem um cheiro característico de enxofre elementar (10).

As condições ótimas de crescimento são as de pH entre 2.0 e 3.5 e temperaturas entre 28–30 $^{\circ}\text{C}$. A *A. thiooxidans* habita em ambientes muito extremos, a saber, cavernas sulfídicas, pilhas de lixiviação mineral, lixões de minas, entre outros ambientes ácidos naturais, ricos em enxofre e íons metálicos naturais (10).

O que se destaca nesta bactéria é o seu metabolismo. Ela utiliza compostos de enxofre inorgânico, na forma de sulfitos, enxofre elementar, sulfites e tiosulfatos, a fim de obter energia, como já mencionado. A via metabólica

para a oxidação completa do enxofre se dá com o auxílio de diversas enzimas, complexos enzimáticos e reações de cadeias de transporte de elétrons (2).

Segundo Zhang *et al.* (2015) A oxidação consiste em quatro passos em que são, a saber:

1 $^{\circ}$ Enxofre elementar é transportado para o espaço periplásmico e forma ligações entre átomos de enxofre e sulfano (R-S-SnH).

2 $^{\circ}$ O composto R-S-S-H é oxidado pela enzima enxofre dioxigenase (SDO).

3 $^{\circ}$ Reação de catálise e transferência de elétrons para a coenzima Q, através da membrana citoplasmática.

4 $^{\circ}$ Dentro do citoplasma, ocorrem uma série de reações catalíticas nos metabólitos intermediários que contém enxofre, produzindo sulfato.

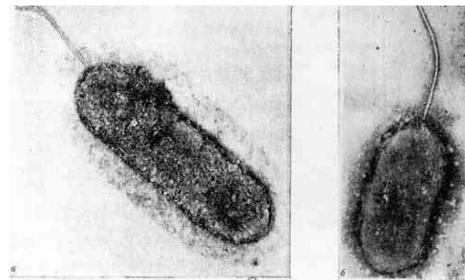


Figura 1 - *Acidithiobacillus thiooxidans*. Fonte: (7).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *A. thiooxidans*.

Domínio	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Acidithiobacillia</i>
Ordem	<i>Acidithiobacillales</i>
Família	<i>Acidithiobacillaceae</i>
Gênero	<i>Acidithiobacillus</i>
Espécie	<i>A. thiooxidans</i>

Fonte: (6)



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

O Ciclo de Vida da *Acidithiobacillus thiooxidans* enquadra-se no ciclo comum das bactérias. Por sua vez, o ciclo está dividido em quatro fases: fase de retardamento, exponencial, estacionária e declínio. Num primeiro momento (fase de retardamento), a bactéria não cresce e apenas se adapta ao meio e metaboliza nutrientes que a prepararão para o próximo estágio, iniciando também as cópias do seu DNA. A seguir (fase exponencial), o microrganismo se multiplica exponencialmente. O “tempo de geração” vai variar conforme cada organismo e as condições presentes. É neste momento que se dá a fissão binária (abaixo descrito). Por sua vez, na terceira etapa (fase estacionária), o crescimento microbial diminui alcançando a estabilidade. Num último momento (fase de declínio), o crescimento cessa totalmente ocasionando a morte celular (5).

Como se trata de uma bactéria, o método de reprodução mais comum atribuído à *A. thiooxidans* é a divisão celular por fissão binária (Figura 2 à esquerda). Quando a célula se reproduz, o seu cromossomo circular se replica e a célula se divide. Este processo de reprodução é o mais simples conhecido (8).

Geralmente, num lugar específico da molécula de DNA (origem de replicação) é onde se inicia a replicação, quando mais de 22 proteínas diferentes iniciam o processo de cópia do material genético. Todavia, este lugar não é totalmente conhecido. Os dois cromossomos “filhos” recém-replicados se afastam, deslocando-se em sentidos opostos da célula, ficando juntos à membrana plasmática. Entre os polos (no centro da célula) é formada uma nova membrana plasmática e parede celular. Após a ativação de mecanismos genéticos, inicia-se o processo de estrangulamento celular, a partir do centro da célula, dando lugar a duas novas células, cada uma com uma cópia idêntica de cromossomos (8).

Outrossim, as bactérias podem se reproduzir de forma sexuada, maioritariamente, por conjugação. Embora a literatura não evidencie que este fato ocorra em *A. thiooxidans*, não se descarta esta possibilidade. A conjugação ocorre quando há contato físico entre duas células, geralmente via *pilus*. Uma delas (célula doadora) aporta um pequeno segmento linear de DNA (F-plasmídeo ou fator F) que será transferido para a outra (receptora, fator F ausente). Nesse momento, a enzima DNA polimerase sintetiza uma fita complementar para gerar a dupla fita de DNA. Em alguns casos, a célula doadora transfere também DNA cromossomal. A partir de então, a célula receptora combina o DNA da célula doadora com o seu próprio (1).

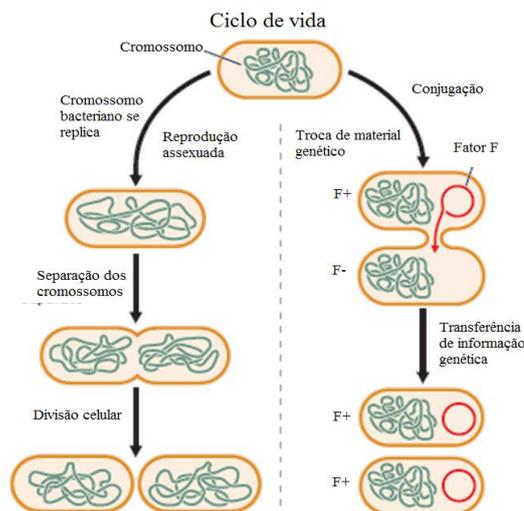


Figura 2 - Esquerda - As células procarióticas se reproduzem por meio da fissão binária, onde cada cromossomo replicado estará presente em cada uma das células-filhas. Direita - Reprodução sexual atribuída à *A. thiooxidans*. O fator F será transferido da célula doadora para a célula receptora. Fonte: (8).

Genoma

Tabela 2 - Genoma referencial da *Acidithiobacillus thiooxidans*.

Genoma	Tamanho (Mb)	Nº de genes	GC%	Nº de proteínas
19377	302	3124	53,2	2857

Fonte: (6)



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Aplicações Biotecnológicas

Segundo Yang, L. *et al.* (2019), as principais ações biotecnológicas aplicadas à *A. thiooxidans* são na biolixiviação de metais a partir de resíduos descartados, biorremediação do solo e biorremoval de enxofre de sólidos e gases.

A biolixiviação é a transformação biológica de um metal insolúvel em uma forma solúvel, a partir do metabolismo de bactérias ferro oxidativas ou enxofre oxidativas. A *A. thiooxidans* é a bactéria com maior potencial de oxidação de enxofre conhecida, tolerando altas quantidades de metais pesados (3). A *A. thiooxidans* tem sido utilizada para o lixiviamento de cromo, níquel vanádio, molibdênio e alumínio gerados das reações catalíticas do petróleo (10). Gholami, R. *et al.* (2011) reportou que esta bactéria consegue extrair 2,4% de Alumínio, 83% de Cobalto, 95% de Molibdênio e 16% de Níquel, de uma catálise da refinaria, onde a presença de enxofre se encontrava na forma de Mo–Co–Ni.

Por sua vez, o descarte incorreto de objetos tecnológicos como computadores, baterias, etc. geram um grave problema ambiental, uma vez que esses produtos são feitos a partir de materiais em cuja composição há metais pesados como o cobre, alumínio e cobalto, assim como solventes orgânicos. Todos são tóxicos, contaminam o solo e, conseqüentemente, as águas. Uma alternativa apontada para a reciclagem destes rejeitos é o processo de biorremediação do solo, no qual a *A. thiooxidans* dissolve os sulfetos ligados aos metais (9).

Por último, a *A. thiooxidans* tem a ação mais importante na biodesulfurização. Diversos compostos de enxofre inorgânico fazem parte da composição dos combustíveis fósseis, biogás e rejeitos, sendo estas substâncias muito tóxicas ao ambiente (9).

Referências

1. BANK, Eric. **Three Mechanisms of Genetic Recombination in Prokaryotes**. Sciencing.com. Publicado a 05/03/2018. Disponível em: <https://sciencing.com/three-mechanisms-genetic-recombination-prokaryotes-18252.html>. Acesso em: 5 jun. 2020
2. DOPSON, M.; JOHNSON, D. B. Biodiversity, metabolism and applications of acidophilic sulfur-metabolizing microorganisms. **Environmental Microbiology**, v. 14, n. 10, p. 2620–2631, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02749.x>. Acesso em: 01 dez. 2020.
3. FAZZINI, R. *et al.* Acidithiobacillus thiooxidans secretome containing a newly described lipoprotein Licanantase enhances chalcopyrite bioleaching rate. **Applied Microbiological Biotechnology**, v. 89, n.3, p. 771–780, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-010-3063-8>. Acesso em: 01 dez 2020.
4. GHOLAMI, R. M. *et al.* Bacterial leaching of a spent Mo–Co–Ni refinery catalyst using Acidithiobacillus ferrooxidans and Acidithiobacillus thiooxidans. **Hydrometallurgy**. v. 106, n. 1-2, p. 26–31, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2010.11.011>. Acesso em: 01 dez 2020.
5. MICHAELS, Joel. **Bacteria Life Cycle**. Sciencing.com Publicado a 25/10/2017. Disponível em: <https://sciencing.com/bacteria-life-cycle-12211284.html>. 5 June 2020: Acesso a 5 jun. 2020
6. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **Acidithiobacillus thiooxidans[orgn]**. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Acidithiobacillus+thiooxidans>. Acesso em: 5 jun. 2020
7. KALPANA, Kalpana. **Acidithiobacillus thiooxidans**. Alchetron Publicado a 26/08/2018. Disponível em: <https://alchetron.com/Acidithiobacillus-thiooxidans>. Acesso em: 5 jun. 2020
8. PIERCE, Benjamin A. **Genética: Um enfoque conceitual**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. p. 58-60.



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

9. PIRES, Natállya F. *et al.* Biolixiviação bacteriana por acidithiobacillus thiooxidans de LiCoO₂ presente nas baterias de íons lítio. *In: ENCONTRO NACIONAL DE ESTUDANTES DE ENGENHARIA AMBIENTAL*, 14, 2016, São Paulo, **Anais**, [...], BLUCHER ENGINEERING PROCEEDINGS, v.3, n.2. São Paulo: Blucher, 2016. p. 835-842. Disponível em: <https://www.proceedings.blucher.com.br/article-details/biolixiviao-bacteriana-por-acidithiobacillus-thiooxidans-de-licoo2-presente-nas-baterias-de-ions-litio-24028>. Acesso em: 01 dez. 2020. DOI: 10.5151/engpro-neeamb2016-rs-003-5079.
10. YANG, L. *et al.* Acidithiobacillus thiooxidans and its potential application. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, p.7819 – 7833, 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-019-10098-5>. Acesso em: 01 dez. 2020. DOI: 10.1007/s00253-019-10098-5
11. ZHANG, X. *et al.* Theoretical model of the structure and the reaction mechanisms of sulfur oxygenase reductase in *Acidithiobacillus thiooxidans*. **Adv Mater Research**. v. 1130, n. 4, p. 67–70, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.1130.67>. Acesso em: 01 dez. 2020.



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

1.4 *Aphanizomenon flos-aquae*

A *Aphanizomenon flos-aquae* (AFA) é considerada uma cianobactéria, filo que compreende parte das microalgas. É amplamente encontrada em lagos de regiões temperadas, mas já foi vista em lagos de regiões de alta latitude. A “troca de ambientes” de algumas espécies entre regiões subárticas e temperadas, resulta ser recorrente, dada a atual problemática do aquecimento global. Sendo assim, compreender as estratégias ecológicas da *A. flos-aquae* é importante quando considerada a possibilidade da expansão deste microrganismo (4).

É conhecida por ocorrer espontaneamente no lago *Upper Klamath* (Oregon, EUA), inibindo o crescimento de outras espécies de microalgas, quando em efloração algal. O lago *Upper Klamath* é o ecossistema ideal para que a AFA cresça, especialmente, ao final do verão e início do outono (2).

Características Biológicas

A microalga *Aphanizomenon flos-aquae* (Figura 1) é um microrganismo unicelular, procarionte, que pertence ao filo *cianobactéria* (2). É uma microalga filamentosa (existe na forma de tricomas) cujo comprimento é variável, em até centenas de micrometros, é aflagelada, móvel, possui coloração verde-azulada e é fotoautótrofa. Ademais, vive em ambientes aquáticos, tanto em água doce quanto salgada, sendo capaz de sobreviver em condições de baixa concentração de CO₂, nitrogênio ou fósforo (2)(4).

Ademais, prolifera-se abundantemente nos meses do verão enquanto que nos meses frios reduz suas atividades. Diante de alterações ambientais, como variações na temperatura ou na intensidade de luz, os acinetos (células vegetativas) começam a ser produzidos no tricoma, como mecanismo de proteção (4).

A cianobactéria, é fonte de componentes bioativos como ácidos graxos poli-insaturados, proteínas, pigmentos e minerais, e produz

substâncias com propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes (2). No tópico de aplicações biotecnológicas serão detalhados os compostos de maior interesse.



Figura 1 - Microalga *Aphanizomenon flos-aquae*. As setas indicam os heterocistos de cada tricoma. Barra de escala = 20 µm. Fonte: (4)

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *A. flos-aquae*.

Domínio	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Cyanobacteria</i>
Classe	<i>Cyanophyceae</i>
Ordem	<i>Nostocales</i>
Família	<i>Aphanizomenonaceae</i>
Gênero	<i>Aphanizomenon</i>
Espécie	<i>A. flos-aquae</i>

Fonte: (1)

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

Diferentemente de outras espécies de microalgas estudadas neste livro, a literatura aborda o ciclo de vida anual da *A. flos-aquae* (Figura 2). Esta cianobactéria sobrevive no inverno, na forma de acinetos e, ao final da primavera, com o aumento de temperatura, são recrutados na água dando lugar a células vegetativas (tricomas). Os fatores que influenciam no crescimento destas células são a



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

temperatura da água, o pH e a duração do dia e a presença de outras espécies fitoplanctônicas. Ao crescer, formam o que se conhece por eflorescência algal de tricomas muito largos, que sobem até a superfície da água. Isso se dá na estação do verão, estendendo-se até o outono. Em seguida, a mudança da estação inviabiliza o crescimento, favorecendo o desenvolvimento de acinetos, por meio da fragmentação dos tricomas. Os novos fragmentos, em especial os que estão próximos do fundo sedimentado, são decompostos por microrganismos ou consumidos por plânctons (4).

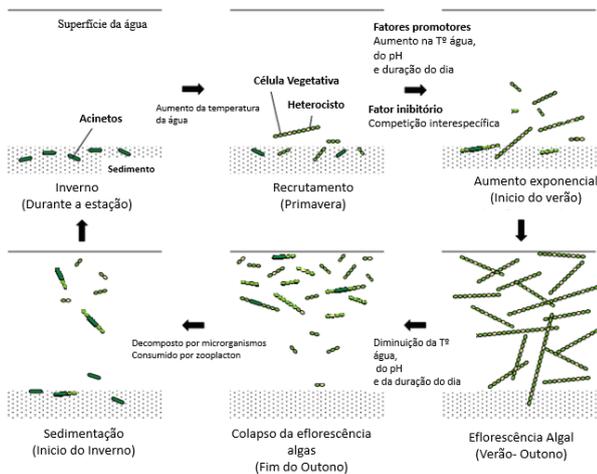


Figura 2 - Ciclo de vida anual da *A. flos-aquae*.
Fonte: (4).

Genoma

Tabela 2 - Genoma representativo da *A. flos-aquae*.

Genoma	Tamanho (Mb)	GC (%)	Nº de proteínas	Nº de genes
NIES-81	5,85	38,8	4787	5260

Fonte: (1).

Aplicações Biotecnológicas

O interesse pela pesquisa e industrialização das microalgas deve-se ao seu fácil manejo e suas aplicações biotecnológicas diversas e acessíveis. Nas últimas duas décadas, houve um crescente interesse pelos potenciais

benefícios a saúde ganhos pelo consumo de *Aphanizomenon flos-aquae* (3).

A estação do inverno estimula a AFA a produzir altos níveis de ácidos graxos, incluindo o ômega 3. Além disso, esta microalga concentra altos teores de vitaminas, em especial, as do grupo B. A caráter de exemplo, a vitamina B12 é essencial para a síntese de ácidos nucleicos, eritrócitos e formação da mielina. A sua deficiência pode acarretar em severas desordens associadas ao sistema nervoso e, por isso, o seu suplemento é importante em determinados estilos de dieta (3).

A *A. flos-aquae* é rica em pigmentos, como o betacaroteno e clorofilas. As suas ficocianinas possuem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias significativas (2). Também é capaz de produzir compostos com propriedades antibacterianas e antimutagênicas (3).

Ademais, esta cianobactéria contém significativos níveis de feniletilamina, um neuromodulador ausente em determinados tipos de depressão e distúrbios mentais. Existe um grande interesse pela pesquisa e desenvolvimento de compostos bioativos utilizados como agentes neuroregenerativos e neuroprotetivos no combate à demência (2).

Alguns estudos reportaram a presença de toxinas em suplementos alimentares, supostamente produzidas pela *A. flos-aquae*, como microcistinas e anatoxinas. No entanto, há controvérsias sobre este assunto, pois outros estudos revelam que outras espécies é que produzem estas toxinas e têm sua “identidade” trocada com a AFA (SakerA). Alguns departamentos estaduais da saúde dos Estados Unidos recomendam a concentração máxima de 1mg/Kg de microcistina- LR em suplementos. Alguns estudos indicam que uma concentração em até 10mg/Kg não é nociva (3).

Referências

1. NATIONAL CENTER FOR BITECHNOLOGY INFORMATION. **Aphanizomenon flos-aquae**. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=ah>



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

- [nizomenon+flos-aquae](#). Acesso em: 26 maio 2020.
2. NUZZO, D. *et al.* Effects of the Aphanizomenon flos-aquae extract (Klamin®) on a Neurodegeneration Cellular Model. [S.I]: **Hindawi**. 2018. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2018/9089016/>. Acesso em: 01 dez. 2020. Doi: 10.1155/2018/9089016
 3. SAKERA, M. L. *et al.* Detection of microcystin synthetase genes in health food supplements containing the freshwater cyanobacterium Aphanizomenon flos-aquae. **Toxicon**, v. 46. p. 555-562, 2005. Disponível em: https://kops.uni-konstanz.de/bitstream/handle/123456789/7743/Saker_Jungblut_2005F081.pdf;jsessionid=B60F45319CA6AAD49A8CB20CB95BD514?sequence=1. Acesso em: 25 maio 2020.
 4. YAMAMOTO, Y.; NAKAHARA, H. Life Cycle of Cyanobacterium Aphanizomenon flos-aquae. **Taiwania**, v. 54, n.2, p. 113, 2009.



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

1.5 *Arthrospira platensis*

Mais conhecida por *Spirulina*, a *A. platensis* é uma microalga verde-azulada (2) que já foi isolada no lago Chenghai (China), em lagos de origem tectônica da África Oriental e também em lagos alcalinos (7).

Inicialmente pertencia ao gênero *Spirulina*, mas passou a fazer parte do gênero *Arthrospira ssp.*, por ser considerada um grupo distinto (10).

A *Arthrospira platensis* é uma cianobactéria. Estes microrganismos são conhecidos como elo evolucionário entre as bactérias e as algas, visto que apresentam estrutura morfológica semelhante a das bactérias, porém um sistema fotossintetizante similar ao das algas. Com isso, as cianobactérias compreendem uma variedade de microrganismos com amplas características morfológicas, bioquímicas e fisiológicas (2).

Os bioprodutos de origem microalgal assim como o extrato de biomassa algas, vêm tendo notória visualização no mercado mundial. Assim, o uso industrial das microalgas vem crescendo e observa-se o aumento das pesquisas na área biotecnológica aplicadas às substâncias sintetizadas por estes microrganismos (2).

Neste contexto, destaca-se a *A. platensis*, cujo fácil cultivo permite a produção de compostos de interesse para as indústrias alimentícia, química, cosmética e farmacêutica, dentre outras (2).

Características Biológicas

A microalga *Arthrospira platensis* (Figura 1) é uma cianobactéria. É um microrganismo procarionte filamentoso que forma tricomonas cilíndricas multicelulares e se dispõe na forma espiralada. Possui coloração verde-azulada, é aflagelada, móvel e fotoautótrofa, tendo o dióxido de carbono (CO₂) e a água como principais fontes de carbono e eletrólitos, respectivamente (5)(13).

Vive em ambientes aquáticos, tanto salinos quanto alcalinos. As condições ótimas de

sobrevivência são em pH básico com temperatura ideal entre 30-35°C (2).

A sua parede celular é constituída por mucopolissacarídeos que permitem a preservação de componentes como as vitaminas e os ácidos graxos poli-insaturados (2). Ademais, a sua conformação é influenciada pelas condições ambientais externas, tendo a forma linear mais adaptada a situações de estresse ou a luminosidade intensa (15).

A *A. platensis* se destaca pela sua composição e pelos produtos que gera. É uma fonte de proteínas, superior à carne, peixes e soja (3), e a maioria delas contém todos os aminoácidos essenciais, inclusive a metionina, aminoácido ausente na maioria das cianobactérias e algas (2). A sua composição é abundante em vitaminas, como a cianocobalamina (B12), pirodoxina (B6), riboflavina (B2), tiamina (B1), tocoferol (E), e fitonadiona (K), além do ácido pantotênico (B5). Também constam, na sua composição, os ácidos graxos poli-insaturados, como os ácidos essenciais alfa-linolênico, gama-linolênico, ácidos palmítico, linoleico e oleico (2).

Por fim, apresenta muitos pigmentos, dentre os quais destacam-se os carotenóides, como o β-caroteno (3) e minerais como o cálcio, o ferro e o fósforo (2).

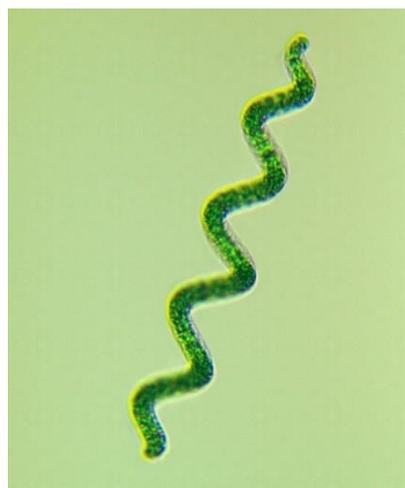


Figura 1 - Microalga *Arthrospira platensis*.
Fonte: (12).



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *A. platensis*. É uma microalga que pertence ao domínio *Bacteria*.

Domínio	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Cyanobacteria</i>
Classe	<i>Oscilatoriophycideae</i>
Ordem	<i>Oscillatoriales</i>
Família	<i>Microcoleaceae</i>
Gênero	<i>Arthrospira</i>
Espécie	<i>A. platensis</i>

Fonte: (8).

Ciclo de Vida e Mecanismos genéticos

Segundo Wang, Z. P. & Zhao, Y. (2005), alguns mecanismos da *A. platensis* são ativados consoantes às condições ambientais e adaptações necessárias. Um exemplo é a linearização da célula, uma variação a nível genético que pode ser induzida por fatores ambientais. Ademais, destacam-se a produção de metabólitos e a rica composição desta microalga, citadas acima, fruto do genoma desta cianobactéria.

Por sua vez, o ciclo de vida da *Arthrospira platensis* (Figura 2) envolve a quebra dos tricomonas em frações. A cada 4 a 6 células, ocorre a lise celular de células especializadas (necrídeos), que dão lugar a esses fragmentos. Uma vez passada essa etapa, os fragmentos se desenvolvem em uma forma curta e desenrolada (hormogonia), capaz de mover-se por deslizamento (11)

Por fim, as células de cada hormogonia passam pela divisão celular para a formação de um tricomona espiral (2). O citoplasma de espécies de cepas maiores apresenta vacúolos de gases, grânulos e septos bem visíveis (2).

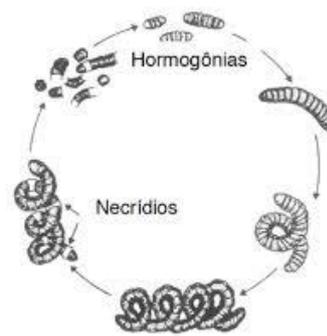


Figura 2 - Ciclo de vida da *Arthrospira platensis*.
Fonte: (2)

Genoma

Tabela 2 - Genoma referencial da *Arthrospira platensis*

Genoma	Tamanho (Mb)	GC (%)	Nº de proteínas	Nº de genes
Linhagem C1	6,09	44,8	4845	5521

Fonte: (8)

Aplicações Biotecnológicas

Entre as possíveis aplicações da *A. platensis* destaca-se o seu uso como um bioproduto de interesse comercial. Na indústria farmacêutica, é utilizada para produção de carotenoides, tocoferóis, ácido gama-linolênico, selênio, antioxidantes enzimáticos, cálculos de cálcio, polissacarídeos e ficocianina. Já na indústria alimentar, é produzida como suplemento alimentar humano e aditivo para rações (6). A *A. platensis* possui efeitos terapêuticos para a prevenção de doenças como a diabetes, a obesidade e, inclusive, o câncer. Por possuir muitas propriedades, melhora a qualidade nutricional e é, então, utilizada como alimento funcional, nutracêutico ou suplemento alimentar (4)(14). Ademais, pode ser utilizada como fonte de combustível pela geração de H₂ ou na produção de biogás por digestão anaeróbica. (6).

Outra aplicação biotecnológica para a *A. platensis* é no campo da biorremediação, em fluentes com presença de metais pesados, nitrogênio e fósforo, onde a microalga atua



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

absorvendo esses elementos, evitando assim, a eutrofização das águas (9). Ademais, ela é capaz de assimilar de dióxido de carbono, o que possibilita o tratamento das emissões industriais (2).

Outrossim, nos seus estudos Berzegari, A. *et al.* (2004) propuseram o uso desta microalga como vacina comestível baseada em plantas (PEV). O objetivo destas vacinas é a viabilidade econômica, principalmente em áreas remotas, uma vez que nesses lugares é difícil a preparação, o armazenamento, a distribuição e o acesso ao maior número de doses de vacina em um curto período de tempo. A *A. platensis* é uma candidata devido ao fato de que, em comparação com outros organismos e plantas, apresenta uma fácil manipulação genética, grande produção de biomassa, simples purificação e fácil armazenamento.

Referências

1. BARZEGARI, A. *et al.* The search for a promising cell factory system for production of edible vaccine spirulina as a robust alternate to plants. Iran, **Human vaccines & immunotherapeutics**, v. 10, n. 8, p. 2487-2502, 2014.
2. BORBA, V.; FERREIRA, L. **Cianobactéria arthrospira (spirulina) platensis**: biotecnologia e aplicações. [S.I]: Instituto Oswaldo Cruz - Centro de Pós-graduação, Pesquisa e Extensão Oswaldo Cruz, [2017?].
3. COHEN, Z. The chemical of *Spirulina*. In: VONSHANK, A. ***Spirulina plantesis (Arthrospira)***: physiology, cell-biology and biotechnology. London: Taylor and Francis. 1997. p. 175-204.
4. COLLA, L. *et al.* Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. **Bioresource Technology**, n. 98, p. 1489-1493, 2007.
5. FUJISAWA, T. *et al.* Genomic structure of an economically important cyanobacterium *Arthrospira (Spirulina) platensis* NIES-39. **DNA Research**, v. 17, n.2, p. 85-103, 2010. Disponível em: 10.1093/dnares/dsq004 . Acesso em: 01 dez. 2020.
6. KLANCHUI, A. *et al.* Systems biology and metabolic engineering of *Arthrospira* cell factories. **Computational and structural biotechnology journal**, [S.L.], v. 3, n. 4, 2012.
7. MASOJÍDEK, J.; TORZILLO, G. Mass cultivation of Freshwater Microalgae. **Encyclopedia of Ecology**. Elsevier. 2008. p. 2226-2235, 2008. Disponível em: 10.1016/b978-008045405-4.00830-2. Acesso em: 01 dez, 2020.
8. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. ***Arthrospira platensis* CI**. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/1261?genome_assembly_id=171005. Acesso em: 21 maio 2020
9. NOÛE, J.; PAUW, N. The potencial of microalgal biotechnology: a reiew of production and uses of microalgae. **Biotechnology Advances**, v.6, p.725-770, 1988.
10. PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.65, n.6, p.635-648, 2004.
11. RIPPKA, R. *et al.* Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. **Journal of General Microbiology**, v. 111, p.1-61, 1979.
12. GROW SPIRULINA PLATENSIS CULTURE STARTER TBSHX-1 LIVING ALGAE. Disponível em: <https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Falgae-lab.com%2Fshop%2Fliving-algae%2Fculture-starter%2Fspirulina-platensis-living-algae-tbshx-1%2F&psig=AOvVaw24Is8Us4jROoYJ6I1PL&ust=1590160610153000&source=images&cd=vfe&ved=0CA0QjhxqFwoTCODklo6gxeKCFQAAAAAdAAAAABAD>. Acesso em: 21 maio 2020
13. TOMASELLI, I. Morphology, ultrastructure and taxonomy of *Arthrospira (Spirulina)*. In: VONSHAK, A. ***Spirulina platensis (Arthrospira)***. **Physiology, cell-biology and biotechnology**. London: Taylor & Francis, 1997.



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

14. WANG, L. *et al.* Antioxidant activity of *Spirulina platensis* extracts by supercritical carbon dioxide extraction. **Food Chemistry**, n. 105, p. 36–41, 2007.
15. WHANG, Z. P. *et al.* The effect of environmental factors and g-rays on the morphology and growth of *Spirulina platensis*. **Journal of Zhejiang Agricultural University**, v. 23, p. 36-40, 1997.
16. WHANG, Z. P., ZHAO, Y. Morphological reversion of *Spirulina (Arthrospira) platensis* (Cyanophyta): from linear to helical. **Journal of Phycology**, v. 41, p. 622-628, 2005.



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

1.6 *Bacillus thuringiensis*

A *Bacillus thuringiensis* é uma bactéria conhecida por ser produtora de cristais proteicos com atividade inseticida. *B. thuringiensis* foi descrito, em 1915, na Alemanha, isolado a partir de uma espécie de traça de farinha a *Anagasta kuehniella*. Anteriormente, em 1902, no Japão, o pesquisador Ishiwata já havia isolado uma bactéria a partir de *Bombyx mori* popular bicho-da-seda, que posteriormente, se soube ser também uma subespécie de *B. thuringiensis*. A comercialização do primeiro produto à base de *B. thuringiensis* foi iniciada em 1938, na França, com o nome de “Sporeine” (1).

Características biológicas

A *B. thuringiensis* (Figura 1) é uma bactéria gram-positiva, aeróbica, com faixa de temperatura de crescimento entre 10 e 45°C, geralmente são móveis e apresentam formato de bastonete (1). *B. thuringiensis* é encontrado no solo, onde leva existência saprofítica, mas se torna um patógeno oportunista dos insetos quando ingerido (3).

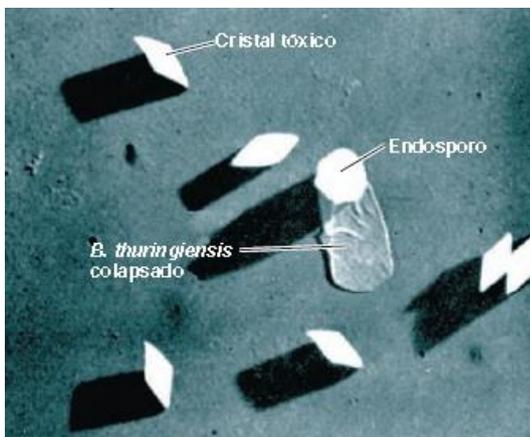


Figura 1 - Micrografia eletrônica por técnica de sombreamento de *Bacillus thuringiensis* em sua fase estacionária com cristais tóxicos em formato de diamante mostrados perto do endósporo. Fonte: (4).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Bacillus thuringiensis*.

Domínio	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordem	<i>Bacillales</i>
Família	<i>Bacillaceae</i>
Gênero	<i>Bacillus</i>
Espécie	<i>B. thuringiensis</i>

Fonte: (3)

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

B. thuringiensis apresenta duas principais fases em seu ciclo de vida. Primeiramente, ocorre o crescimento vegetativo, no qual estão com o metabolismo ativo e multiplica-se por divisão binária. A segunda fase, chamada de fase estacionária ocorre quando a bactéria se encontra em condições adversas (escassez de nutrientes e umidade), passando então a formar esporos (2).

Na fase vegetativa de crescimento é sintetizada uma proteína tóxica chamada Vip e na fase estacionária ocorre a síntese de cristais tóxicos, sendo eles: proteínas Cry, Cyt, thuringiensina e parasporina. Dentre estas toxinas, a principal é a proteína Cry, também conhecida como delta-endotoxina que apresenta atividade entomopatogênica para várias espécies de insetos, destacando-se as ordens dos Lepidópteros, Dípteros e Coleópteros. Porém, há subespécies de *B. thuringiensis* que apresentam cristais tóxicos contra insetos das ordens Hymenoptera, Hemiptera, Orthoptera, Phthiraptera e também para alguns nematoides, protozoários e ácaros (1). A delta-endotoxina



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

causa paralisia do intestino médio e interrupção da alimentação pelo hospedeiro infectado. A presença de um cristal parasporal, que está fora do exosporium do endosporo, é indicativa da produção da toxina e serve como um marcador para esta espécie. A ativação da toxina normalmente requer um ambiente de alto pH, como os ambientes alcalinos dos insetos, intestino médio seguido de proteólise. A ligação da toxina a um receptor nas células epiteliais intestinais serve para posicionar a toxina para se inserir na membrana apical onde forma um poro. O fluxo de água e íons para o citoplasma resulta em eventual lise levando a danos nos tecidos (3).

Outra forma de atuação da proteína Cry é chamada de “transdução de sinal”, onde a ligação da proteína Cry com receptores específicos induziria uma série de reações intracelulares provocando um desequilíbrio da pressão interna celular. A ação das toxinas, seja por qualquer uma das formas de atuação, “formação de poro” ou “transdução de sinal”, resulta na paralisia do aparelho digestório, ocasionando morte por inanição, paralisia geral dos músculos e septicemia. O esporo dessa bactéria possui formato elipsoidal e localiza-se na região central ou paracentral quando no interior da célula-mãe. Ao final da esporulação, o cristal proteico tóxico corresponde a cerca de 20% a 30% do peso seco da célula, sendo liberado no momento da lise celular (1).

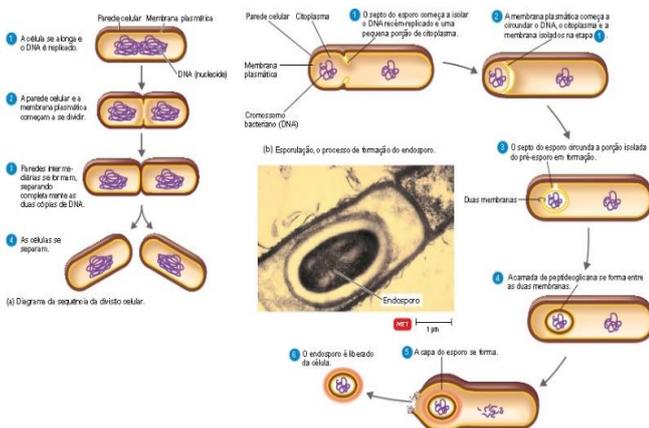


Figura 2 - Ciclo de vida de bactérias do gênero *Bacillus*, (a) fase vegetativa de crescimento com multiplicação celular por divisão binária, (b) fase estacionária com formação de esporos. Fonte: (4).

Genoma

As proteínas Cry são as principais toxinas constituintes dos cristais que caracterizam *B. thuringiensis*. São codificadas por genes que geralmente se localizam em plasmídeos e com menor frequência, no cromossomo bacteriano (1). O cromossomo de *B. thuringiensis* é circular (3).

Tabela 2 - Projeto genômico de *Bacillus thuringiensis* ASM211944v1, sequenciado em 2017, depositado no Genbank conforme números de acesso.

Genoma	Tamanho (Mb)	% CG	Nº de proteínas	Nº de genes
CP005935.1	6	35,4	5743	6148

Fonte: (3).

Aplicações Biotecnológicas

A produção de cristais tóxicos por *B. thuringiensis* a torna um organismo de alto potencial como entomopatígeno em controle biológico de pragas que afetam a agricultura. Entre as vantagens dos bioinseticidas estão a alta especificidade, menor risco ambiental e a saúde humana, menor frequência de resistência nos insetos alvo e a possibilidade do entomopatígeno se multiplicar no ambiente, aumentando seu tempo de permanência (1). Outro campo onde os bioinseticidas à base de *B. thuringiensis* são utilizados é na saúde, por meio do biocontrole de insetos vetores de doenças como dengue, malária e febre amarela. Além disso, vários genes de toxinas específicas para uma variedade de insetos estão sendo usados em engenharia genética projetando plantas que produzem a toxina, eliminando a necessidade de produzir quantidades suficientes de esporos de *B. thuringiensis* (3).



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Referências

1. ANGELO, Elisangela Andrade et al. *Bacillus thuringiensis*: características gerais e fermentação. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 4, p. 945-958, out./dez. 2010. Trimestral.
2. GARCIA, Ana Carolina Hortência; SANTOS, Vanessa Iris de Medeiros. **Seleção de ativos biológicos de *Bacillus thuringiensis* com potencial de inibição de microrganismos**. Brasília: Faculdade de Ciências da Educação e da Saúde, 2016. 21 p.
3. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI). **Genome. *Bacillus thuringiensis***. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=bacillus+thuringiensis>. Acesso em: 17 out. 2019.
4. TORTORA, G.J., FUNKE, B.R., CASE, C.L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

1.7 *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*

A Bactéria *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* foi descoberta por Henry Tissier, em 1900 (6). As bactérias pertencentes ao gênero *Bifidobacterium* são conhecidas por produzirem ácido lático, a partir da fermentação de açúcares. Anteriormente, as espécies *Bifidobacterium animalis* e *Bifidobacterium lactis* eram consideradas distintas, porém atualmente são vistas como membros da mesma espécie (*B. animalis*) que, por sua vez, consta de duas subespécies, a *animalis* e a *lactis* (4).

Características Biológicas

A *B. animalis subsp. lactis* (Figura 1) é uma bactéria gram-positiva que possui forma de bastonete e vive em colônias. Está presente no trato intestinal de diversos mamíferos como gatos, vacas e humanos, sobrevivendo a pH entre 5,5 a 7 e temperatura média de 37°C (8). Por ser um habitante comum do intestino de mamíferos, é muito resistente à acidez e ao estresse oxidativos (4).

Esta bactéria é quimiorganotrófica anaeróbica, obtendo energia através da fermentação de açúcares que dá lugar ao ácido lático (2). Segundo Quigley, E. (2017), já foi identificada e caracterizada uma enzima endopeptidase desta bactéria que confere a ela a habilidade de utilizar proteínas e peptídeos derivados do leite. Por sua vez, o ácido lático permite a hidrólise da lactose e outros açúcares complexos. Sugere-se também que os açúcares presentes na membrana deste microrganismo são capazes de interagir com o revestimento mucoso do intestino grosso. Neste sentido, estas moléculas contribuem para a ação da bactéria em regular as funcionalidades biológicas e fisiológicas no intestino do hospedeiro. Assim, a *B. animalis lactis*, protege as células intestinais das inflamações em resposta à *E. coli*, ao reduzir a aderência deste patógeno à parede intestinal e por neutralizar a migração de neutrófilos,

possivelmente pela regulação da expressão de quimiocinas e citocinas.

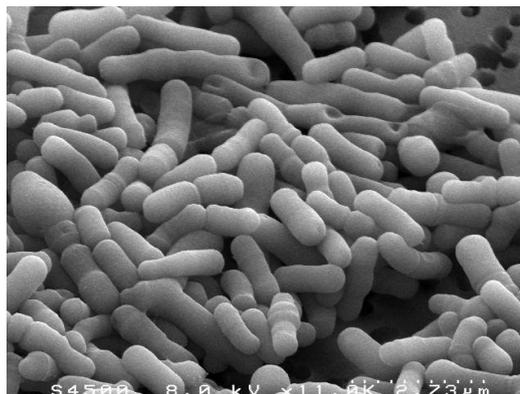


Figura 1 - *Bifidobacterium animalis subsp. Lactis*. Fonte: (3).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Bifidobacterium animalis*.

Domínio	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Actinobacteria</i>
Classe	<i>Actinobacteria</i>
Ordem	<i>Bifidobacteriales</i>
Família	<i>Bifidobacteriaceae</i>
Gênero	<i>Bifidobacterium</i>
Espécie	<i>B. animalis</i>

Fonte: (8)

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

O Ciclo de Vida da *B. animalis subsp. lactis* enquadra-se no ciclo comum das bactérias. Por sua vez, o ciclo está dividido em quatro fases: fase de retardamento, exponencial, estacionária e declínio. Num primeiro momento (fase de retardamento), a bactéria não cresce e apenas se adapta ao meio e metaboliza nutrientes que a prepararam para o próximo estágio, iniciando também as cópias do seu DNA. A seguir (fase exponencial), o microrganismo se multiplica exponencialmente. O “tempo de geração” vai variar conforme cada organismo e as condições



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

presentes. É neste momento que se dá a fissão binária (abaixo descrito). Por sua vez, na terceira etapa (fase estacionária), o crescimento microbial diminui alcançando a estabilidade. Num último momento (fase de declínio), o crescimento cessa totalmente ocasionando a morte celular (7).

Como se trata de uma bactéria, o método de reprodução mais comum atribuído à *Bifidobacterium ani/malis* é a divisão celular por fissão binária (Figura 2 à esquerda). Quando a célula se reproduz, o seu cromossomo circular se replica e a célula se divide. Este processo de reprodução é o mais simples conhecido (5).

Geralmente, num lugar específico da molécula de DNA (origem de replicação) é onde se inicia a replicação, onde mais de 22 proteínas diferentes iniciam o processo de cópia do material genético. Todavia, este lugar não é totalmente conhecido. Os dois cromossomos “filhos” recém-replicados se afastam, deslocando-se em sentidos opostos da célula, ficando juntos à membrana plasmática. Entre os polos (no centro da célula) é formada uma nova membrana plasmática e parede celular. Após a ativação de mecanismos genéticos, inicia-se o processo de estrangulamento celular, a partir do centro da célula, dando lugar a duas novas células, cada uma com uma cópia idêntica de cromossomos (5).

Outrossim, as bactérias podem se reproduzir de forma sexuada (Figura 2 à direita), maioritariamente, por conjugação. Embora a literatura não evidencie que este fato ocorra em *B. animalis*, não se descarta esta possibilidade. A conjugação ocorre quando há contato físico entre duas células, geralmente via *pilus*. Uma delas (célula doadora) aporta um pequeno segmento linear de DNA (F-plasmídeo ou fator F) que será transferido para a outra (receptora, fator F ausente). Nesse momento, a enzima DNA polimerase sintetiza uma fita complementar para gerar a dupla fita de DNA. Em alguns casos, a célula doadora transfere também DNA cromossomal. A partir de então, a célula receptora combina o DNA da célula doadora com o seu próprio (1).

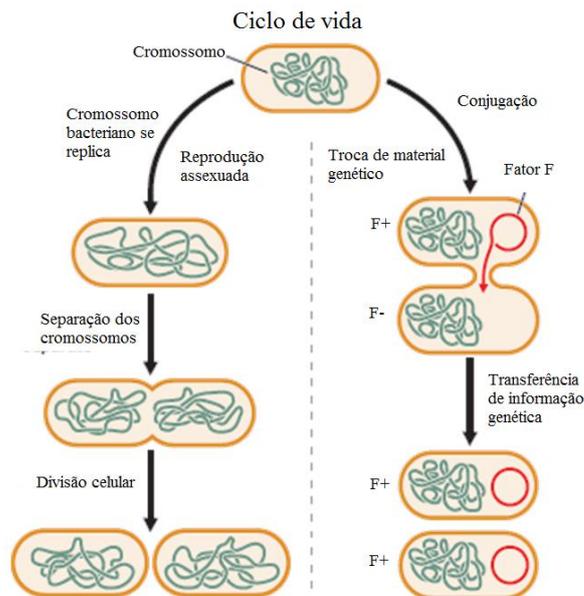


Figura 2 - Ciclo de Vida da *Bifidobacterium animalis*. Esquerda - As células procarióticas se reproduzem por meio da fissão binária, onde cada cromossomo replicado estará presente em cada uma das células-filhas. Direita - Reprodução sexual por conjugação. O fator F será transferido da célula doadora para a célula receptora. Fonte: (6)

Genoma

Tabela 2 - Genoma referencial da *Bifidobacterium animalis subsp lactis*.

Genoma	Tamanho (Mb)	Nº Genes	GC%	Nº Proteínas
ATCC 25527	1,93	1,594	60,5	1470

Fonte: (8)

Aplicações Biotecnológicas

As ações benéficas desta bactéria à saúde humana promoveram o seu uso nas dietas, como suplemento nutricional: pré ou probióticos. O meio à base de leite é ao qual está melhor adaptada sendo, então, utilizada na indústria alimentar com iogurtes e leites fermentados ou em fórmulas liofilizadas (6). Segundo Quigley, E. (2017), os benefícios que as propriedades desta bactéria trazem, podem ser listados em:

- Aceleração do trânsito intestinal e microbial.
- Melhora a constipação e a síndrome de intestino irritado.



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

- Reduz os sintomas gastrointestinais menores.
- Aumenta a frequência de evacuação.
- Previne infecções comuns e desordens inflamatórias no geral.

Ademais, alguns estudos apontam que esta bactéria, ação conjunta com outros microrganismos, tem impactos positivos em infecções respiratórias. Assim, evidencia-se que o maior foco de aplicação biotecnológica deste microrganismo é na saúde humana.

Referências

1. BANK, Eric. **Three Mechanisms of Genetic Recombination in Prokaryotes**. Sciencing.com. Publicado a 05/03/2018. Disponível em: <https://sciencing.com/three-mechanisms-genetic-recombination-prokaryotes-18252.html>. Acesso a 5 jun 2020.
2. BEAR, R. *et al.* **Principles of Biology**. OpenStax CNX. Publicado a 13/05/2016. Disponível em: <http://cnx.org/contents/db89c8f8-a27c-4685-ad2a-19d11a2a7e2e@24.18>. Acesso em: 8 jun. 2020.
3. SHETTY, Trisha. **Bifidobacterium animalis**. Alchetron. Publicado a 19/03/2018. Disponível em: <https://alchetron.com/Bifidobacterium-animalis>. Acesso em: 8 jun. 2020.
4. QUIGLEY, E. M. M. **Bifidobacterium animalis spp. lactis**. The Microbiota in Gastrointestinal Pathophysiology: Implications for human Health, Prebiotics, Probiotics and Dysbiosis. Publicado a 06/01/2017. [S.I]. Ed. Academic Press, 2017. p. 127-130.
5. PIERCE, Benjamin A. **Genética: Um enfoque conceitual**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 2016. p. 58-60.
6. PROCTOR, P.; DUGGINS-MCKINNON, B. **Bifidobacterium animalis**. Editado a 18/03/2018. Disponível em: https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Bifidobacterium_animalis#Cell_Structure.2C_Metabolism_and_Life_Cycle. Acesso em: 8 jun. 2020.
7. MICHAELS, Joel. **Bacteria Life Cycle**. Sciencing.com Publicado a 25/10/2017. Disponível em: <https://sciencing.com/bacteria-life-cycle-12211284.html>. 5 June 2020. Acesso em: 5 jun. 2020.
8. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **Bifidobacterium animalis subsp. lactis**. Disponível em: ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=bifidobacterium+lactis. Acesso em: 2 set. 2019.
9. UEMURA, Yusuke; MATSUMOTO, Mitsuharu. Chemical structure of the cell wall-associated polysaccharide of *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* LKM512. **Glycoconjugate Journal**, v. 31. p. 555-561, November, 2014. Doi: 10.1007/s10719-014-9534-x



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

1.8 *Cupriavidus metallidurans* CH34

A *Cupriavidus metallidurans* CH34 foi isolada, em Liège na Bélgica, de sedimentos de mineração de zinco. Após isso, foi encontrada também, em uma mina de ouro na Austrália. Essa bactéria já foi denominada *Wautersia metallidurans* CH34, *Ralstonia eutropha* CH34, *Ralstonia metallidurans* CH34 e *Alcaligenes eutrophus* (1).

Características biológicas

A *Cupriavidus metallidurans* (Figura 1) é uma β -proteobactéria, não patogênica, gram-negativa. Possui flagelos uniformemente distribuídos pela superfície celular, sendo capaz de crescer em altas concentrações de cerca de treze íons metálicos diferentes e retê-los em sua parede celular (2). É considerado microrganismo modelo para estudos envolvendo homeostase e resistência a metais, já que o ambiente natural dessa bactéria possui concentrações de metais que excedem largamente valores letais para qualquer outro microrganismo (1).



Figura 1 - Eletromicrografia de transmissão de cortes histológicos de células de *C. metallidurans* CH34. Fonte: (1)

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Cupriavidus metallidurans*.

Domínio	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Betaproteobacteria</i>
Ordem	<i>Burkholderiales</i>
Família	<i>Burkholderiaceae</i>
Gênero	<i>Cupriavidus</i>
Espécie	<i>C. metallidurans</i>

Fonte: (4).

Ciclo de vida e Mecanismos genéticos

É uma bactéria quimiolitotrófica facultativa, podendo crescer, em meio mineral e em variadas concentrações de CO₂, H₂ e O₂, autotroficamente (1). Em condições anaeróbicas, *C. metallidurans* CH34 reduz nitrato (3). Além disso, é mesofílica, possuindo temperatura e pH ótimos de crescimento de 30°C e 5,0, respectivamente. É capaz de metabolizar, heterotroficamente, diferentes compostos orgânicos, tais como: glicerol, piruvato, lactato, acetato, gluconato, malato, succinato, fenol, triptofano, glicina, entre muitos outros. A partir de análises genômicas, demonstrou que *C. metallidurans* CH34 possui quarenta e um sistemas de transporte envolvendo carboidratos. Entretanto, cento e dez sistemas envolvendo aminoácidos foram observados, sugerindo que, para o crescimento heterotrófico, o metabolismo de aminoácidos pode ter maior importância sobre o de carboidratos (1). Além dos flagelos, o genoma da linhagem CH34 possui genes necessários para a síntese de fímbrias, muito importantes para a adesão celular e formação de biofilmes, e pili, o que sugere que *C. metallidurans* CH34 se reproduz por conjugação (3).



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

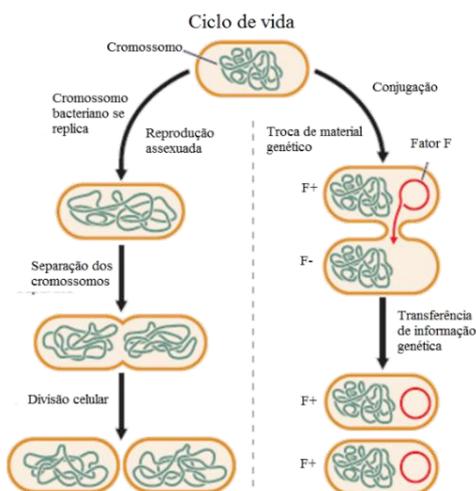


Figura 2 - Mecanismo de reprodução da bactéria *Cupriavidus metallidurans* CH34. Esquerda - As células procarióticas se reproduzem por meio da fissão binária, onde cada cromossomo replicado estará presente em cada uma das células-filhas. Direita - Reprodução sexual atribuída à *Cupriavidus metallidurans*. O fator F será transferido da célula doadora para a célula receptora. Fonte: (5).

Genoma

A resistência dessa bactéria a íons metálicos deve-se à transferência horizontal de genes durante sua história evolutiva. *C. metallidurans* CH34 possui dois plasmídeos, pMOL30 e pMOL28 (4), os quais garantem a sua sobrevivência em locais contendo altas concentrações de metais e, também, estabilidade segregacional. No plasmídeo pMOL30 estão presentes cinco operons de resistência a Cd^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} e Ag^+ , enquanto que no plasmídeo pMOL28 três operons são responsáveis pela resistência a Co^{2+} , Ni^{2+} , Hg^{2+} e CrO_4^{2-} . Além disso, esse microrganismo ainda possui um megaplasmídeo, que contém os genes ou operons que estão relacionados a resistência a Cd^{2+} , Zn^{2+} , Bi^{2+} , Tl^+ , Ag^+ e Cu^{2+} e o seu próprio cromossomo possui uma variedade de genes de resistência a metais. Quando na presença de determinado íon metálico, *C. metallidurans* CH34 tem a expressão de múltiplos operons, não somente aquele relacionado ao íon específico, o

que permite uma ampla defesa por parte da bactéria (1). O genoma completo de *C. metallidurans* CH34 pode ser consultado na plataforma NCBI Nucleotide database por meio de número NC_007973.1 (4).

Tabela 2 - Informações dos genomas associados à *Cupriavidus metallidurans* CH34.

Genoma	Tamanho (Mb)	GC%	Nº de proteínas	Nº de genes	Ano
Cromossomo Circular	3,93	63,8	3522	3652	2014

Fonte: (4).

Aplicações Biotecnológicas

Estudos demonstraram que essa bactéria é capaz de remover totalmente Amerício-241 de rejeitos radioativos líquidos pós 6 horas de cultivo (2), indicando o potencial de *C. metallidurans* para biorremediação de locais contaminados radioativamente.

Ademais, em contato com o ouro (Au), a *C. metallidurans* CH34 produz biofilmes, de forma a impedir a entrada do metal na célula, retendo-o na sua parede celular. Além disso, também pode acumular partículas de Au em seu interior, fazendo-o não interferir em seu metabolismo. A partir disso, pode-se construir biossensores com a *C. metallidurans* CH34 para análise de rejeitos de minério, o que, nesses casos, otimizaria a busca de ouro (6).

Referências

1. BIONDO, R. **Engenharia Genética de *Cupriavidus metallidurans* CH34 para a Biorremediação de Efluentes contendo Metais Pesados**. 2008. 171 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2008. Disponível em: <http://pct.capes.gov.br/teses/2008/33002010156P0/TES.pdf>. Acesso em: 22 out. 2019.
2. BORBA, T. R. **Estudo da Aplicação de Biossorventes no Tratamento de Rejeitos Radioativos Líquidos contendo Amerício-241**. 2010. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações) – Universidade de São Paulo, São Paulo. 2010. Disponível em:



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/85/85131/tde-29082011-103325/pt-br.php>. Acesso em: 23 out. 2019.

3. JANSSEN, P. J. *et al.* The Complete Genome Sequence of *Cupriavidus metallidurans* Strain CH34, a Master Survivalist in Harsh and Anthropogenic Environments. **PLOS ONE**. California, v. 5, n. 5, p. 1-33, fev./mai. 2010. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0010433>>. Acesso em: 22 out. 2019.
4. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *C. metallidurans* CH34. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/1061?genome_assembly_id=170402. Acesso em: 22 out. 2019.
5. PIERCE, Benjamin A. **Genética**: Um enfoque conceitual. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 2016. p. 58-60.
6. REITH, F. *et al.* Mechanisms of gold biomineralization in the bacterium *Cupriavidus metallidurans*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. California, v. 106, n. 42, p. 17757-17762, abr./ago. 2009. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/106/42/17757>. Acesso em: 22 out. 2019. Doi: 10.1073/pnas.0904583106.
7. TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell. R.; CASE, Christine. L. **Microbiologia**; tradução: Aristóboles Mendes da Silva *et al.* 10 ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

1.9 *Deinococcus radiodurans*

O nome desta bactéria deriva do grego *deinos* e *kokkos* que significam "grão terrível" e do latim *radius* e *durare*, cujo significado é "sobrevivente à radiação" (7). A *Deinococcus radiodurans* foi descoberta, em 1956, por Arthur W. Anderson, em Corvallis, Oregon, nos Estados Unidos, durante experimentos para determinar se comida enlatada podia ser esterilizada por radiação gama. Nos ensaios, expunham-se pedaços de carne a uma dose de radiação capaz de matar qualquer microrganismo conhecido. Contudo, a carne, ainda assim, estragou, levando assim, ao descobrimento e posterior isolamento da *D. radiodurans* (3). Esta bactéria está listada no Guinness Book como a bactéria mais resistente conhecida (5).

Apesar de conhecida e de ser objeto de pesquisa há longos anos, os mecanismos de resistência ainda não estão totalmente esclarecidos (4).

Características biológicas

A *Deinococcus radiodurans* (Figura 1) é uma bactéria gram-positiva, conhecida por possuir alta resistência a radiação ionizante. De formato esférico, com diâmetro entre 1,5 e 3,5 μm , não forma endósporos e é imóvel. Apresenta-se em grupos de duas ou quatro células unidas e suas colônias têm coloração rosa/vermelho (9).

Não é patogênica. É aeróbia obrigatória e alimenta-se de compostos orgânicos. Por isso, são frequentemente encontradas em habitats ricos em materiais orgânicos, como: solo, fezes, carne, etc. É mesófila, com temperatura ótima de crescimento entre 30-37° (2).

Como já dito, este microrganismo é extremamente resistente a radiações ionizantes (1500 kilorads), luz ultravioleta, dessecação, oxidação e a agentes eletrófilos, podendo habitar lugares de condições extremas de radiação. A

dose de radiação absorvida é, centenas de vezes maior, quando comparada a outros organismos (3).



Figura 1 - *Deinococcus radiodurans*. Fonte: (6).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Deinococcus radiodurans*.

Filo	<i>Deinococcus-thermus</i>
Classe	<i>Deinococci</i>
Ordem	<i>Deinococcales</i>
Família	<i>Deinococcaceae</i>
Gênero	<i>Deinococcus</i>
Espécie	<i>D. radiodurans</i>

Fonte: (8).

Ciclo de vida e Mecanismos Genéticos

Durante a fase estacionária, cada célula contém quatro cópias do seu genoma (Figura 3) e, quando se multiplicam, possuem de oito a dez cópias. A *D. radiodurans* tem a capacidade única de reparar suas fitas simples e duplas de DNA, quando danificadas pela radiação. No momento em que ocorrem os danos à célula, ela transforma as fitas de DNA em uma estrutura anelar, na qual o DNA é reparado (3). Os mecanismos genéticos envolvem, como já foi



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

dito, a presença de múltiplas cópias do genoma, organizado num nucleotídeo altamente condensado que previne a difusão de fragmentos de DNA durante a irradiação e, também, a acumulação de íons Mn^{+2} que previnem a geração de espécies reativas de oxigênio. Os mecanismos enzimáticos desta bactéria estão relacionados com a resistência da célula bacteriana à radiação, mediando os processos de reparação de DNA e limitando a degradação de DNA pós-irradiação (3).

A *D. radiodurans* utiliza quatro tipos de mecanismos para reparar o seu DNA, que possibilitam a reconstrução cromossomal em poucas horas. São, a saber:

- Recombinação homóloga: utilização de uma cópia de DNA de outro cromossomo como molde para preencher ou fixar DNA.
- Anelamento dependente de cadeia: reparação de DNA fragmentado por meio de outra cópia, reconstruindo secções perdidas.
- Anelamento de cadeia única: síntese das secções perdidas.
- Secção final não homóloga: secções terminais são reconhecidas e fixadas, sem necessidade de outra cópia de DNA (8).

Como se trata de uma bactéria, a divisão celular dá-se por fissão binária (Figura 3 à esquerda). Quando a célula se reproduz, o seu cromossomo circular se replica a partir do ponto de origem de replicação e, posteriormente, a célula se divide originando duas células-filhas idênticas. Este processo de reprodução é o mais simples conhecido (10).

Outrossim, estas bactérias podem se reproduzir de forma sexuada (Figura 3 à direita), maioritariamente por conjugação, embora não haja na literatura evidências de que isto ocorra em *Deinococcus radiodurans*. A conjugação ocorre quando há contato físico entre duas células, geralmente via *pilus*. Uma delas (célula

doadora) aporta um pequeno segmento linear de DNA (F-plasmídeo ou fator F) que será transferido para a outra (receptora, fator F ausente). Nesse momento, a enzima DNA polimerase sintetiza uma fita complementar para gerar a dupla fita de DNA. Em alguns casos, a célula doadora transfere também DNA cromossomal. A partir de então, a célula receptora combina o DNA da célula doadora com o seu próprio (1).

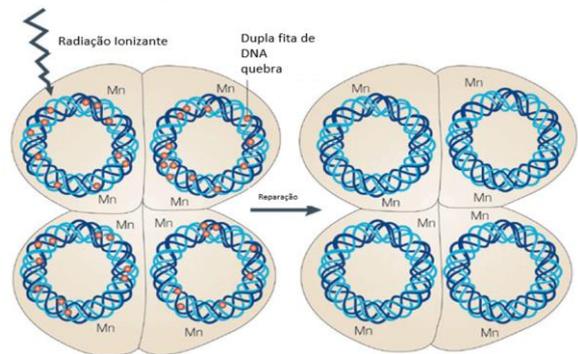


Figura 2 - Potenciais contribuições para a recuperação da danificação exercida pela radiação em *Deinococcus radiodurans*. O esquema mostra a *D. radiodurans* tetracocos. O nucleotídeo em cada compartimento é altamente condensado e mantém a sua estrutura mesmo após a radiação. Altos níveis de Mn (II) podem contribuir para a recuperação do DNA danificado. Uma grande variedade de enzimas, provavelmente, também contribua para a reconstituição do genoma. Fonte: (3).

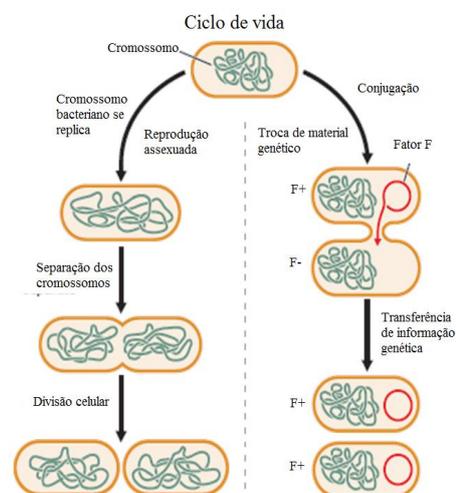


Figura 3 - Esquerda - As células procarióticas se reproduzem por meio da fissão binária, onde



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

cada cromossomo replicado estará presente em cada uma das células-filhas. Direita – Reprodução sexual atribuída à *Deinococcus radiodurans*. O fator F será transferido da célula doadora para a célula receptora. Fonte: (1).

Genoma

Tabela 2 - Genoma da Linhagem R1 da *Deinococcus radiodurans*.

Genoma	Nº de genes	Tamanho (pb)	GC (%)	Ano
Linhagem R1	3,195	3.284.15	69,15	1999

Fonte: (11).

Aplicações Biotecnológicas

A característica peculiar da *D. radiodurans* de resistir à alta radiação e os estudos relacionados à mesma permitiram a descoberta de famílias de proteínas que são muito expressas durante as respostas ao estresse e na eliminação de produtos da radiação. Duas dessas famílias são: a *Nudix* (MutT), *pirofosfotidrolases*, e a *DinB*, enzimas dependentes de metais, cuja função ainda é desconhecida (porém sua produção é induzida pelo dano do DNA) (4). O conhecimento da regulação gênica sugere um potencial biotecnológico para estudos com outras espécies de bactérias.

Para além da sua contribuição aos estudos de genética, a *D. radiodurans* tem sido avaliada como possível agente biorremediador de rejeitos, visto que o UV pode ser utilizado em conjunto com o tratamento biológico e químico de efluentes; a resistência desta bactéria a altas radiações a torna eficaz na limpeza dos mesmos (4). Ademais, esta bactéria é capaz de dissolver solventes como o tolueno, sendo útil para degradar compostos orgânicos em lugares com

alta radioatividade. No entanto, este campo de estudo ainda é escasso. (5).

Referências

1. BANK, Eric. **Three Mechanisms of Genetic Recombination in Prokaryotes**. Sciencing.com. Publicado a 05/03/2018. Disponível em: <https://sciencing.com/three-mechanisms-genetic-recombination-prokaryotes-18252.html>. Acesso em: 5 jun. 2020
2. BATTISTA, J. R. Against all odds: the survival strategies of *Deinococcus radiodurans*. **Annual Review of Microbiology**. 1997. Disponível em: https://web.archive.org/web/20111105223023/http://www.biology.lsu.edu/webfac/jbattista/publications/downloads/Against_All_Odds.pdf. Acesso em: 30 mar. 2020.
3. COX, M.; BATTISTA, J. *Deinococcus radiodurans* - the consummator survivor. **Nature Reviews Microbiology**, 2005. p. 882–892. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrmicro1264>. Acesso em: 22 out. 2019.
4. DEVELOPMENTAL BIOLOGY INTERACTIVE. **Oxidative Stress Response in *Deinococcus Radiodurans***. Disponível em: <http://www.devbio.biology.gatech.edu/unicellular-model-organisms/oxidative-stress-response-in-deinococcus-radiodurans/>. Acesso em: 22 out. 2019.
5. DEWEERDT, S. **The World's Toughest Bacterium**. Genome News Network. 2002. Disponível em: <http://www.genomenetwork.org/articles/0702/deinococcus.shtml>. Acesso em: 30 mar. 2020
6. ESRF. **Structural Biology of *Deinococcus radiodurans***. Disponível em: http://www.esrf.eu/UsersAndScience/Experiment/MX/Research_and_Development/Biology/Deinococcus_radiodurans. Acesso em: 22 out. 2019.
7. MAKAROVA, K. S. *et al.* Genome of the extremely radiation-resistant bacterium *Deinococcus radiodurans* viewed from the perspective of comparative genomics. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 65, n.1, 2001. Disponível em: <https://mmbr.asm.org/content/65/1/44>. Acesso em: 30 mar. 2020



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

8. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *deinococcus radiodurans*[orgn]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Deinococcus+radiodurans> . Acesso em: 18 jun. 2020
9. OBIERO J. *et al.* Expression, purification, crystallization and preliminary X-ray crystallographic studies of *Deinococcus radiodurans* thioredoxin reductase. **Acta Crystallographica, Section F Structural Biology Crystallization Communications**, v. 62, p. 757-760, 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16880549?dopt=Abstract> Acesso em: 30 mar. 2020
10. PIERCE, Benjamin A. **Genética: Um enfoque conceitual**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. p. 58-60.
11. WHITE, O. *et al.* Genome sequence of the radioresistant bacterium *Deinococcus radiodurans* R1. **Science**, v. 286, p. 1571-7, 1999. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10567266?dopt=Abstract> Acesso em: 30 mar. 2020.



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

1.10 *Geobacillus stearothermophilus*

A bactéria *G. stearothermophilus* foi descrita, pela primeira vez, em 1920, como *Bacillus stearothermophilus*, depois de ser encontrada em milho enlatado (1). Em 2001, juntamente a diversas outras bactérias do gênero *Bacillus*, foi reclassificada como um membro do gênero *Geobacillus*, após análise microbiana dos campos de petróleo de altas temperaturas (3).

Características biológicas

A *Geobacillus stearothermophilus* é encontrada distribuída no solo, fontes termais, sedimentos oceânicos e em alimentos de baixa acidez, onde causa deterioração. É gram-positiva, tem forma de bastonetes e aparece isolada ou em cadeias. Mesmo sendo gram-positiva, a coloração de *G. stearothermophilus* pode ter variados resultados. Além disso, possui mobilidade, utilizando flagelos peritríqueos para locomoção.

É um microrganismo termófilo, sobrevivendo em uma larga faixa de temperatura, de 30 a 75°C (T ótima: 55-65°C). Entretanto, já foi encontrado em ambientes com temperatura de 130°C. Também apresenta larga faixa de pH, já que pode sobreviver em ambientes com pH variando de 2 a 11 (pH ótimo: 6,2-7,5).

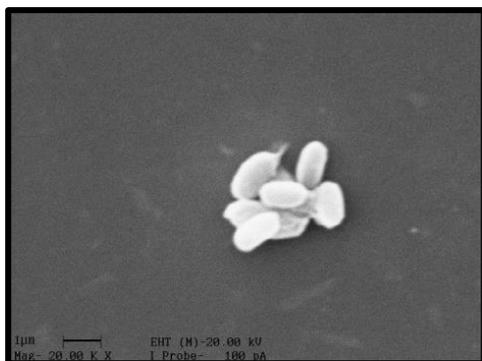


Figura 1 - Microscopia eletrônica de varredura de esporos de *G. stearothermophilus*. Fonte: (6).

Em se tratando de respiração, é aeróbia facultativa, fermentadora de diversos açúcares,

como: glicose, frutose, manose, sucrose e maltose com produção de ácidos. Ainda pode utilizar hidrocarbonetos e maltose como fonte de energia (1)(2)(3).

Taxonomia

Tabela 2 - Classificação taxonômica da *Geobacillus stearothermophilus*.

Domínio	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordem	<i>Bacillales</i>
Família	<i>Bacillaceae</i>
Gênero	<i>Geobacillus</i>
Espécie	<i>G. stearothermophilus</i>

Fonte: (2).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genético

Sua forma de reprodução se dá por esporulação e, em condições ideais, seu tempo de geração é de, aproximadamente, 25 minutos. Em condições de baixo nível de nutrientes, esse microrganismo produz endósporos para sobreviver. No processo, o protoplasto do esporo é desidratado, o que o torna muito resistente ao calor e a produtos químicos. Algumas proteínas ainda se ligam aos esporos, aumentando a resistência à desidratação (1).



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

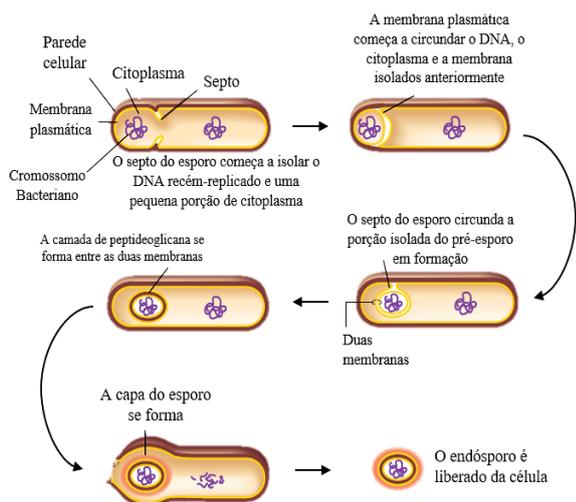


Figura 2 - Ilustração da reprodução por formação de esporos da *Geobacillus stearothermophilus* (7).

Genoma

Tabela 2 - Informações sobre o genoma de *G. stearothermophilus*. O genoma completo pode ser acessado na plataforma NCBI Nucleotide database pelo número NZ_CP008934.1.

Genoma	Tamanho (Mb)	GC%	Nº de proteínas	Nº de genes	Ano
Cromossomo Circular	3,65	52,6	3396	3737	2015
Plasmídeo	0,02	54,6	16	24	2015

Fonte: (2).

Aplicações Biotecnológicas

Devido ao fato dos esporos de *G. stearothermophilus* sobreviverem a temperaturas de até 130°C, são utilizados em dispositivos indicadores de esterilização em autoclaves a vapor. Nesses indicadores, os esporos podem estar suspensos em meio de cultura ou em uma tira de papel acondicionada em uma ampola de vidro quebrável. No momento da esterilização, o indicador é colocado junto às superfícies a serem esterilizadas. Após o processo, ocorre incubação desses mesmos esporos (a tira de papel é colocada em meio de cultura), de forma a analisar a eficiência da esterilização. Se houver mudança de cor (devido à mudança de pH) ou de turbidez, sugere-se que a esterilização não foi eficiente, já que

os esporos não foram totalmente inativados (1)(5). Além disso, *G. stearothermophilus* ainda possui potencial para ser utilizada como indicador biológico de limpeza de córregos e rios.

Ademais, a *Geobacillus stearothermophilus* é capaz de sintetizar galacto-oligosacarídeos (GOS). Os GOS são utilizados como prebióticos e tem seu consumo em constante crescimento, o que mostra a necessidade de bons métodos de produção. Tais compostos são produzidos a partir da conversão da lactose por enzimas galactosídeses, as quais se forem termoestáveis, favorecerão a síntese de GOS. Pesquisas demonstram que é possível utilizar a enzima β -galactosídase termoestável de *Geobacillus stearothermophilus* para a produção de galacto-oligosacarídeos, de forma a baratear o custo de produção dos prebióticos (4).

Referências

1. GUIZELINI, Belquis Palácio. **Desenvolvimento de um novo processo de produção de esporos de *Geobacillus stearothermophilus* e sua utilização em indicador biológico para esterilização a vapor.** 2010. 89 f. Dissertação (Mestrado em Processos Biotecnológicos) – Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Processos Biotecnológicos, Curitiba, Paraná, 2010.
2. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *Geobacillus stearothermophilus*. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=geobacillus+stearothermophilus>. Acesso em: 24 set. 2019.
3. NAZINA, Tamara. *et al.* Taxonomic study of aerobic thermophilic bacilli: descriptions of *Geobacillus subterraneus* gen.nov., sp. nov. and *Geobacillus uzensis* sp. nov. from petroleum reservoirs and transfer of *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus thermocatenulatus*, *Bacillus thermoleovorans*, *Bacillus kaustophilus*, *Bacillus thermoglucosidasius* and *Bacillus thermodenitrificans* to *Geobacillus* as the new combinations *G. stearothermophilus*, *G. thermocatenulatus*, *G. thermoleovorans*, *G. kaustophilus*, *G. thermoglucosidasius* and *G. thermodenitrificans*. **International Journal of**



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

- Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.51, p. 433-446, 2001. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1099/00207713-51-2-433>
Acesso em: 27 mar. 2020.
4. PLACIER, Gaël. Evolved β -Galactosidases from *Geobacillus stearothermophilus* with Improved Transgalactosylation Yield for Galacto-Oligosaccharide Production. **Applied and Environmental Microbiology**, França, v. 75, n. 19, p. 6312-6321, oct., 2009. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1128/AEM.00714-09>.
Acesso em: 24 set. 2019.
 5. SILVA, Fernando Pontes de Lima. *et al.* Indicadores biológicos: segurança no processo de esterilização. **Boletim do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 21-22, 2014. Disponível em: http://www.ial.sp.gov.br/resources/insituto-adolfo-lutz/publicacoes/bial/bial_241/bial_24_1-6.pdf. Acesso em: 24 set. 2019.
 6. SILVA, Mariana Altenhofen. *et al.* Inactivation of *Bacillus subtilis* and *Geobacillus stearothermophilus* inoculated over metal surfaces using supercritical CO₂ process and nisin. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 109, p. 87-94, 2016. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2015.11.013>.
Acesso em: 27 mar. 2020.
 7. TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell. R.; CASE, Christine. L. **Microbiologia**; tradução: Aristóboles Mendes da Silva *et al.* 10 ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

1.11 *Geobacter metallireducens*

A *Geobacter metallireducens* foi isolada por Derek Lovely, em 1993, na Universidade de Massachusetts-Amherst, Estados Unidos, e pertence ao importante grupo de microrganismos capazes de utilizar Fe (III) insolúvel comoceptor de elétrons, oxidando compostos orgânicos tais como: ácidos graxos de cadeia curta, álcoois e monoaromáticos como o fenol e tolueno (4).

A *G. metallireducens* também obtém energia pela redução de outros metais como o manganês e urânio (4). O conhecimento do potencial desta bactéria levou ao estudo do seu uso como agente de biorremediação em sedimentos aquosos ou águas subterrâneas poluídas com contaminantes metálicos ou orgânicos (2).

Características biológicas

A *G. metallireducens* (Figura 1) é uma bactéria gram-negativa que possui formato oval/cilindrado (4). Quando necessita mover-se e, em condições favoráveis, expressa flagelos e fímbrias (2). Ademais, é anaeróbia estrita, obtém sua energia pela redução do ferro e outros metais (2) (4). Oxidam cadeias curtas de ácidos graxos, álcoois, composto monoaromáticos (tolueno, fenol, etc.), tendo o Fe (III), manganês, urânio, entre outros metais, como receptores finais de elétrons (4). Está presente em ambientes sedimentares, no subsolo, em águas subterrâneas e em sedimentos contaminados com elevada matéria orgânica e metal (2) (4).

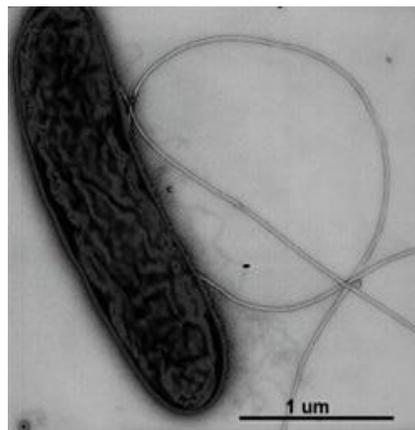


Figura 1 - *Geobacter metallireducens*. Fonte: (3).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Geobacter metallireducens*.

Filo	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Deltaproteobacteria</i>
Ordem	<i>Disulfuromonadales</i>
Família	<i>Geobacteraceae</i>
Gênero	<i>Geobacter</i>
Espécie	<i>G. metallireducens</i>

Fonte: (6).

Ciclo de vida e Mecanismos Genéticos

O sequenciamento do genoma revelou a presença de genes que expressam flagelos, permitindo ao microrganismo movimentar-se em meio aquoso. Estudos em laboratórios previram que estes genes são expressos na presença de metais (tanto solúveis quanto insolúveis) (3).



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

A *Geobacter metallireducens* expressa flagelos e fímbrias quando está em meio de Fe (III) insolúvel ou Mn (IV) oxidado. Aponta-se que esta bactéria traça uma trilha química quando estes receptores de elétrons estão em escassez, sintetizando assim os flagelos, que permitam a busca por metais (2). Ademais, chamam a atenção os mecanismos capazes de ativar para a metabolização de uma variedade de metais (3), já mencionados.

Como se trata de uma bactéria, a reprodução mais comum atribuída à *Geobacter metallireducens* é a divisão celular por fissão binária (Figura 2 à esquerda). O seu genoma haploide replica-se e é repartido entre as novas células filhas. Geralmente, num lugar específico da molécula de DNA (origem de replicação) é onde se inicia o processo de cópia do material genético. Todavia, este lugar não é totalmente conhecido. Os dois cromossomos “filhos” recém-replicados se afastam para lados opostos, ficando juntos à membrana plasmática. Entre os polos (no centro da célula) é formada uma nova membrana plasmática e parede celular (7).

Após a ativação de mecanismos genéticos, inicia-se o processo de estrangulamento celular, a partir do centro da célula, dando lugar a duas novas células, cada uma com uma cópia idêntica de cromossomos (7).

Por fim, não se descarta a forma de reprodução sexuada, no entanto, não se encontra na literatura a descrição desse método. Ainda assim, a reprodução de forma sexuada (Figura 2 à direita), é maioritariamente por conjugação e ocorre quando há contato físico entre duas células, geralmente via *pilus*. Uma delas (célula doadora) aporta um pequeno segmento linear de DNA (F-plasmídeo ou fator F) que será transferido para a outra (receptora, fator F ausente). Nesse momento, a enzima DNA polimerase sintetiza uma fita complementar para gerar a dupla fita de DNA. Em alguns casos a célula doadora transfere também DNA cromossomal. A partir de então, a célula

receptora combina o DNA da célula doadora com o seu próprio (1).

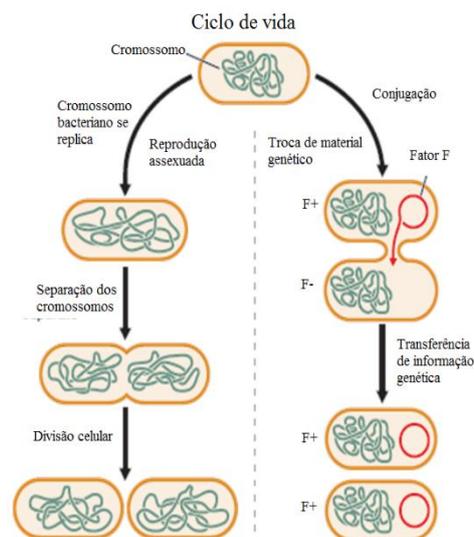


Figura 2 - Esquerda - As células procarióticas se reproduzem por meio da fissão binária, onde cada cromossomo replicado estará presente em cada uma das células-filhas. Direita - Reprodução sexual atribuída à *Geobacter metallireducens*. O fator F será transferido da célula doadora para a célula receptora. Fonte: (7).

Genoma

Tabela 2 - Genoma referencial da *Geobacter*

Genoma	Tamanho (Mb)	Nº de genes	GC (%)	Nº de proteínas
GS-5	4	3629	59,51	3516

metallireducens.

Fonte: (6).

Aplicações biotecnológicas

Um papel importante deste microrganismo é na restauração ambiental, a partir do seu uso para remover contaminantes de metal ou compostos orgânicos nocivos, de águas subterrâneas poluídas (2).

Um potencial biotecnológico desta espécie, descrito pelo *Geobacter Project* (8) inclui sua ação na destruição de contaminantes derivados do petróleo em águas subterrâneas contaminadas, na aceleração da degradação de poluentes, na remoção de metais radioativos.



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Ademais, a habilidade desta e de outras espécies de geobactérias de transferir elétrons para uma superfície de eletrodos, permitiu a elaboração de células combustíveis microbianas, cuja função é converter resíduos de matéria orgânica em eletricidade (8).

Referências

1. BANK, Eric. **Three Mechanisms of Genetic Recombination in Prokaryotes**. Sciencing.com. Publicado em 05/03/2018. Disponível em: <https://sciencing.com/three-mechanisms-genetic-recombination-prokaryotes-18252.html>. Acesso em: 5 jun. 2020
2. CHILDERS, S. *et al.* Geobacter metallireducens accesses insoluble Fe (III) oxide by chemotaxis. **Nature**, v. 416, p.767–769, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/416767a>. Acesso a 30 mar. 2020.
3. DALKE, K. **Metal-eating microbe Geobacter metallireducens swims**. Genome News Network. 2006. Disponível em: http://www.genomenewsnetwork.org/articles/04_02/geobacter.shtml. Acesso em: 23 out. 2019
4. LOVLEY, D. R. Novel Mode of Microbial Energy Metabolism: Organic Carbon Oxidation Coupled to Dissimilatory Reduction of Iron or Manganese. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 54, n. 6, p. 1472–1480. Jun. 1988. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC202682/>. Acesso em: 30 mar. 2020.
5. LOVLEY, D. R. *et al.* *Geobacter metallireducens* gen. nov. sp. nov., a microorganism capable of coupling the complete oxidation of organic compounds to the reduction of iron and other metals. **Arch. Microbiol**, v.159, p. 336–344, 1993. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00290916>. Acesso em: 30 mar. 2020.
6. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **geobacter metallireducens[orgn]**. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=geobacter+metallireducens>. Acesso em: 18 jun. 2020
7. PIERCE, Benjamin A. **Genética: um enfoque conceitual**. 5. ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2016. p. 58-60.
8. SCHOLARWORKS. **Environmental Biotechnology, Geobacter Project**. Disponível em: <https://scholarworks.umass.edu/geobacter/>. Acesso em: 23 out. 2019.



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

1.12 *Ideonella sakaiensis*

A *Ideonella sakaiensis* foi identificada pela primeira vez, em 2016, por uma equipe de pesquisadores liderada por Kohei Oda do Instituto de tecnologia de Kyoto e Kenji Miyamoto da Universidade de Keio que coletaram 250 amostras de detritos ambientais incluindo solo, restos e lodo ativo de uma instalação de reciclagem de garrafas PET no Japão. A bactéria foi isolada de um consórcio de microrganismos na amostra de sedimentos, incluindo: protozoários, células semelhantes a leveduras e bactérias. Toda a comunidade microbiana foi mostrada degradar a uma taxa de $0.13 \text{ mg cm}^{-2}\text{dia}^{-1}$, 75% do PET em dióxido de carbono, uma vez que tinha sido inicialmente degradada e assimilados por *I. sakaiensis* (10).

Antes de sua descoberta, os únicos degradadores conhecidos de PET eram um número pequeno de bactérias e de fungos, incluindo *Fusarium solani*, e nenhum organismo foi sabido, definitivamente, por degradar PET como uma fonte preliminar do carbono e de energia. A descoberta de *I. sakaiensis* estimulou a discussão sobre a biodegradação de PET como um método de reciclagem e biorremediação (10).

Características Biológicas

É uma bactéria Gram negativa, aeróbica, mesofílica, não forma esporos, com formato de bastonete. Células possuem mobilidade via flagelo polar. Cresce em faixa de pH de 5,5-9 (ótimo entre 7-7,5) e a temperatura de 15-42 °C (ótimo 30-37 °C). Esta possui as enzimas citocromo oxidase e catalase, vivendo, então, em ambientes contendo oxigênio. As colônias são circulares, lisas e não pigmentadas. São quimiorganotróficas utilizando no caso, desta, poli (etileno tereftalato) PET como sua maior fonte carbônica (9).



Figura 1 - *Ideonella sakaiensis* crescendo em filme de PET por 60 horas. Fonte: (10).

Taxonomia

Tabela 1. Classificação taxonômica da *Ideonella sakaiensis*.

Domínio	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Betaproteobacteria</i>
Ordem	<i>Burkholderiales</i>
Gênero	<i>Ideonella</i>
Espécie	<i>I. sakaiensis</i>

Fonte: (5)

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

Um quadro de leitura aberto identificado (ORF), ISF6_4831, codifica uma lipase putativa que compartilha 51% de identidade de sequência de aminoácidos e resíduos catalíticos com uma hidrolase de *Termobifida fusca* (TfH) que exibe atividade PET-Hidrolítica (8).

I. sakaiensis aderem à superfície de PET e usam sua PETase, para degradar o PET em mono (2-hidroxietil) ácido tereftálico (MHET), um heterodímero composto de ácido tereftálico (TPA) e o etilenoglicol. A *I. sakaiensis* PETase é capaz de hidrolisar as



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

ligações éster presentes no PET com alta especificidade. O MHET resultante é então, degradado nos seus dois componentes monoméricos por uma enzima MHETase ancorada lipídicamente na membrana exterior da célula. O etileno glicol é facilmente absorvido e utilizado por *I. sakaiensis* e muitas outras bactérias. O ácido tereftálico, um composto mais recalcitrante, é importado para o *I. sakaiensis* celular, via proteína transportadora de ácido tereftálico (3). Uma vez na célula, a molécula de ácido tereftálico aromático é oxidado pelo ácido tereftálico-1,2-dioxigenase e desidrogenase de 1,2-di-hidroxi-3,5-ciclo-hexadieno-1,4-dicarboxilato dehidrogenase em um intermediário catecol. O anel de catecol é então clivado por PCA 3,4-dioxigenase antes de o composto ser integrado em outras vias metabólicas (Por exemplo, ciclo de TCA). Como resultado, ambas as moléculas derivadas do PET são utilizadas pela célula para produzir energia e para construir biomoléculas necessárias. Eventualmente, o carbono pode ser assimilado mineralizando-o ao dióxido de carbono e liberado para a atmosfera (3).

O Ciclo de vida desta bactéria enquadra-se no ciclo comum das bactérias. Por sua vez, o ciclo está dividido em quatro fases: fase de retardamento, exponencial, estacionária e declínio. Num primeiro momento (fase de retardamento), a bactéria não cresce e apenas se adapta ao meio e metaboliza nutrientes que a prepararão para o próximo estágio, iniciando também as cópias do seu DNA. A seguir (fase exponencial), o microrganismo se multiplica exponencialmente. O “tempo de geração” vai variar conforme cada organismo e as condições presentes. É neste momento que se dá a fissão binária (abaixo descrito). Por sua vez, na terceira etapa (fase estacionária), o crescimento microbial diminui alcançando a estabilidade. Num último momento (fase de declínio), o

crescimento cessa totalmente ocasionando a morte celular (4).

Como se trata de uma bactéria, o método de reprodução mais comum é a divisão celular por fissão binária (Figura 2 à esquerda). Quando a célula se reproduz, o seu cromossomo circular se replica e a célula se divide. Este processo de reprodução é o mais simples conhecido (6).

Geralmente, num lugar específico da molécula de DNA (origem de replicação) é onde se inicia a replicação. Todavia, este lugar não é totalmente conhecido. Os dois cromossomos “filhos” recém-replicados se afastam, deslocando-se em sentidos opostos da célula, ficando juntos à membrana plasmática. Entre os polos (no centro da célula) é formada uma nova membrana plasmática e parede celular. Após a ativação de mecanismos genéticos, inicia-se o processo de estrangulamento celular, a partir do centro da célula, dando lugar a duas novas células, cada uma com uma cópia idêntica de cromossomos (6).

Outrossim, as bactérias podem se reproduzir de forma sexuada, maioritariamente por conjugação. Embora a literatura não evidencie que este facto ocorra com a *I. sakaiensis*, não se descarta esta possibilidade. A conjugação ocorre quando há contato físico entre duas células, geralmente via *pilus*. Uma delas (célula doadora) aporta um pequeno segmento linear de DNA (F-plasmídeo ou fator F) que será transferido para a outra (receptora, fator F ausente). Nesse momento, a enzima DNA polimerase sintetiza uma fita complementar para gerar a dupla fita de DNA. Em alguns casos a célula doadora transfere também DNA cromossomal. A partir de então, a célula receptora combina o DNA da célula doadora com o seu próprio (2).



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

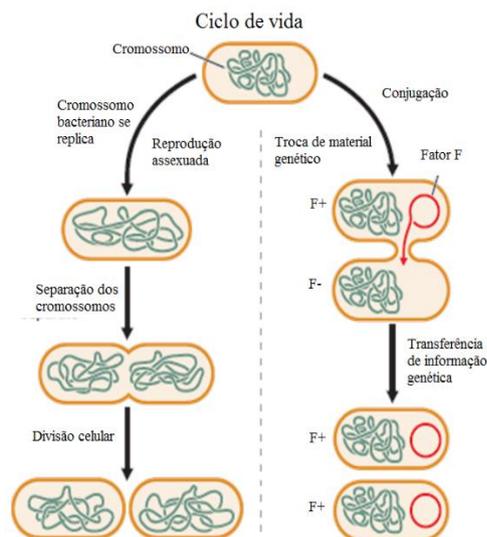


Figura 2 - Esquerda - As células procarióticas se reproduzem por meio da fissão binária, onde cada cromossomo replicado estará presente em cada uma das células-filhas. Direita - Reprodução sexual. O fator F será transferido da célula doadora para a célula receptora. Fonte: (6)

Genoma

Tabela 2 - Genoma referencial da *Ideonella sakaiensis*.

Genoma	Tamanho (Mb)	Nº Genes	GC%	Nº Proteínas
Não mencionado	6,14	5,636	72,9	5,451

Fonte: (5).

Aplicações Biotecnológicas

A descoberta de *Ideonella sakaiensis* tem importância potencial para a degradação de plásticos PETS. Antes da sua descoberta, os únicos degradadores conhecidos de PET, era um pequeno número de bactérias e fungos, incluindo *Fusarium solani*. E nenhum desses organismos degrada PET como uma fonte de carbono e de energia primária. A descoberta de *I. sakaiensis* estimula estudos na área de biodegradação de PET como um método de reciclagem e de biorremediação (9).

A bactéria selvagem é capaz de colonizar e quebrar um filme (0,2 mm de

espessura) de baixa cristalinidade (macio) de PET em, aproximadamente, seis semanas, enquanto a enzima PETase responsável degrada PET de alta cristalinidade (duro) 30 vezes mais lento. Uma grande quantidade de PET fabricada é altamente cristalina (por exemplo, garrafas de plástico), assim pensa-se que todas as aplicações potenciais da enzima *I. sakaiensis* PETase em programas de reciclagem terão que ser precedidas por otimização genética da enzima (9).

Tais otimizações vêm sendo estudadas com sucesso através de mutagênese estrutural guiada e sítio-guiada da enzima PETase, em prol de aumentar sua eficiência catalítica, buscando aumentar o sítio de ligação ao substrato (9).

Em 2018, fora testado o efeito de fusão de peptídeos de sinalização de proteínas de excreção de *E. coli* Sec-dependentes e SRP-dependentes com a IsPETase em construção de vetores de clonagem. O resultado foram vetores que efetivamente expressam e excretam a enzima pro meio extracelular e que mantém sua capacidade PETlítica (7).

Referências

1. AL-SABAGH, A. M. *et al.* Greener routes for recycling of polyethylene terephthalate. **Egyptian Journal of Petroleum**, v. 25, n. 1. p. 53-64, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1110062115000148>. Acesso em: 5 jun. 2020. Doi: 10.1016/j.ejpe.2015.03.001
2. BANK, Eric. **Three Mechanisms of Genetic Recombination in Prokaryotes**. Sciencing.com. Publicado a 05/03/2018. Disponível em: <https://sciencing.com/three-mechanisms-genetic-recombination-prokaryotes-18252.html>> Acesso em: 5 jun 2020.
3. LIU, B. *et al.* Protein crystallography and site-direct mutagenesis analysis of the poly (ethylene terephthalate) hydrolase petase from *Ideonella sakaiensis*. **ChemBioChem**, v.19, n. 14. p. 1471-1475, 2018.



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

4. MICHAELS, Joel. **Bacteria Lif Cycle**. Sciening.com Publicado a 25/10/2017. Disponível em: <https://sciening.com/bacteria-life-cycle-12211284.html>. 5 June 2020. Acesso em: 5 jun. 2020.
5. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **Ideonella sakaiensis**. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Ideonella+sakaiensis>. Acesso em: 21 jun. 2020.
6. PIERCE, Benjamin A. **Genética: um enfoque conceitual**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. p. 58-60.
7. SEO, H. *et al.* Production of extracellular PETase from *Ideonella sakaiensis* using sec-dependent signal peptides in *E. coli*. **Bioch. And Bioph. Resear.** Comm. v. 508. n. 1. p. 250-255, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006291X18325117>. Acesso em: 21 jun. 2020. Doi:10.1016/j.bbrc.2018.11.087.
8. SON, H. F. *et al.* Rational protein Engineering of thermo-stable PETase from *Ideonella sakaiensis* for Highly Efficient PET degradation. **ACS Catal**, v. 9, n. 4, p. 3519–3526, 2019. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acscatal.9b00568>. Acesso em: 21 jun. 2020.
9. TANASUPAWAT, S. *et al.* *Ideonella sakaiensis* sp. nov., isolated from a microbial consortium that degrades poly (ethylene terephthalate). **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. v. 66. n. 8, p. 2813-2818, 2016.
10. YANG, Y. *et al.* Comment on “a bacterium that degrades and assimilates poly (ethylene terephthalate). **Science**. v. 353, n. 6301, p. 759, 2016.



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

1.13 *Magnetospirillum magnetotacticum*

A *Magnetospirillum magnetotacticum* é uma bactéria magnetotática conhecida por se orientar ao longo das linhas de um campo magnético (6). *M. magnetotacticum* foi isolada das zonas microaeróbicas de sedimentos de água doce, em 1979, por (Blakemore et al. 1979), que a chamou inicialmente de *Aquaspirillum magnetotacticum*, posteriormente, alterando para o gênero atual (3).

Características biológicas

A *M. magnetotacticum* (Figura 1), é uma bactéria Gram-negativa, magnetotática, microaerofílica com o crescimento ideal a 30°C, formato de espirilo helicoidal, mobilidade por meio de flagelos bipolares, nutrição quimioheterotróficas e habitat natural em águas doces com baixa [O₂] (1).

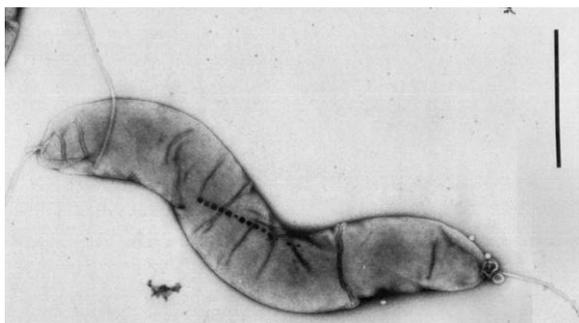


Figura 1 - Micrografia eletrônica da linhagem *Aquaspirillum magnetotacticum* MS-1 renomeada para o gênero *Magnetospirillum*. Fonte: (1).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Magnetospirillum magnetotacticum*.

Domínio	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Alphaproteobacteria</i>
Ordem	<i>Rhodospirillales</i>
Família	<i>Rhodospirillaceae</i>
Genêro	<i>Magnetospirillum</i>
Espécie	<i>M. magnetotacticum</i>

Fonte: (2).

Ciclo de vida e Mecanismos Genéticos

A magnetotaxia de *M. magnetotacticum* decorre de sua capacidade de formar invaginações na membrana citoplasmática, chamados magnetossomas, onde ocorre a síntese de óxido de ferro biomineralizado magnetite (Fe₃O₄) que são nanocristais ferromagnéticos. Esses nanocristais de magnetite são dispostos dentro dos magnetossomas em forma de cadeia paralela ao eixo longitudinal do movimento da célula, formando uma agulha de bússola e conferindo à bactéria, o comportamento magnetotático por meio de natação dirigida ao longo das linhas do campo geomagnético (1,3,5). *Magnetospirillum magnetotacticum* utiliza um sistema mediado por sideróforos para aquisição de ferro (3). A reprodução de alphaproteobacteria pedunculadas ocorre inicialmente com a perda dos flagelos e com posterior brotamento de um pedúnculo que se alonga e a célula se divide até se separar como uma nova célula completa, seguido do crescimento dos flagelos bipolares (7).



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

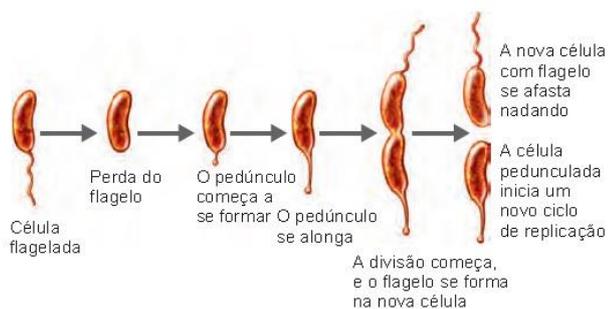


Figura 2 - Ciclo de vida de bactérias pedunculadas da classe *Alphaproteobacteria*. Fonte: (7).

Genoma

Tabela 2 - Projeto genômico de *Magnetospirillum magnetotacticum* MS-1 depositado no Genbank sob número de acesso NZ-JXSL00000000.1

Genoma	Tamanho (Mb)	% CG	Nº de proteínas	Nº de genes	Ano
Linear	4.52	63,6	4.124	4.238	2015

Fonte: (2).

Aplicações Biotecnológicas

A *M. magnetotacticum* apresenta aplicabilidade em diversos campos da ciência. Na medicina, por exemplo, pode ser utilizada para a produção de nanopartículas magnéticas quimicamente sintetizadas utilizadas em técnicas de diagnósticos como em ressonância magnética, em transporte de fármacos para tumores e no tratamento de cânceros através de hipertermia magnética. Os magnetossomas podem também serem utilizados como transportadores de genes no sequenciamento de ácidos nucleicos, na extração de DNA, na separação de células e de diferentes compostos. Outra aplicação dos magnetossomas é no campo da nanorrobótica (4).

Referências

1. MARATEA, D.; BLAKEMORE, R. P. *Aquaspirillum magnetotacticum* sp. nov., a Magnetic Spirillum. **International Journal of Systematic Bacteriology**, [s.l.], v. 31, n. 4, p.

452-455, 1 out. 1981. Microbiology Society. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1099/00207713-31-4-452>. Acesso em: 10 abr. 2020.

2. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI). **Genome**. *Magnetospirillum magnetotacticum*. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=magnetospirillum+magnetotacticum>. Acesso em: 10 abr. 2020.

3. NOGUCHI, Yasushi; FUJIWARA, Taketomo; YOSHIMATSU, Katsuhiko; FUKUMORI, Yoshihiro. Iron Reductase for Magnetite Synthesis in the Magnetotactic Bacterium *Magnetospirillum magnetotacticum*. **Journal Of Bacteriology**, [s.l.], v. 181, n. 7, p. 2142-2147, 1 abr. 1999. American Society for Microbiology. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/jb.181.7.2142-2147.1999>. Acesso em: 25 abr. 2020.

4. PINTO, Mariana Monteiro Pereira Vieira. **Bactérias Magnetotáticas e suas Aplicações**. 2015. 37 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2015.

5. RIOUX, Jean-baptiste; PHILIPPE, Nadège; PEREIRA, Sandrine; PIGNOL, David; WU, Long-fei; GINET, Nicolas. A Second Actin-Like MamK Protein in *Magnetospirillum magneticum* AMB-1 Encoded Outside the Genomic Magnetosome Island. **Plos One**, [s.l.], v. 5, n. 2, p. e9151, 10 fev. 2010. Public Library of Science (PLoS). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0009151>. Acesso em: 25 abr. 2020.

6. SMALLEY, Matthew D.; MARINOV, Georgi K.; BERTANI, L. Elizabeth; DESALVO, Gilberto. Genome Sequence of *Magnetospirillum magnetotacticum* Strain MS-1. **Genome Announcements**, [s.l.], v. 3, n. 2, p. 00233-00233, 2 abr. 2015. American Society for Microbiology. Disponível em: <https://mra.asm.org/content/3/2/e00233-15>. Acesso em: 25 abr. 2020. Doi: [10.1128/genomea.e00233-15](https://doi.org/10.1128/genomea.e00233-15).

7. TORTORA, G.J., FUNKE, B.R., CASE, C.L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

1.14 *Photorhabdus luminescens*

A *Photorhabdus luminescens* (anteriormente chamado *Xenorhabdus luminescens*) é uma bactéria bioluminescente e também um patógeno letal de insetos. O papel da bioluminescência no *P. luminescens* não é bem esclarecido, pois pode ser usado para avisar outros insetos e mamíferos ou servir para atrair insetos. A função mais importante desse micróbio é a relação simbiótica com os nematóides entomopatogênicos do solo (família: *Heterorhabditidae*) que também são patogênicos para uma ampla gama de insetos (6).

Características Biológicas

É uma bactéria nematóide-simbiótica, gram-negativa, bioluminescente, em forma de bastonete, sem formação de esporos, pertencente à família das *Enterobacteriaceae*. *Photorhabdus luminescens* pode ser classificado como um organo-heterotrófico anaeróbico. Os processos químicos responsáveis pelo metabolismo ocorrem na ausência de oxigênio e o carbono orgânico é usado como fonte de alimento. Estudos recentes mostram a importância dessa bactéria como fonte alternativa de inseticidas, bem como um possível patógeno humano emergente (6).

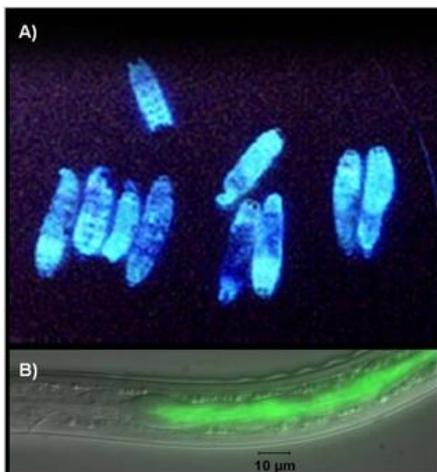


Figura 1 - A) Bioluminescência de *Photorhabdus luminescens*, 72h depois de infectar *Galleria mellonella*. B) *Photorhabdus luminescens* com 54

GFP, no intestino do nematoide *Heterorhabditis*.
Fonte: (6).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica de *Photorhabdus luminescens*.

Domínio	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordem	<i>Enterobacteriales</i>
Família	<i>Morganellaceae</i>
Gênero	<i>Photorhabdus</i>
Espécie	<i>P. luminescens</i>

Fonte: (7).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

O ciclo de vida de *Photorhabdus luminescens* depende da sua relação simbiótica com os nematóides de *Heterorhabditis*. Uma vez que o nematoide encontra um inseto hospedeiro adequado, o *P. Luminescens* é liberado na corrente sanguínea do inseto e o destrói produzindo e secretando toxinas. Também secreta enzimas responsáveis por decompor o corpo do inseto e convertê-lo em nutrientes. Esses nutrientes são, posteriormente, utilizados pelo nematoide e pelas bactérias. Dessa maneira, ambos os organismos obtêm nutrientes suficientes para posterior reprodução e replicação. *P. luminescens* é o único organismo encontrado até o momento que exibe fenótipo duplo (simbiótico dentro de um organismo e patogênico em outro). Além disso, também produz antibióticos e toxinas para impedir a invasão do inseto por competidores bacterianos ou fúngicos e se torna visível mesmo em ambientes não noturnos devido à bioluminescência. Uma vez concluída a fase de infecção, as bactérias retornam ao intestino dos



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

nematóides, e esses, com suas contrapartes bacterianas, deixam o antigo hospedeiro em busca de um novo para repetir o ciclo. Também foram relatados vários casos de infecção humana por *Photorhabdus luminescens*. O ciclo de vida de *P. luminescens* e várias de suas características fenotípicas assemelham-se aos de *Y. pestis*. Ambos transitam e colonizam insetos além de serem patogênicas. No entanto, *P. luminescens* tem sido usada para fins biológicos no controle de insetos sem causar danos aos seres humanos (1,2)

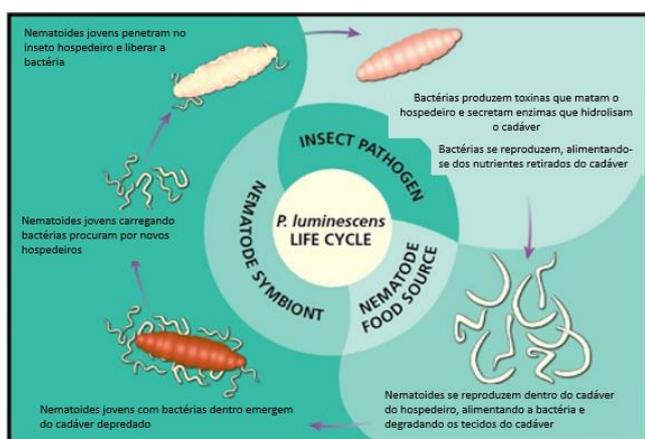


Figura 1 - Ciclo de vida da *P. luminescens*.
Fonte: (2).

Genoma

Os genes codificados consistem em grandes matrizes de adesinas, toxinas, hemolisinas, proteases e lipases. As proteínas desempenham um papel vital na morte dos competidores, colonização do hospedeiro, invasão e bioconversão do cadáver de insetos, tornando essa bactéria um modelo muito bom para o estudo da simbiose e patogênese. Os genes responsáveis pelas relações simbióticas também são codificados nas sequências genômicas (1). As funções patogênicas são codificadas em várias ilhas genômicas de patogenicidade (PAIs) contidas no cromossomo bacteriano. Isso inclui um grande número de genes que codificam toxinas e enzimas secretadas, bem como genes que codificam produtos para a produção de antibióticos e

bacteriocinas. A secreção desses produtos ocorre por uma variedade de sistemas, incluindo os sistemas de secreção tipo I, tipo II e tipo III (5). Os mecanismos de secreção de toxinas não são totalmente elucidados. Usando análise bioinformática e comparação com os componentes de sistemas de secreção conhecidos, várias cópias de componentes de todos os sistemas de secreção, exceto os que compõem o sistema do tipo IV, foram identificadas em todo o genoma da bactéria. Isso indica que *Photorhabdus luminescens* possui todos os meios necessários para a secreção de fatores de virulência, sendo capaz de estabelecer uma infecção microbiana (6). Os genes que promovem relações simbióticas também são codificados em ilhas genômicas no cromossomo (GI), incluindo alguns que afetam o desenvolvimento dos nematoides. Os genes de virulência parecem estar ativos durante a fase de crescimento exponencial. Os genes simbióticos parecem funcionar durante o crescimento da fase estacionária (pós-exponencial). O interruptor de um estado para outro é controlado. O *Photorhabdus luminescens* é capaz de emitir luz, um processo complexo que requer os produtos do operon lux. O sistema lux tem sido amplamente utilizado como marcador molecular em muitas experiências. A função biológica exata da bioluminescência não é conhecida, embora possa ter um papel na proteção contra espécies reativas de oxigênio (ERO) (5).

Tabela 1 - Genoma de *Photorhabdus luminescens*. Genoma completo pode ser acessado através do NCBI Genome database através do ID 1123.

Genoma	Tamanho (Mb)	CG%	Nº de proteínas	Nº de genes	Ano
Circular	5,40	42,55	4,248	4,754	2003

Fonte: (5).

Aplicações Biotecnológicas

O genoma de *P. luminescens* já está sequenciado (1). O próximo desafio é identificar genes envolvidos na simbiose que no futuro



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

poderão ser usados visando aumentar a produção dos vermes para o controle de insetos nas plantas. Em uma das experiências com protótipos, o *Photorhabdus luminescens* reduziu os besouros de batata do Colorado e a mosca-branca da batata-doce em 100%, em condições de laboratório. O besouro da batata é notório por desenvolver resistência a inseticidas, portanto, os cientistas buscam controles não químicos como possíveis inseticidas naturais (3).

Referências

1. DUCHAUD, Eric *et al.* The genome sequence of the entomopathogenic bacterium *Photorhabdus luminescens*. **Nature Biotechnology**, [s.l.], v. 21, n. 11, p.1307-1313, 5 out. 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nbt886>. Acesso em: 30 out. 2020.
2. WILLIAMSON, Valerie M; KAYA, Harry K. Sequence of a symbiont. **Nature Biotechnology**, [s.l.], v. 21, n. 11, p.1294-1295, nov. 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nbt1103-1294>. Acesso em: 30 out. 2020.
3. BLACKBURN, Michael B. *et al.* The broadly insecticidal *Photorhabdus luminescens* toxin complex a (Tca): Activity against the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, and sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci*. **Journal Of Insect Science**, [s.l.], v. 5, n. 1, 2005. Oxford University Press (OUP). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/jis/5.1.32>. Acesso em: 30 out. 2020.
4. O'NEILL, K. H. *et al.* The ner Gene of *Photorhabdus*: Effects on Primary-Form-Specific Phenotypes and Outer Membrane Protein Composition. **Journal Of Bacteriology**, [s.l.], v. 184, n. 11, p.3096-3105, 1 jun. 2002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/jb.184.11.3096-3105.2002>. Acesso em: 30 out. 2020.
5. GENOME, Ncbi (Ed.). **Organism Overview: *Photorhabdus luminescens***. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=photorhabdus+luminescens>. Acesso em: 30 out. 2019.
6. RODOU, Athina; ANKRAH, Dennis O.; STATHOPOULOS, Christos. Toxins and Secretion Systems of *Photorhabdus luminescens*. **Toxins**, [s.l.], v. 2, n. 6, p.1250-1264, 1 jun. 2010. MDPI AG. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/toxins2061250>. Acesso em: 30 out. 2020.
7. WIKIPEDIA. ***Photorhabdus luminescens***. Disponível em: https://en.wikipedia.org/wiki/Photorhabdus_luminescens. Acesso em: 23 set. 2020.



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

1.15 *Streptococcus pyogenes*

Algumas pessoas portam *S. pyogenes* na garganta sem problemas, apesar deste microrganismo poder causar diversas infecções. Tais infecções estão relacionadas a toxinas bacterianas, febre escarlate, e febre puerperal (2,5). Além disso, a *S. pyogenes* podem também causar doenças não *pyogenicas*, gerando complicações mediadas no sistema autoimune pós-infecção como febre reumática e glomerulonefrite aguda. (2,5).

Apesar de ser nefasta para a saúde humana, é inegável a aplicação que este microrganismo teve na pesquisa científica. Através desta bactéria, o mecanismo do sistema CRISPR/Cas foi desvendado, o que atualmente é uma técnica cada vez mais recorrente nas pesquisas em biologia molecular (8).

Características Biológicas

A *Streptococcus pyogenes* (Figura 1) é uma bactéria em forma de coco, aerotolerante, com cerca de 0,5 - 1 micrômetros, gram-positiva e catalase negativo (1,4).

Esta bactéria é extracelular, sem mobilidade e sem esporulação, enquadrada no agrupamento *Lancefield I* de antígeno A (denominada GAS). *Streptococcus* do grupo A cultivados em ágar com sangue produzem zonas de beta hemólise que é a completa destruição de hemácias. Não é frequentemente encontrada na biota da pele e é patogênica (1,4).



Figura 1 - *Streptococcus pyogenes* em zoom 900x. Fonte: (10).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Streptococcus pyogenes*.

Domínio	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordem	<i>Lactobacillales</i>
Família	<i>Streptococcaceae</i>
Gênero	<i>Streptococcus</i>
Espécie	<i>S. pyogenes</i>

Fonte: (7).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

A *S. pyogenes* é dotada de fatores de virulência que a possibilitam unir-se aos tecidos hospedeiros, evitar a resposta imunológica e se difundir penetrando nas camadas dos tecidos. Na sua membrana detém proteínas M, ácido lipoteicoico e proteína F que ajudam a anexar-se a várias células hospedeiras. A proteína M inibe a opsonização pelo sistema complemento por se ligar os reguladores do complemento. Entretanto esta mesma proteína também é seu ponto fraco, pois é o antígeno reconhecido pelo sistema imunológico (4).

Como se trata de uma bactéria, o método de reprodução mais comum atribuído é a divisão celular por fissão binária (Figura 2 à esquerda).



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Quando a célula se reproduz, o seu cromossomo circular se replica e a célula se divide. Este processo de reprodução é o mais simples conhecido (9).

Geralmente, num lugar específico da molécula de DNA (origem de replicação) é onde se inicia a replicação. Todavia, este lugar não é totalmente conhecido. Os dois cromossomos “filhos” recém-replicados se afastam, deslocando-se em sentidos opostos da célula, ficando juntos à membrana plasmática. Entre os polos (no centro da célula) é formada uma nova membrana plasmática e parede celular. Após a ativação de mecanismos genéticos, inicia-se o processo de estrangulamento celular, a partir do centro da célula, dando lugar a duas novas células, cada uma com uma cópia idêntica de cromossomos (9).

Outrossim, as bactérias podem se reproduzir de forma sexuada, maioritariamente por conjugação (Figura 2 à direita). No entanto, a reprodução sexual desta bactéria não está descrita na literatura. Ainda assim, a conjugação ocorre, em determinadas condições, quando há contato físico entre duas células, geralmente via *pilus*. Uma delas (célula doadora) aporta um pequeno segmento linear de DNA (F-plasmídeo ou fator F) que será transferido para a outra (receptora, fator F ausente). Nesse momento, a enzima DNA polimerase sintetiza uma fita complementar para gerar a dupla fita de DNA. Em alguns casos a célula doadora transfere também DNA cromossomal. A partir de então, a célula receptora combina o DNA da célula doadora com o seu próprio (2).

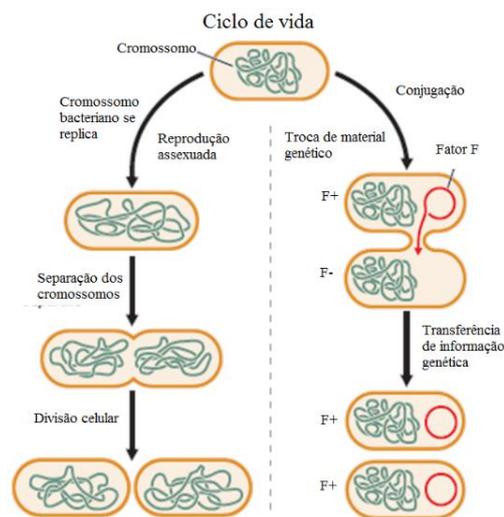


Figura 2 - Esquerda - As células procarióticas se reproduzem por meio da fissão binária, onde cada cromossomo replicado estará presente em cada uma das células-filhas. Direita – Reprodução sexual atribuída à *Streptococcus pyogenes*. O fator F será transferido da célula doadora para a célula receptora. Fonte: (9).

Genoma

Tabela 2 - Genoma referencial da *Streptococcus pyogenes*.

Genoma	Tamanho (Mb)	Nº de Genes	GC%	Nº de Proteínas
NCTC8198	1,91	1,969	38,5	1,825

Fonte: (7).

Aplicações Biotecnológicas

Valendo-se de uma adesina chamada FbaB, produzida por esta bactéria, Zakeri *et al.* (2012), do departamento de Bioquímica da universidade de Oxford, construíram uma super cola biológica de proteínas muito resistente (1nN) e, portanto, de estabilidade mecânica e termodinâmica, separando-a em dois fragmentos, um maior e outro menor, respectivamente: Spycatcher e SpyTag. Ao unir os pedaços, formam rapidamente ligações covalentes com alta eficiência e estabilidade, tal que detergente fervendo não separa. Possíveis usos seriam para unir enzimas em uma biorreação e aumentar a velocidade da reação e assim, os lucros. Ou unir o aparato



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

fotossintético de plantas e recriar artificialmente o processo natural em maior escala (11).

Ademais, fora desvendado o sistema CRISPR/Cas, através da observação dos mecanismos dessa bactéria, que é basicamente uma função imune bacteriana para proteger a célula de plasmídeos e fagos, utilizando crRNAs em conjunto com a proteína cas9 pra destruir DNAs invasores. Esta pesquisa foi realizada a partir de 2012, através do trabalho de Jennifer Doudna, University da Carlifornia em Berkeley, e por Emmanuelle Charpentier, diretora do Instituto Max Planck de Biologia de Infecção em Berlim. Foi usado para editar DNA e, mais recentemente, pesquisadores exploraram a sua capacidade para editar RNA (8).

Referências

1. AMELUNG, S. *et al.* The FbaB-type fibronectin-binding protein of *Streptococcus pyogenes* promotes specific invasion into endothelial cells. **Cell Microbiol**, [s. l.], v. 13, n. May, p. 1200–1211, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4754676/>. Acesso em: 25 set. 2020.
2. BANK, Eric. **Three Mechanisms of Genetic Recombination in Prokaryotes**. Sciencing.com. Publicado a 05/03/2018. Disponível em: <https://sciencing.com/three-mechanisms-genetic-recombination-prokaryotes-18252.html>. Acesso em: 5 jun. 2020.
3. DELTCHEVA, E. *et al.* **Europe PMC Funders Group Europe PMC Funders Author Manuscripts CRISPR RNA maturation by trans - encoded small RNA and host factor RNase III**. [s. l.], v. 471, n. 7340, p. 602–607, 2011.
4. FERRETTI, J. J. *et al.* **Streptococcus pyogenes: Basic Biology to Clinical Manifestations**. Oklahoma City: University of Oklahoma - Health Sciences Center, 2016.
5. LAMAGNI, T. L. *et al.* **Epidemiology of Severe Streptococcus pyogenes Disease in Europe**. J. CLIN. MICROBIOL, [s. l.], v. 46, n. 7, p. 2359–2367, 2008. Disponível em: <https://jcm.asm.org/content/46/7/2359>. Acesso em: 5 jun. 2020.
6. MICROBEONLINE. **Lancefield grouping of clinically relevant beta-hemolytic streptococci**. Disponível em: <https://microbeonline.com/lancefield-grouping-clinically-relevant-beta-hemolytic-streptococci/>. Acesso em: 24 set. 2019
7. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **Streptococcus pyogenes**. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/175>. Acesso em: 23 jun. 2020
8. NYTIMES.COM. **Scientists Find Form of Crispr Gene Editing with New Capabilities**. Disponível em: <https://www.nytimes.com/2016/06/04/science/rna-c2c2-gene-editing-dna-crispr.html>. Acesso em: 25 set. 2019.
9. PIERCE, Benjamin A. **Genética: um enfoque conceitual**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. p. 58-60.
10. WIKIPEDIA. **Streptococcus pyogenes**. Disponível em: https://en.wikipedia.org/wiki/File:Streptococcus_pyogenes.jpg. Acesso em: 24 set. 2019.
11. ZAKERI, B. *et al.* [Peptide tag forming a rapid covalent bond to a protein , through engineering a bacterial adhesin..] **PNAS**, [s. l.], v. 109, n. 12, 2012. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/109/12/E690>. Acesso em: 24 set. 2020.



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

1.16 *Streptomyces griseus*

A *Streptomyces griseus* é uma bactéria conhecida por ser produtora de antibióticos e outros metabólitos secundários (6). *S. griseus* foi descrita pela primeira vez, em 1914, por Krainsky durante o início da Segunda Guerra Mundial (11). Em 1915, o Dr. Waksman e um de seus assistentes isolaram-na do solo uma cepa de actinomicete que, inicialmente, chamaram *Actinomyces griseus* e, posteriormente, em 1943, foi renomeada como *Streptomyces griseus* (9). O interesse nesta espécie decorre de sua capacidade de produzir estreptomicina, um composto que demonstrou atividade bactericida significativa contra *Mycobacterium tuberculosis*, o agente causador da tuberculose (7). A estreptomicina foi descoberta, em 1943, em Nova Jersey no laboratório de Selman Waksman que recebeu o Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina, em 1952, por seus estudos sistemáticos na produção de antibióticos por *S. griseus* (9). No começo dos anos 50, *S. griseus* era considerado um microrganismo intermediário entre fungos e bactérias, devido as suas características morfológicas. No entanto, após serem realizados teste bioquímicos comprovando a ausência de membrana nuclear nesse organismo, o mesmo ficou pertencente aos proariontes (10).

Características biológicas

A *Streptomyces griseus* (Figura 1) é uma bactéria Gram-positiva com parede celular de peptidoglicana, filamentosa, aeróbica, mesofílica (25 a 35 °C), quimioheterotrófica, apresenta mobilidade e crescimento relativamente lento (5,7). É predominantemente encontrada no solo, embora também esteja presente em ambientes aquáticos e vegetação em decomposição, podendo ser encontrada ainda em simbioses, em raízes de plantas ou em relações simbióticas com organismos invertebrados como: formigas atíneas e besouros (7,10).

Apresenta odor de "terra molhada" resultante da produção de um metabólito volátil, a geosmina (7). Produzem massas de esporos cinza e o verso das colônias é amarelo-cinza. Os esporos têm superfícies lisas e estão em forma de correntes retas (4). O período para crescimento das hifas aéreas é de 7 a 10 dias (7).



Figura 1 - Morfologia de colônias de *Streptomyces griseus* tipo selvagem S4-7. Fonte: (1).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Streptomyces griseus*.

Domínio	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Actinobacteria</i>
Ordem	<i>Actinomycetales</i>
Família	<i>Streptomycetaceae</i>
Gênero	<i>Streptomyces</i>
Espécie	<i>S. griseus</i>

Fonte: (5).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

A *Streptomyces griseus*, assim como outras espécies do mesmo gênero, inicia seu ciclo de vida a partir da germinação de esporos em níveis adequados de nutrientes e o crescimento apical do tubo germinativo, dando origem ao micélio vegetativo que é composto por hifas ramificadas septadas. Posteriormente, estas estruturas se



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

dividem para formar esporos durante um processo de diferenciação celular, constituindo o micélio aéreo, que em condições ambientais adversas, geralmente entra na fase estacionária do ciclo de vida onde se ativam as vias metabólicas associadas à produção de metabólitos secundários (10). Espécies do gênero *Streptomyces* são catalase positiva, reduzem nitratos a nitritos e degradam adenina, esculina, caseína, gelatina, hipoxantina, amido, e L – tirosina (7). Excretam uma alta concentração de enzimas digestivas e possuem atividades proteolíticas, decomposição de queratina, quitinas, lignocelulose, amido e também participam no ciclo de aminoácidos e nitrogênio (5,7). Além disso, são geralmente capazes de crescer em meio composto de sais inorgânicos e glicose (7).



Figura 2 - Ciclo de vida e características macroscópicas e microscópicas de levedura do gênero *Streptomyces*. Fonte: (10).

Genoma

Diferentemente da maioria dos outros genomas bacterianos, o cromossomo de *Streptomyces griseus*, assim como outras espécies do gênero *Streptomyces*, é linear e apresenta nas suas extremidades telômeros com proteínas ligadas covalentemente, onde as sequências terminais de cromossomos lineares e alguns plasmídeos lineares de *Streptomyces* mostram extensa homologia, permitindo assumir forma circular sob condições naturais ou em

laboratório (6,7). Essas regiões terminais possuem sequências repetitivas que codificam, principalmente, funções relacionadas a regulação, secreção, diferenciação, transporte e biossíntese de antibióticos (7). O genoma de *S. griseus* apresenta tamanho bastante grande comparado a outros genomas bacterianos. Outra característica é o alto conteúdo de citosina e guanina (C-G), sendo em torno de 70% (10).

Tabela 2 - Projeto genômico de *Streptomyces griseus* IFO 13350 depositado no Genbank sob número de acesso [AP009493.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclot/AP009493.1).

Genoma	Tamanho (Mb)	% CG	Nº de proteínas	Nº de genes	Ano
Linear	8.55	72,2	6.935	7.167	2008

Fonte: (5).

Aplicações Biotecnológicas

O gênero *Streptomyces* é reconhecido por sua capacidade de produzir uma ampla variedade de metabólitos secundários (antibióticos, parasiticidas, herbicidas e substâncias farmacologicamente ativas, incluindo agentes antitumorais e imunossupressores) aplicados na medicina, agricultura e veterinária (6,8). A linhagem de *S. griseus* IFO 13350 produz 34 tipos diferentes de metabólitos secundários como estreptomicina, grixazona, isorenierateno, HPQ melanina, alquilresorcinol, nocardamina, 2-metilisoborneol, entre outros (6). Devido à morfogênese complexa e importância industrial e médica, *S. griseus* tornou-se um modelo de procarionte para o estudo da diferenciação multicelular e do metabolismo secundário, pois são responsáveis pela produção de mais de 2/3 dos antibióticos clinicamente úteis de origem natural (2,6). *S. griseus* também pode ser aplicado em biorremediação corretiva de águas e solos contaminados com cromo hexavalente que é extremamente tóxico. Isso ocorre devido ao fato de algumas linhagens serem capazes de reduzir cromo hexavalente a cromo trivalente que é uma forma menos tóxica do composto (3).



1. BACTÉRIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Devido à capacidade da *S. griseus* de secretar diversas enzimas como proteases, quitinases, lipases, este microorganismo é utilizado como ferramenta de biocontrole na agricultura, por meio de engenharia genéticas de plantas, onde durante a relação simbiótica, o microrganismo produz metabólitos para o controle biológico de fitopatógenos (8).

Referências

1. CHO, Hyun Ji; KWON, Young Sang; KIM, Da-ran; CHO, Gyeongjun; HONG, Seong Won; BAE, Dong-won; KWAK, Youn-sig. WblE2 transcription factor in *Streptomyces griseus* S4-7 plays an important role in plant protection. **Microbiologyopen**, [s.l.], v. 6, n. 5, 10 p., 19 maio 2017. Wiley. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/mbo3.494>. Acesso em: 17 out. 2020. Doi: 10.1002/mbo3.494

2. HIRANO, Setsu; TANAKA, Katsuyuki; OHNISHI, Yasuo; HORINOUCI, Sueharu. Conditionally positive effect of the TetR-family transcriptional regulator AtrA on streptomycin production by *Streptomyces griseus*. **Microbiology**, [s.l.], v. 154, n. 3, p. 905-914, 1 mar. 2008. Microbiology Society. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1099/mic.0.2007/014381-0>. Acesso em: 17 out. 2020.

3. LAXMAN, R.s; MORE, S. Reduction of hexavalent chromium by *Streptomyces griseus*. **Minerals Engineering**, [s.l.], v. 15, n. 11, p. 831-837, nov. 2002. Elsevier BV. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/s0892-6875\(02\)00128-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0892-6875(02)00128-0). Acesso em: 17 out. 2020.

4. LIU, Z. Classification of *Streptomyces griseus* (Krausky 1914) Waksman and Henrici 1948 and related species and the transfer of 'Microstreptospora cinerea' to the genus *Streptomyces* as *Streptomyces yanii* sp. nov. **International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology**, [s.l.], v. 55, n. 4, p. 1605-1610, 1 jul. 2005. Microbiology Society. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1099/ijs.0.63654-0>. Acesso em: 17 out. 2020.

5. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI). Genome. *Streptomyces griseus*. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=streptomyces+griseus>. Acesso em: 17 out. 2019.

6. OHNISHI, Y.; ISHIKAWA, J.; HARA, H.; SUZUKI, H.; IKENOYA, M.; IKEDA, H.; YAMASHITA, A.; HATTORI, M.; HORINOUCI, S.. Genome Sequence of the Streptomycin-Producing Microorganism *Streptomyces griseus* IFO 13350. **Journal of Bacteriology**, [s.l.], v. 190, n. 11, p. 4050-4060, 28 mar. 2008. American Society for Microbiology. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/jb.00204-08>. Acesso em: 17 out. 2020.

7. SILVA, Ingrid Reis da. **Caracterização de compostos antimicrobianos produzidos por *Streptomyces sp.*** 2016. 103 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2016.

8. SOUSA, Carla da Silva; SOARES, Ana Cristina Fermino; GARRIDO, Marlon da Silva; ALMEIDA, Gabriela Maria Carneiro de Oliveira. Estreptomicetos no controle da meloidoginose em mudas de tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [s.l.], v. 41, n. 12, p. 1759-1766, dez. 2006. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-204x2006001200010>. Acesso em: 17 out. 2020.

9. THE NOBEL PRIZE. **Award ceremony speech**. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1952/ceremony-speech/>. Acesso em: 17 out. 2019.

10. TORRES, Maria Alejandra Ferreira. **Análise genômica de *Streptomyces olindensis* DAUFPE 5622 e de suas vias crípticas para obtenção de novos metabólitos secundários de interesse biotecnológico**. 2015. 104 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Microbiologia, Departamento de Microbiologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

11. WAKSMAN S.A., REILLY H.C., HARRIS D. A. *Streptomyces griseus* (Krausky) Waksman and Henrici. **Journal of Bacteriology**, v. 56. n. 3, p. 259-269, sep 1948. PMID: 16561569; PMCID: PMC5185.

Domínio Archaea

O Domínio Archaea, pertencente ao Reino Monera, inclui organismos extremófilos, que podem tolerar ambientes muito agressivos, com altas temperaturas, acidez, ou ausência de oxigênio. Esses organismos incluem espécies termofílicas – que gostam de calor e podem colonizar ecossistemas como fontes termais vulcânicas terrestres ou oceânicas; metanogênicas – que podem existir em ambientes anóxicos e produzir gás metano como um subproduto metabólico; e halofílicas – que gostam de sal e podem existir em locais onde os níveis de salinidade são incrivelmente altos. As espécies metanogênicas, em particular, desempenham um papel significativo no tratamento de esgotos domésticos e industriais, enquanto outros grupos de archaeobactérias sustentam ecossistemas e habitam com condições extremas, uma vez que muitos organismos dependem delas como fontes de alimento.

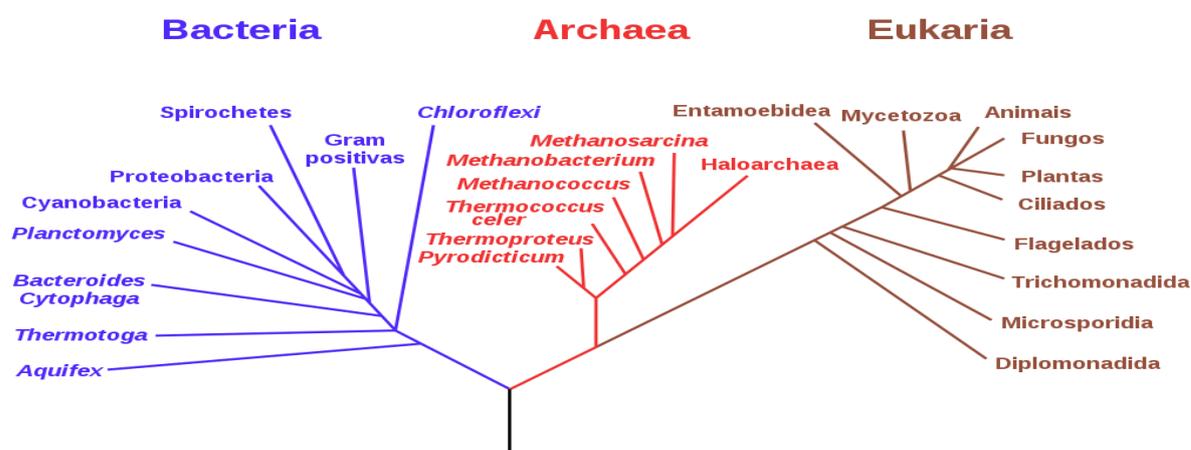


Figura 1 - Árvore filogenética baseada na análise do rRNA, proposta por Carl Woese e George E. Fox (1977), mostrando a separação dos grandes grupos biológicos: Bacteria, Archaea e Eukarya. O Domínio Archaea (Reino Monera) encontra-se representado em vermelho.

Referências

WOESE, Carl R.; FOX, George E. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 74, n. 11, p.5088-5090, 1977. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/74/11/5088>. Acesso em: 01 dez 2020. DOI: 10.1073/pnas.74.11.5088.



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Índice

- 2.1 *Haloarcula marismortui*
- 2.2 *Haloferax volcanii*
- 2.3 *Haloterrigena turkmenica*
- 2.4 *Methanosarcina barkeri*
- 2.5 *Nanoarchaeum equitans*
- 2.6 *Pyrococcus furiosus*
- 2.7 *Pyrolobus fumarii* 1A
- 2.8 *Sulfolobus acidocaldarius*
- 2.9 *Sulfolobus solfataricus*
- 2.10 *Thermoplasma acidophilum*

2.1 *Haloarcula marismortui*

Encontrada por primeira vez no Mar Morto e isolada em 1960 por Ginzburg et al. (8), a *Haloarcula marismortui* é uma arqueia vermelha pertencente à família das *halobacteriaceae*. Como toda arqueia halófila, é capaz de sobreviver em condições ambientais extremas, graças às estruturas proteicas, às estratégias metabólicas adotadas, e as suas respostas fisiológicas também (1).

Interessantemente, é importante o sequenciamento do seu genoma para, gradualmente, desdobrar o conhecimento sobre os seus mecanismos genéticos que permitem a sua habilidade única de sobreviver em ambientes extremos. Além disso, é necessária a compreensão das respostas fisiológicas acima citadas para que o conjunto de sistemas que caracterizam o microrganismo possa ser delineado por pesquisadores. Através disso, podem ser dadas aplicações biotecnológicas a esta e a outros microrganismos que comungam em aspectos únicos.

Características Biológicas

H. marismortui é um microrganismo unicelular e de formato arredondado. Pertence ao grupo das arqueias halófilas, ou seja, é altamente

tolerante a alta concentração de sal e de baixa solubilidade de oxigênio. Habita em lugar com alta intensidade de luz (3).

Devido ao meio em que vive, este microrganismo desenvolveu um sistema de resposta fotobiológica complexo, no qual participam as opsinas, o complexo criptocromo/fotoliase, reguladores de ciclos e transdutores. A *H. marismortui* possui seis proteínas opsinas que utilizam a energia luminosa para manter as concentrações dos íons, facilitar a fototaxia e gerar energia via gradiente de prótons. Já por meio dos transdutores, proteínas relacionadas ao metabolismo, a *H. marismortui* consegue estar sensível ao ambiente que a envolve e, assim, mudar de respostas conforme lhe é exigido para que sobreviva (3).

A *H. marismortui* possui estratégias metabólicas flexíveis, limitantes à osmose, como é o caso do seu metabolismo via metilaspártato, onde ocorre a aneplerosis (processo de reposição de suprimentos de intermediários – metilaspártato - metabólicos) (7).

Ademais, a *H. marismortui* obtém energia, carbono metabólico e nitrogênio não só por glicólise, mas pelo catabolismo de aminoácidos. Carbonos inorgânicos são fixados em açúcar, por meio do ciclo de carboxilato redutivo, onde participam as enzimas fosfo piruvato carboxilase e gluconeogênase (3).

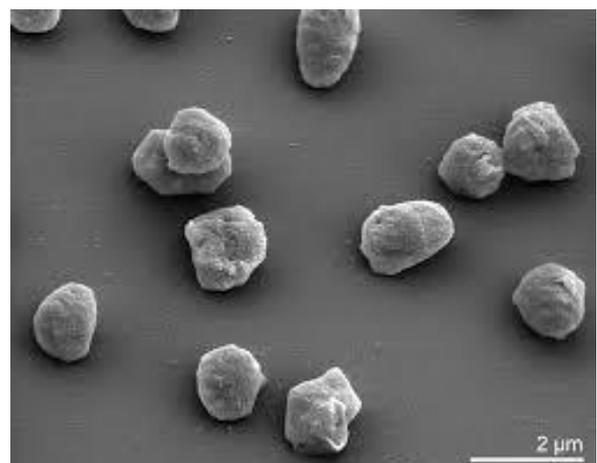


Figura 1 - *Haloarcula marismortui*. Fonte: (9).



2. ARQUEIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Haloarcula marismortui*.

Domínio	<i>Archaea</i>
Filo	<i>Euryarchaeota</i>
Classe	<i>Halobacteria</i>
Ordem	<i>Halobacteriales</i>
Família	<i>Haloarculaceae</i>
Gênero	<i>Haloarcula</i>
Espécie	<i>H. marismortui</i>

Fonte: (5).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

Os mecanismos genéticos associados ao metabolismo da *H. marismortui* é o que a tornam um microrganismo único.

O genoma desta arqueia possui genes que codificam para enzimas que sintetizam até 16 aminoácidos, sendo que o estandarte para halobactérias é de oito aminoácidos (3). Paralelamente, existem evidências de que o metabolismo via metilspartato foi originado pela aquisição de certos genes específicos, por meio de transferência horizontal (9).

Em relação ao ciclo de vida, a reprodução da *Haloarcula marismortui* não está particularmente elucidada. O método mais comum de reprodução, o qual é atribuído às arqueias desta família, é por fissão binária. Após o nucléolo se dividir, mecanismos genéticos ativam o estrangulamento celular, a partir dos polos, gerando duas novas células-filhas idênticas (Figura 2).

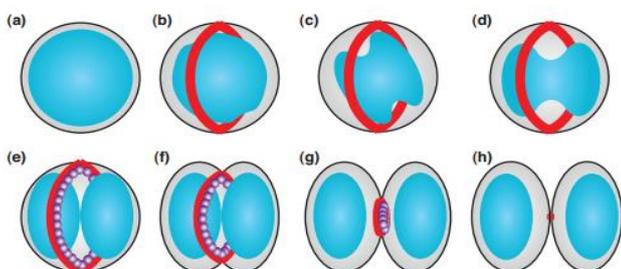


Figura 2 - Modelo especulativo da divisão celular de *Haloarcula marismortui* (a-h). A CdvA (proteína de interação membranar) forma uma estrutura anelar (em vermelho) envolta do nucleóide (em azul) antes da segregação deste e orienta a separação dos nucleóides (b-d). A maquinária responsável para a separação cromossomal ainda não é identificada. O anel CdvA recruta e facilita a montagem de outras proteínas (lilás) associadas às novas estruturas formadas (e). Em conjunto, vão diminuindo gradualmente à medida que a membrana invagina (f-h). Fonte: (10).

Genoma

Tabela 2 - Propriedades genômicas da *Haloarcula marismortui* (ATCC 43049 I).

Genoma	Tamanho (Mb)	GC%	Nº de genes	Nº de proteínas
ATCC 43049 I	3,13	62,4	3,199	3,108

Fonte: (5)

Aplicações Biotecnológicas

A *Haloarcula marismortui* soma diversas pesquisas e possíveis aplicações biológicas. Destacam-se nela os estudos genéticos. *H. marismortui* é utilizada para identificar e categorizar os estados conformacionais do RNA, utilizados depois para investigar as leis estatísticas que direcionam tais estados. A sua grande subunidade ribossômica é a parte mais estudada devido a sua estrutura cristalina e o seu tamanho, que permitem uma alta resolução (2). Zhou, P. *et al.* (2007) estudaram os mecanismos genéticos relacionados a tolerância à exposição de luz UV, uma vez que este microrganismo é alvo da alta intensidade desta, o que provoca alterações no DNA, visando entender estes mecanismos genéticos importantes para futuras aplicações biotecnológicas. Já Marden, D. Edel, C. (2007) pesquisaram sobre a estabilidade de proteínas halofílicas. Mostrou-se, no estudo, que a superfície destas proteínas é enriquecida por aminoácidos acidícos que mantêm a estabilidade em meios com alta concentração de sal.



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Por sua vez, a investigação feita por Tehei, M. *et al.* (2007), sobre a dinâmica do movimento da água dentro da *H. marismortui*, demonstrou que o movimento da água numa concentração a 3.5M de NaCl é muito mais lenta do que em células que não contêm NaCl, em aproximadamente 250 vezes. *E. coli* foi testada igualmente e não apresentou os mesmos resultados. A hipótese que se dá é que o movimento lento (e único) da água dentro da célula de *H. marismortui* se deve à estrutura da água que facilita a ligação do K⁺ com células cujo movimento de água interna é mais lento.

O avanço das pesquisas com relação a este microrganismo o torna cada vez mais apto a ter aplicações biotecnológicas, uma vez que possui características únicas estáveis em ambientes não convencionais.

Referências

1. BALIGA, N. *et al.* Genome sequence of *Haloarcula marismortui*: A halophilic archaeon from the Dead Sea. **Genome Research**, v. 14, n. 11, p. 2221–2234, 2004. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC525680/>. Acesso em: 14 maio 2020.
2. HERSHKOVITZ, E. *et al.* Automated identification of RNA conformation motifs: theory and application to the HM LSU 23S rRNA. **Nucleic Acids Research**, v. 31, n. 21, p. 6249–6257, 2003.
3. KENNEDY, S. P. *et al.* Understanding the adaptation of *Halobacterium* species NRC-1 to its extreme environment through computational analysis of its genome sequence. **Genome Research**, v. 11, p. 1641–1650, 2001.
4. MADERN, D.; EBEL, C. Influence of an anion-binding site in the stabilization of halophilic malate dehydrogenase from *Haloarcula marismortui*. **Biochimie**, v. 89, n.8, Aug. p. 981–7, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17451860/>. Acesso em: 14 maio 2020.
5. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *Haloarcula marismortui*. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Haloarcula+marismortui>. Acesso em: 12 maio 2020.
6. NIEDERBERGER, T. *Archaea*. **Encyclopaedia Britannica**. Publicado a 26 Set 2017. Disponível em: <https://www.britannica.com/science/archaea>. Acesso em: 12 maio 2020.
7. OREN, A. *et al.* The taxonomic status of *Halobacterium marismortui* from the Dead Sea: a comparison with *Halobacterium vallismortis*. **Sys Appl Microbiol**, v. 10, n.3, p. 251–8, 1988.
8. PROGRESION 21. *Haloarcula marismortui*. 2015. Disponível em: <http://www.progresion21.com.mx/?p=2959>. Acesso em: 12 maio 2020.
9. ROGERS, K. Horizontal gene transfer. **Encyclopaedia Britannica**. Publicado em 22 Agosto 2019. Disponível em: <https://www.britannica.com/science/horizontal-gene-transfer>. Acesso em: 14 maio 2020.
10. SAMSON, R. Y.; BELL, S. D. Cell cycles and cell division in the *Archaea*. **Current Opinion in Microbiology**, v. 14, n.3, p. 350–356, 2011. DOI:10.1016/j.mib.2011.04.005. Acesso em: 12 maio 2020.
11. TEHEI, M. *et al.* Neutron scattering reveals extremely slow cell water in a Dead Sea organism. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 104, n. 3, p. 766–771, 2007. Disponível em: <http://www.pnas.org/cgi/content/abstract/104/3/766>. Acesso em: 14 maio 2020.
12. ZHOU, P. *et al.* Genomic survey of sequence features for ultraviolet tolerance in haloarchaea (family Halobacteriaceae). **Genomics**, v. 90, Jul. 2007, p. 103–109, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0888754307000729>. Acesso em: 14 maio 2020.



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

2.2 *Haloferax volcanii*

A arqueia *Haloferax volcanii* foi isolada pela primeira vez, em 1975, no Mar Morto pelo microbiologista Benjamin Elazari Volcani. Esta haloarquea, bem adaptada a ambientes salinos, emergiu como um sistema de modelo archaeal muito importante. Por ser de fácil crescimento e por apresentar uma baixa taxa de mutação, foi possível a utilização deste microrganismo em diversas aplicações de biologia molecular, o que transformou a *H. volcanii* num modelo não apenas para o estudo do domínio Archaea, como também para o desenvolvimento de aplicações biotecnológicas (10).

É o microrganismo predominante nos sedimentos do Mar Morto. Devido a isso e, juntamente com outros halófilos relacionados, sabe-se que quando as condições favorecem a proliferação e crescimento microbiano, estes extremófilos impregnam as águas do Mar Morto com sua cor avermelhada. Devido a fatores naturais e ao aumento da atividade humana, a salinidade no Mar Morto está aumentando, tornando este ambiente cada vez menos hospitaleiros, até mesmo para extremófilos. Mesmo que a presença de *H. volcanii* ainda seja bastante notável, o nível destes microrganismos no Mar Morto é mínimo se comparado com a década de 1980 (6)(9).

Características Biológicas

H. volcanii é um microrganismo halófilo, encontrado em ambientes hipersalinos, como o Mar Morto e mares oceânicos com alta concentração de cloreto de sódio (6).

O seu tamanho pode variar entre 1 e 3 µm de diâmetro e é pleomórfica, podendo adotar diferentes formas como em discos curvos, cúpula, ou quando móvel, a forma de bastonetes, independente da condição ideal (3)(10).

A sua membrana é formada por isoprenoídes ligados a éteres e a sua parede celular é composta por uma camada de glicoproteína (10) que, por sua vez, é estável sob altas

concentrações de sal, e do contrário, ocorre a lise das células. Devido a alta osmolaridade do seu entorno, a *H. volcanii* neutraliza as pressões osmóticas mantendo uma alta concentração interna de íons K⁺, o que faz balancear a hipertonia do meio. Esta habilidade única é exclusiva da ordem das *Halobacteriales* (8).

Ademais, possui grandes quantidades de carotenoides presentes na sua membrana. São estes que lhe dão a cor avermelhada, tornando-se visível no mar quando em altas quantidades. O carotenoide 3',4'-poximonoanidrobacterioruberina é único da *H. volcanii* (11).

As condições ótimas de crescimento são em temperatura de 42°C com concentração de cloreto de sódio (NaCl) entre 1,5 a 2,5 M (13).

É quimiorganotrófica, metabolizando açúcares simples, amidos e aminoácidos como fonte de carbono (8; 10). É anaeróbia facultativa: o oxigênio é preferido como acceptor terminal de elétrons, porém, uma vez que a solubilidade desta molécula é baixa em salmouras, utiliza o fumarato, nitrato, DMSO ou TMAO, como aceptores alternativos, representando assim, a via anaeróbia de respiração celular (7) (8).

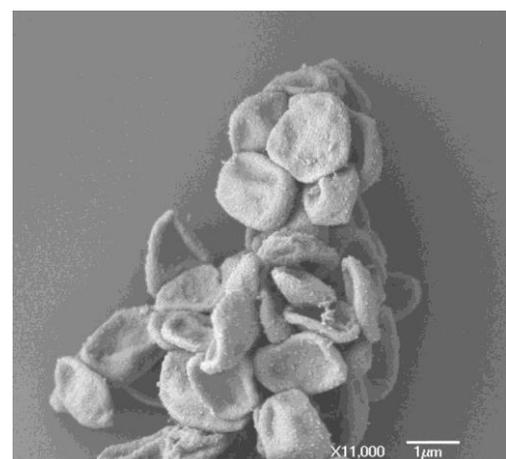


Figura 1 - *Haloferax Volcanii*. Fonte: (2).



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Taxonomia

Tabela 1 - Descrição taxonômica da *H. volcanii*.

Domínio	<i>Archaea</i>
Filo	<i>Euryarchaeota</i>
Classe	<i>Halobacteria</i>
Ordem	<i>Haloferacales</i>
Família	<i>Halobacteriaceae</i>
Gênero	<i>Haloferax</i>
Espécie	<i>Haloferax Volcanii</i>

Fonte: (4).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

Segundo Samson, R. Y. & Bell, S. D. (2011), o estudo do ciclo celular das arqueias ainda está no seu estágio inicial. Isto se deve, em parte, ao tamanho físico e do genoma, e pelas condições de crescimento esotéricas, características delas. Devido ao fato do ciclo celular bacteriano e de microrganismos eucariotas já ser bem conhecido, as pesquisas feitas com arqueias revelam grandes similaridades entre ambos, elucidando cada vez mais a filogenia de cada microrganismo.

Durante o ciclo da *H. volcanii*, uma série de eventos-chaves necessita acontecer. A replicação do DNA precisa ser iniciada, mantida e terminada. Para isso, os níveis de precursores de nucleotídeos precisam ser suficientes para que o processo dê continuidade, os cromossomos sejam segregados e ocorra o estrangulamento (5).

Durante a fase de crescimento exponencial, a *H. volcanii* tem aproximadamente dezoito cópias do seu genoma por célula. Na fase estacionária, por sua vez, estabiliza com dez cópias por célula (5). Segundo Pohlschroder, M., & Schulze, S. (2018), células poliploides podem conter até 30 cópias do seu cromossomo.

Ademais, este microrganismo possui seis regiões de replicação nos cromossomos que, por sua vez é circular, igual as demais arqueias e bactérias (5; 8).

O meio de reprodução da *H. volcanii* é por fissão binária (Figura 2) (8) onde, após a replicação dos cromossomos, mecanismos genéticos são ativados para que ocorra o estrangulamento polar da célula dando origem a duas células-filhas idênticas, cada uma com uma cópia do material genético (1). Em condições ideais de crescimento, o tempo para se multiplicar é de 4 horas (8).

A proteína que mais está envolvida na divisão celular da *H. volcanii* é a FtsZ, que é semelhante a das bactérias. Esta proteína polimeriza para formar uma estrutura anelar ao redor dos pontos de divisão. O anel, ao se contrair em paralelo à invaginação membranar, é a força motriz para a divisão celular. Nesta arqueia, a proteína FtsZ também forma anéis no meio da célula (5).

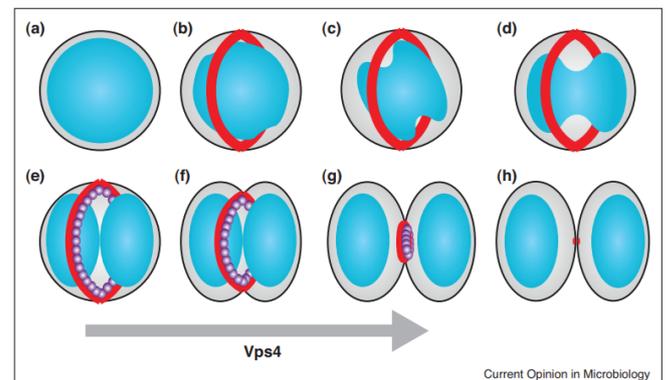


Figura 2 - Modelo especulativo da divisão celular da *H. volcanii* (a-h). A FtsZ (proteína de interação membranar) forma uma estrutura anelar (em vermelho) envolta do nucleóide (em azul) antes da segregação deste e orienta a separação dos nucleóides (b-d). A maquinaria responsável para a separação cromossomal ainda não é identificada. O anel FtsZ recruta e facilita a montagem de outras proteínas (lilás) associadas às novas estruturas formadas (e). Em conjunto, vão diminuindo, gradualmente, à medida que a membrana invagina (f-h). Fonte: (5).



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

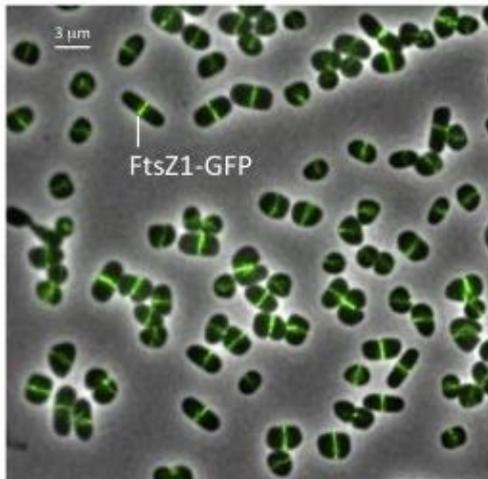


Figura 3 - Microscopia do momento divisão celular da *Haloferax volcanii*. Fonte: (10).

Genoma

Tabela 2 - Informações do genoma referencial da *Haloferax volcanii* sequenciado em 2010.

Genoma	Tamanho (Mb)	Nº de genes	GC%	Nº de proteínas
DS2	2,85	2,961	66,6	2,840

Fonte: (4)(13).

Ademais, a *H. volcanii* possui dois cromossomos secundários (85 e 690 kb) e um plasmídeo (6,4 kb), totalizando 3996 genes que codificam proteínas (8).

Aplicações Biotecnológicas

Este microrganismo se destaca pela sua utilização em estudos moleculares. Como já mencionado na introdução, a arqueia *Haloferax volcanii* se tornou relevante por representar um sistema de modelo archaeal. São desenvolvidos estudos das características genéticas, moleculares, biológicas e bioquímicas, além de serem utilizadas ferramentas como vetores de expressão, estratégias de deleção de genes, como o CRISPR, entre outras técnicas, para a pesquisa deste microrganismo (10).

Ademais, a aplicação direta de métodos como a marcação metabólica e sequenciamento genômico estabeleceu a base para os estudos transcriptômicos e proteômicos. Estas ferramentas permitem analisar o processo da transcrição, conhecer os RNAs não codificantes,

entender a síntese e degradação de proteínas, a glicosilação, motilidade, entre outras características das arqueias. As pesquisas voltadas para esta área permitem o desenvolvimento de novas aplicações biotecnológicas deste microrganismo (10).

Devido ao fato de que as condições em que a *H. volcanii* sobrevive mimetizam as condições da superfície de Marte (alta concentração de sal e radiação), este microrganismo é estudado como modelo para teste de sobrevivência em meio extraterrestre, além de servir para estudos evolutivos (12).

Referências

1. BERNARD, R. Archaea and the cell cycle. **Molecular Microbiology**, v. 29, n. 4, p. 955-961, 1998. DOI:10.1046/j.1365-2958.1998.00956.x. Acesso em: 8 jun. 2020.
2. GARGE, S. *Haloferax volcanii*. Alchetron. Publicado a 20/05/2020. Disponível em: <https://alchetron.com/Haloferax-volcanii>. Acesso em: 8 jun. 2020.
3. GARRITY, G. M. *et al.* The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria. In: GARRITY, G. M. *et al.* **Bergey's Manual of Systemic Bacteriology**. 2001. 2. ed. New York: Springer. p. 326. v. 01.
4. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI). **Haloferax Volcani**. Disponível em: ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=haloferax+volcanii. Acesso em: 21 set. 2019.
5. SAMSON, R. Y.; BELL, S. D. Cell cycles and cell division in the archaea. **Current Opinion in Microbiology**, v. 14, n.3, p. 350-356, 2011. DOI:10.1016/j.mib.2011.04.005. Acesso em: 8 jun. 2020.
6. OREN, A. Population dynamics of halobacteria in the Dead Sea water column. **Limnology and Oceanography**, v. 28, n. 6, p. 1094-1103, 1983.
7. OREN, A. Anaerobic growth of halophilic archaeobacteria by reduction of fumarate. **Journal of General Microbiology**, v. 137. p. 1387-1390, 1991.



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

8. OREN, A. The Order *Halobacteriales*. In: OREN, A. *et al.* **The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria**. 3rd Ed. New York: Springer, 2006. p. 113-164
9. OREN, A. The dying Dead Sea: the microbiology of an increasingly extreme environment. **Lakes & Reservoirs: Research and Management**, v. 15. p. 215-222, 2010.
10. POHLSCHRODER, M.; SCHULZE, S. *Haloferax volcanii*. **Trends in Microbiology**, v. 27, p. 86-87, jan. 2019. DOI: 10.1016/j.tim.2018.10.004. Acesso em: 8 jun. 2020.
11. RONNEKLEIV, M. *et al.* Three dodecaene C50-carotenoids from halophilic bacteria. **Phytochemistry**, v. 39, n. 3, p. 631-643, 1983.
12. SARMA, S. Extreme Halophiles are models for Astrobiology. **Microbe Magazine**, v. 1, n. 3. p. 120-126, 2006.
13. UNIVERSITY OF CALIFORNIA SANTA CRUZ. **Genome Browser Gateway**. Disponível: <http://archaea.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway?db=haloVolc1>. Acesso em: 9 jun. 2020.



2. ARQUEÍAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

2.3 *Haloterrigena turkmenica*

A *Haloterrigena turkmenica* é uma arqueia halófila (capaz de se desenvolver em ambientes com altas concentrações de sal). Foi isolada por primeira vez em Ashkhabad, Turquemenistão, a partir de solo salino com sulfato (2). Pertence à ordem das *halobactérias* e, inicialmente, foi alocada ao gênero *Halococcus* (*Halococcus turkmenicus*) (5). Contudo, os estudos de Ventosa *et al.* (1999) demonstraram, mais tarde, significativas diferenças entre *H. turkmenicus* e outros organismos do gênero *Halococcus*, dando lugar a um novo gênero, *Haloterrigena*, ao qual este microrganismo passou a fazer parte.

O nome deste gênero deve-se ao requerimento de sal (*halos*) e da sua origem no solo (*terrigena*). Por sua vez, *turkmenica* é devido a sua descoberta ocorrer na região da Turquia (2).

Características Biológicas

A *Haloterrigena turkmenica* (Figura 1) é uma arqueia gram-negativa, com formato oval/esférico, cujo diâmetro varia de 1.5-2 μm , e pode ocorrer também em forma de bastão. Habita em solos, geralmente como célula única, raramente ocorrendo em pares ou quartetos. Não forma esporos, nem flagelos (não se movimenta) ou grânulos lipídicos (4).

As colônias são pigmentadas em vermelho ou rosa claro, devido à presença de C₅₀-carotenos (4). Ademais, é quimiorganotrófica e aeróbia, utiliza compostos orgânicos como fonte de energia e carbono e tem o oxigênio como receptor final de elétrons. Requer um mínimo de 2 M de cloreto de sódio (NaCl) (4).

A temperatura de crescimento varia entre 29° e 57 °C. Em condições ótimas de crescimento, este microrganismo é o membro da família *Halobacteriaceae* com mais rápido crescimento. O tempo de geração é de apenas 1.5 horas (2).

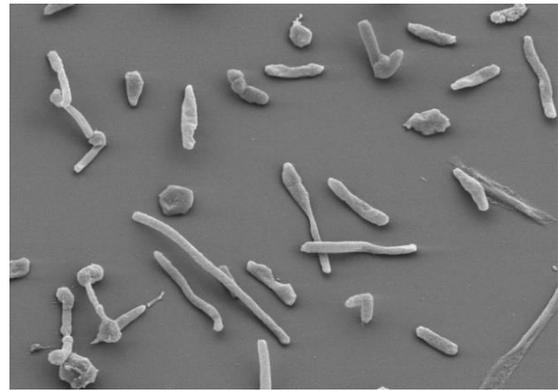


Figura 1 - Micrografia eletrônica de varredura da estirpe 4k^T de *Haloterrigena turkmenica*. Fonte: (2).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Haloterrigena turkmenica*

Domínio	<i>Archaea</i>
Filo	<i>Euryarchaeota</i>
Classe	<i>Halobacteria</i>
Ordem	<i>Halobacteriales</i>
Família	<i>Halobacteriaceae</i>
Gênero	<i>Haloterrigena</i>
Espécie	<i>H. turkmenica</i>

Fonte: (2)

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

A análise genômica deste microrganismo revelou a existência de vários agrupamentos de genes envolvidos na biossíntese de metabólitos secundários e peptídeos. O seu genoma possui genes enzimáticos que codificam para carboxilesterase, carboxilase e xilose isomerase. Além disso, constam de múltiplos genes que codificam as enzimas celulose e xilanase (3).



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Em relação ao ciclo de vida, a reprodução da *H. turkmenica* ainda não foi particularmente elucidada. O método mais comum de reprodução, ao qual é atribuído a esta arqueia, é por fissão binária. Após o nucleólo se dividir, mecanismos genéticos ativam o estrangulamento celular a partir dos polos, gerando duas novas células-filhas idênticas (Figura 2).

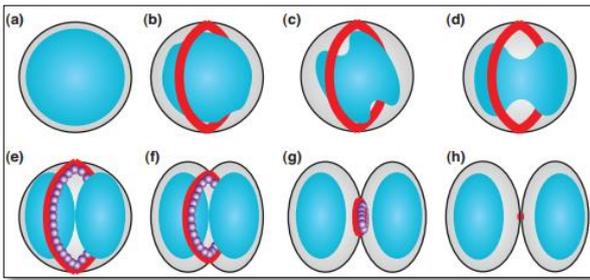


Figura 2 - Modelo especulativo da divisão celular de *H. turkmenica* (a-h). A CdvA (proteína de interação membranar) forma uma estrutura anelar (em vermelho) envolta do nucleóide (em azul) antes da segregação deste e orienta a separação dos nucleóides (b-d). A maquinaria responsável para a separação cromossomal ainda não é identificada. O anel CdvA recruta e facilita a montagem de outras proteínas (lilás) associadas às novas estruturas formadas (e). Em conjunto, vão diminuindo, gradualmente, à medida que a membrana invagina (f-h). Fonte: (1).

Genoma

Tabela 2 - Propriedades genômicas da Estirpe 4k^T da *Haloterrigena turkmenica*.

Genoma	Tamanho (bp)	Nº de genes	GC (%)
Estirpe 4k ^T	5,440,782	5,350	64.26%

Fonte: (2).

Aplicações Biotecnológicas

O conhecimento sobre os potenciais deste microrganismo ainda não foi totalmente esclarecido. Os estudos genéticos realizados revelaram diversos genes codificadores para enzimas como a celulase, xilanase, xilose

isomerase e carboxilesterase (3). Estas enzimas são de interesse biotecnológico em diversos campos.

Adicionalmente, a *Haloterrigena turkmenica* é uma boa candidata para pesquisa em termos de preservação de DNA, estudos filogenéticos, metanogenesis e ampliação do conhecimento do domínio ao qual pertence e das características da terra nos seus estágios iniciais (4).

A *Haloterrigena turkmenica* possui o tempo de geração mais curto entre os organismos que pertencem à família Halobacteriaceae e cresce em meio de cultura conhecido, o que a torna um potencial alvo maior utilização e estudo (2).

Referências

- SAMSON, R. Y.; BELL, S. D. Cell cycles and cell division in the Archaea. **Current Opinion in Microbiology**, v. 14, n.3, p. 350–356, 2011. DOI:10.1016/j.mib.2011.04.005. Acesso em: 27 abril 2020.
- SAUNDERS, E. *et al.* Complete genome sequence of *Haloterrigena turkmenica* type strain (4k). **Standards in genomic sciences**, v. 2, n. 1, p. 107–116, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.4056/sigs.681272>. Acesso em: 27 abril 2020.
- SELIM, S., HAGAGY, N. Genome sequence of carboxylesterase, carboxylase and xylose isomerase producing alkaliphilic haloarchaeon *Haloterrigena turkmenica* WANU15. **Genomics**, v.7, p.70-72, 2016. DOI: 10.1016/j.gdata.2015.11.031.
- VENTOSA A. *et al.* Proposal to transfer *Halococcus turkmenicus*, *Halobacterium trapanicum* JCM 9743 and strain GSL-11 to *Haloterrigena turkmenica* gen. nov., comb. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 49, n. 1, p.131-136, 1999. DOI: 10.1099/00207713-49-1-131. Acesso em: 27 abril 2020.
- ZVYAGINTSEVA, I. S.; TARASOV, A. L. Extreme halophilic bacteria from saline soils. **Mikrobiologiya**, v.56, p.839-844, 1987.



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

2.4 *Methanosarcina barkeri*

A arqueia *M. barkeri* foi isolado de vários lugares, incluindo esgoto em Los Angeles e Urbana, Illinois (1). A linhagem *fusaro* foi isolada de amostras de lama colhidas no lago de água doce, Lago del Fusaro, na Itália. Também é relatado que *M. barkeri* vive no rúmen do gado, onde ajuda a digerir a celulose.

A *M. barkeri* é o organismo no qual o 22º aminoácido pirrolisina foi descoberto. Embora essa não tenha sido uma descoberta totalmente revolucionária devido à descoberta anterior do 21º aminoácido (selenocisteína), é de particular interesse porque é encontrada apenas nas arqueias, principalmente nos metanogênicos. A pirrolisina desempenha um papel significativo no processo de metanogênese. Também deve ser observado que a pirrolisina é o 21º aminoácido que é diretamente carregado em um tRNA. A selenocisteína é produzida somente após o tRNA ter sido carregado com serina e a mesma ser modificada em selenocisteína (4).

Características Biológicas

M. barkeri (Figura 1) não é móvel e não contém flagelos, no entanto, uma espécie foi observada produzindo vesículas gasosas. Tendem a formar aglomerados irregulares de células, de vários tamanhos, à medida que as células se dividem. Os aglomerados podem crescer grandes, o suficiente, para serem vistos a olho nu. As células são geralmente grandes e esféricas e produzem uma coloração Gram positiva (1). Na cultura líquida, as células formam grandes massas (3). Existe discussão na comunidade científica sobre se *M. barkeri fusaro* produz ou não vesículas gasosas. Foi demonstrado que outras espécies de *Methanosarcina* e uma linhagem de *M. barkeri* produzem vesículas gasosas, possivelmente como um meio de movimento. Porém, vários estudos falharam em produzir vesículas gasosas em *M. barkeri Fusaro* (2). Isso normalmente não levaria a muita discussão, porém o genoma de *M. barkeri fusaro* possui os genes necessários para a produção de vesículas gasosas e, portanto, deve

ser capaz de produzi-las. Na linhagem que produziu tais vesículas, somente o fez na presença de H_2/CO_2 . Foi proposto que as vesículas gasosas são produzidas em resposta a gradientes de hidrogênio (2).

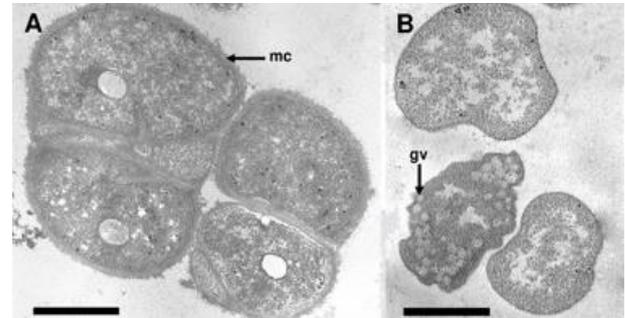


Figura 1 - Micrografia eletrônica da seção fina de *M. barkeri fusaro*. As células cultivadas em meio com baixa solução salina (A) crescem como agregados multicelulares incorporados em uma matriz de metanocondroitina (mc). As células cultivadas em meio marinho (B) crescem como células únicas sem a camada externa da metanocondroitina. Quando cultivadas com hidrogênio, vesículas gasosas (gv) são observadas em algumas células. Fonte: (2).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Methanosarcina barkeri*.

Domínio	<i>Archaea</i>
Filo	<i>Euryarchaeota</i>
Classe	<i>Methanomicrobia</i>
Ordem	<i>Methanosarcinales</i>
Família	<i>Methanosarcinaceae</i>
Gênero	<i>Methanosarcina</i>
Espécie	<i>M. barkeri</i>

Fonte: (8).



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

M. barkeri é um metanogênico anaeróbico extremamente sensível ao oxigênio e, diferentemente da maioria dos metanogênicos que usam apenas dióxido de carbono, o *M. barkeri* é capaz de fermentar uma variedade de fontes de carbono, incluindo H₂, metanol, metilaminas e acetato (1). Isso oferece uma grande vantagem para *M. barkeri*, pois não é capaz de motilidade e, portanto, depende de seu ambiente. Como é capaz de utilizar uma variedade de fontes de energia, é relativamente adaptável ao seu ambiente, em comparação com seus parentes (2). Reproduz-se de duas maneiras. Uma delas é a fissão binária. Esse processo é a replicação direta do cromossomo pela proteína FtsZ. Isso direciona a divisão celular e, após a fissão binária, duas células idênticas são criadas. A brotação ou fragmentação é a outra maneira da espécie se reproduzir. Uma parte da célula brota da célula principal e, eventualmente, se transforma em uma célula separada, alimentando-se da célula-mãe. Eventualmente se transforma em uma cópia idêntica da célula original.

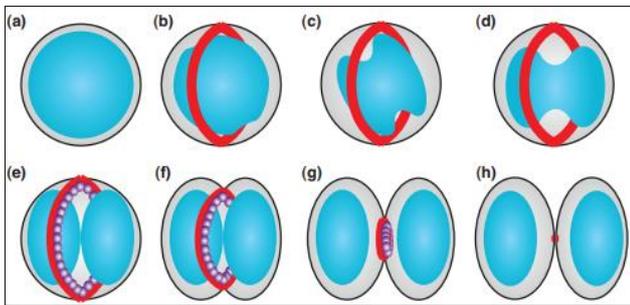


Figura 2 - Modelo especulativo da divisão celular de *M. barkeri* (a-h). A CdvA (proteína de interação membranar) forma uma estrutura anelar (em vermelho) envolta do nucleóide (em azul) antes da segregação deste e orienta a separação dos nucleóides (b-d). A maquinaria responsável para a separação cromossomal ainda não é identificada. O anel CdvA recruta e facilita a montagem de outras proteínas (lilás) associadas às novas estruturas formadas (e). Em conjunto, vão diminuindo, gradualmente, à medida que a membrana invagina (f-h). Fonte: (7).

Genoma

A partir do genoma de *M. barkeri fusaro*, foi determinado que *M. barkeri* possui um cromossomo circular e um plasmídeo circular. O cromossomo de *M. barkeri* consiste em 4.837.408 pb, bastante grande para um metanogênico. Isso é atribuído à capacidade do *M. barkeri* de metabolizar muitas fontes diferentes de carbono. Dos 4,8Mbp, 69% deles codificam proteínas. Existem também 73 RNAs estruturais, 132 pseudogenes e vários transposons. O genoma é de, cerca de 39% de GC, relativamente baixo. O plasmídeo consiste em 36.358 pb, dos quais 58% são codificantes. O plasmídeo é de apenas 33% de GC. Foram identificados 26 genes no plasmídeo, com quatro genes que se acredita estarem associados à síntese de metanocondroitina, cinco transposases putativas e sete genes hipotéticos, cuja função é desconhecida. Pensa-se que o plasmídeo seja replicado com a célula porque não contém um local necessário para replicação pelo método do círculo rolante (2).

Tabela 2 - Propriedades genômicas da *Methanosarcina barkeri*

Genoma	Tamanho (bp)	Nº de genes	GC (%)
Circular	4.837,408	3,680	39%

Fonte: (2).

Aplicações Biotecnológicas

M. barkeri é potencialmente útil para a indústria por duas razões principais. A primeira está relacionada ao seu 22º aminoácido exclusivo, a pirrolisina. Ao contrário do 21º aminoácido, a selenocisteína, a pirrolisina é encontrada apenas nas arqueias. Isso abre a possibilidade de usar o tRNA da pirrolisina para codificar aminoácidos "não naturais", permitindo engenharia avançada de proteínas (5). O uso mais óbvio de *M. barkeri* é produzir metano como combustível alternativo. Como mencionado acima, *M. barkeri* é capaz de usar uma variedade de fontes de carbono para a metanogênese, por isso é mais flexível do que outros metanogênicos em termos de material de



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

partida. Além disso, *M. barkeri* também é aparentemente eficiente neste processo.

Referências

1. BALCH, W.E; FOX, G.E, MAGRUM, L.J, Woese, CR, and Wolfe, RS. Methanogens: Reevaluation of a Unique Biological Group. **Microbiological Reviews**, p. 260-296, jun. 1979.
2. MAEDER, D. L. *et al.* The *Methanosarcina barkeri* Genome: Comparative Analysis with *Methanosarcina acetivorans* and *Methanosarcina mazei* Reveals Extensive Rearrangement within Methanosarcinal Genomes. **Journal Of Bacteriology**, [s.l.], v. 188, n. 22, p.7922-7931, 15 set. 2006. American Society for Microbiology. Disponível em: <https://jb.asm.org/content/188/22/>. Acesso em: 01 dez. 2020.
3. STADTMAN, T. C.; BARKER, H. A. Studies on the methane fermentation ix. The Origin of Methane in the Acetate and Methanol Fermentations by *Methanosarcina*. **Journal of Bacteriology**, v.61, n.1, p. 81-86, 1951.
4. ATKINS, J. F.. BIOCHEMISTRY: The 22nd Amino Acid. **Science**, [s.l.], v. 296, n. 5572, p.1409-1410, 24 maio 2002. American Association for the Advancement of Science (AAAS). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1126/science.1073339>. Acesso em: 01 dez. 2020.
5. AMBROGELLY, A. *et al.* Pyrrolysine is not hardwired for cotranslational insertion at UAG codons. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [s.l.], v. 104, n. 9, p.3141-3146, 20 fev. 2007. Proceedings of the National Academy of Sciences. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/104/9/3141http>. Acesso em: 01 dez. 2020. Doi:10.1073/pnas.0611634104.
6. LAMBIE, Suzanne C. *et al.* The complete genome sequence of the rumen methanogen *Methanosarcina barkeri* CM1. **Standards In Genomic Sciences**, [s.l.], v. 10, n. 1, 19 ago. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s40793-015-0038-5>.
7. SAMSON, Rachel y; BELL, Stephen D. Cell cycles and cell division in the archaea. **Current**
8. WIKIPEDIA. *Methanosarcina barkeri*. Disponível em: https://en.wikipedia.org/wiki/Methanosarcina_barkeri. Acesso em: 20 set. 2020.

Opinion In Microbiology, [s.l.], v. 14, n. 3, p.350-356, jun. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2011.04.005>.



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

2.5 *Nanoarchaeum equitans*

A *Nanoarchaeum equitans* é uma espécie de arqueia marinha que foi descoberta em 2002 em uma abertura hidrotermal na costa da Islândia, no cume de Kolbeinsey, por Karl Stetter. Foi proposta como a primeira espécie em um novo filo. Linhagens desse micróbico também foram encontradas no cume oceânico médio subpolar e na piscina de obsidiana no Parque Nacional de Yellowstone. Uma vez que cresce em temperaturas próximas de 80 graus Celsius, é considerado um termófilo (1).

Características Biológicas

Esta arqueia habita em ambientes com temperaturas acima de 80°C (2). Suas células têm apenas 400 nm de diâmetro, tornando-o um dos menores organismos celulares conhecidos, além de ser a menor arqueia já encontrada. Ademais, tem preferência por lugares abundantes em enxofre, hidrogênio e dióxido de carbono. Também cresce melhor em ambientes com pH 6 e concentração de salinidade de 2%. A nível fisionômico possui a forma esférica e, em média, tem 40 nm de diâmetro, sendo considerada uma das menores células vivas (1).

Interessantemente, apresenta simbiose com *I. hospitalis* (Figura 1). Micrografias eletrônicas de contato entre *I. hospitalis* e *N. equitans* exibem dois modos de interação. Um é indireto e mediado por fibras finas. Em outro, células das duas superfícies celulares estão diretamente em contato. As duas membranas das células de *I. hospitalis* são frequentemente vistas em contato direto, sendo isto, possivelmente, um pré-requisito para transporte de metabólitos ou substratos do citoplasma de uma célula para a outra. Raramente, transportes através de vesículas de carga são observados entre *I. hospitalis* e *N. equitans*. Não há evidências para a presença de estruturas tubulares, como em *Pyrodictium*, ou que os dois citoplasmas se fundam, na forma de uma "ponte" citoplasmática (3).

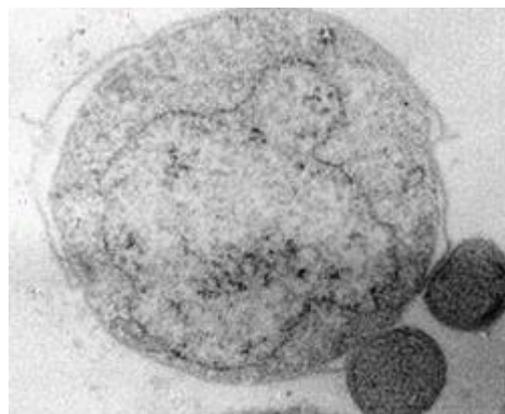


Figura 1 - Simbiose entre *N. equitans* e *I. hospitalis*. Fonte: (3).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Nanoarchaeum equitans*.

Domínio	<i>Archaea</i>
Filo	<i>Nanoararchaeota</i>
Ordem	<i>Nanoarchaeales</i>
Família	<i>Nanoarchaeaceae</i>
Gênero	<i>Nanoarchaeum</i>
Espécie	<i>N. equitans</i>

Fonte: (6).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

Células de *N. equitans* mostram um modo clássico de divisão celular, por constrição. Seu citoplasma exibe dois tipos de fibras: alongado e em forma de anel (5). *Nanoarqueum* parece ser um simbionte obrigatório do archaea *Ignicoccus* e deve estar em contato com o organismo hospedeiro para sobreviver (3). Devido à falta de genes que codificam várias vias metabólicas vitais, o *Nanoarchaeum equitans* depende de seu hospedeiro para adquirir muitas biomoléculas, como lipídios, aminoácidos e nucleotídeos (4).



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

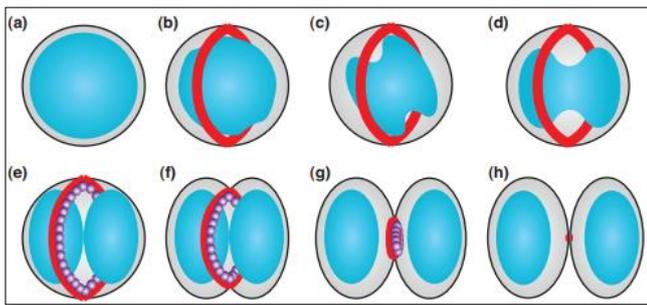


Figura 2 - Modelo especulativo da divisão celular de *N. equitans* (a-h). A CdvA (proteína de interação membranar) forma uma estrutura anelar (em vermelho) envolta do nucleóide (em azul) antes da segregação deste e orienta a separação dos nucleóides (b-d). A maquinária responsável para a separação cromossomal ainda não é identificada. O anel CdvA recruta e facilita a montagem de outras proteínas (lilás) associadas às novas estruturas formadas (e). Em conjunto, vão diminuindo, gradualmente, à medida que a membrana invagina (f-h). Fonte: (5).

Genoma

Tabela 2 - Propriedades genômicas da *N. equitans*.

Genoma	Tamanho (pb)	Nº de genes	GC (%)	Ano
Circular	490.885	553	31,6%	2003

Fonte: (4).

Aplicações Biotecnológicas

A *N. equitans* possui um elevado potencial para a engenharia genética devido ao pequeno tamanho do seu genoma e por se tratar de um microorganismo hipertermófilo. Já foi testada para a codificação e processamento de tRNA, através de rotas não convencionais. Além disso, em estudos envolvendo mecanismos evolutivos, pode ser utilizada para análises da composição genômica e proteômica, em comparação com outros organismos hipertermófilos, mesófilos e parasitas obrigatórios. Ademais, na Microbiologia é utilizada em estudos sobre o parasitismo existente no universo microbiológico (1).

Referências

1. BIOCYC. **Summary of *Nanoarchaeum equitans*, Strain Kin4-M, version 23.0.** Disponível em: <https://biocyc.org/organism-summary?object=NEQU228908>. Acesso em: 01 set. 2019.
2. Integrated Microbial Genomes & Microbiomes. ***Nanoarchaeum equitans* Kin4-M.** Disponível em: https://img.jgi.doe.gov/cgi-bin/m/main.cgi?section=TaxonDetail&page=taxonDetail&taxon_oid=638154511>. Acesso em: 01 set. 2019.
3. JUNGLAS, B. *et al.* *Ignicoccus hospitalis* and *Nanoarchaeum equitans*: Ultrastructure, cell-cell interaction, and 3D reconstruction from serial sections of freeze-substituted cells and by electron cryotomography. **Archives of microbiology**, v. 190, artigo 395, 2008. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00203-008-0402-6>. Acesso em: 01 set. 2020.
4. WATERS, E. *et al.* The genome of *Nanoarchaeum equitans*: Insights into early archaeal evolution and derived parasitism. *Diversa Corporation, PNAS*, v. 100, n.22, p.12984-12988; 2003. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/100/22/12984>. Acesso em: 01 dez. 2020.
5. SAMSON, R. Y.; BELL, S. D. Cell cycles and cell division in the *Archaea*. **Current Opinion in Microbiology**, v. 14, n.3, p. 350–356, 2011. DOI: 10.1016/j.mib.2011.04.005. Acesso em: 01 dez. 2020.
6. WIKIPEDIA. *Nanoarchaeum equitans*. Disponível em: https://en.wikipedia.org/wiki/Nanoarchaeum_equitans. Acesso em: 20 set. 2020.



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

2.6 *Pyrococcus furiosus*

Pyrococcus furiosus é uma arqueia aquática anaeróbica e hipertermófila, isolada pela primeira vez em uma abertura hidrotermal perto da Ilha Vulcano, na Itália. Sua temperatura ideal de crescimento é de 100 graus °C, portanto suas enzimas são extremamente termoestáveis. É um dos primeiros hipertermófilos a ser estudado extensivamente pelos cientistas e, verificou-se que suas enzimas e proteínas são altamente resistentes ao choque térmico e à radiação. Também é notável que algumas de suas enzimas dependem do tungstênio, um elemento muito raro encontrado no sistema biológico. Além disso, ele é único entre seus tipos, pois pode usar uma ampla gama de compostos como fonte de carbono, como peptídeos e carboidratos. E, diferentemente de outros hipertermófilos, ele não precisa de enxofre elementar para o crescimento (1).

Características biológicas

A arqueia *Pyrococcus furiosus* (Figura 1), aparece maioritariamente como cocos regulares de 0,8µm a 1,5µm de diâmetro com flagelação monopolar politrófica (4). É composto principalmente por um tipo de glicoproteína semelhante à flagelina bacteriana, mas difere em outros aspectos dos flagelos bacterianos. Esses flagelos também possuem uma função muito única, além da motilidade. Em cerca de 5% das células durante a fase estacionária, os flagelos formam estruturas semelhantes a cabos, permitindo a conexão célula a célula, uma função muito semelhante ao *pilus* sexual em muitas bactérias. Também permite que as células de *P. furiosus* se liguem a uma superfície sólida e juntamente com a conexão a outras células, o *P. furiosus* pode viver em uma comunidade semelhante à de um biofilme de bactérias (2).

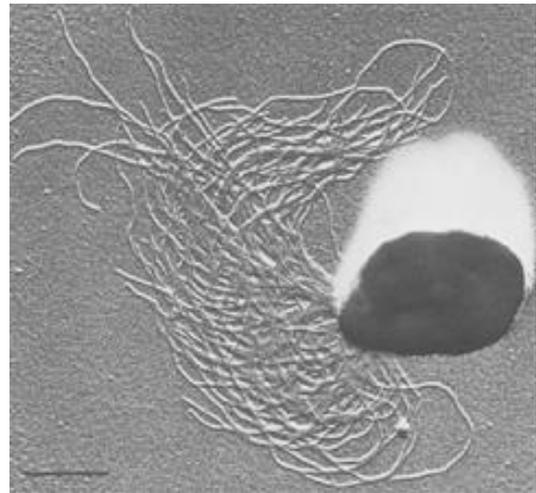


Figura 1 - Micrografia de *P. furiosus* em sombra platinada. A imagem mostra o flagelo tripartido monopolar. Bar 0,5 µm. Fonte: (4).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Pyrococcus furiosus*.

Domínio	<i>Archaea</i>
Filo	<i>Euyarchaeota</i>
Classe	<i>Thermococci</i>
Ordem	<i>Thermococcales</i>
Família	<i>Thermococcaceae</i>
Gênero	<i>Pyrococcus</i>
Espécie	<i>P. furiosus</i>

Fonte: (9).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

É conhecida pela sua duplicação rápida, que gira em torno de 37 minutos sob condições ótimas. Cresce entre 70 °C e 103 °C, com uma temperatura de crescimento ótimo de 100 °C, e no pH entre 5 e 9 (com uma ótima de pH 7). É anaeróbico estrito e cresce bem em: extrato de levedura, maltose, celobiose, β-glucanas, amido e fontes de proteína (triptona, peptona, caseína e extratos de carne). O crescimento é muito lento, ou inexistente em: aminoácidos, ácidos orgânicos, álcoois e mais carboidratos (incluindo glicose, frutose, galactose e lactose).



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

A capacidade de crescer em polissacarídeos (maltose, celobiose, amido), mas não sobre açúcares monoméricos, sugere que oligossacarídeos com diversos graus de polimerização podem ser importados para a célula, e só depois, hidrolisados à glicose (4). Além disso, em contraste com muitos outros hipertermófilos, prefere açúcar (amido) a aminoácidos (proteínas) pelo seu metabolismo anaeróbico. Considerando que o crescimento eficiente em proteínas requer enxofre comoceptor de elétrons, produzindo sulfeto de hidrogênio, o crescimento em oligossacarídeos pode ser realizado na ausência de enxofre, o que torna a cultura e a colheita de células muito mais fácil (5). Esse organismo também pode, surpreendentemente, metabolizar o tungstênio (1).

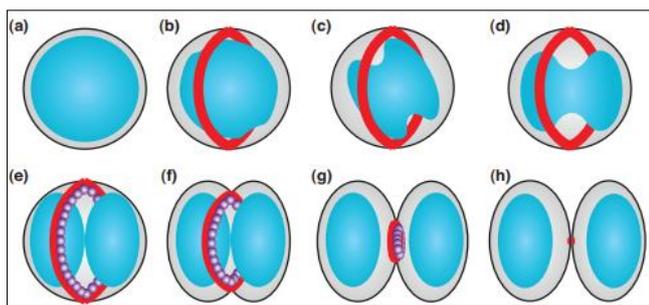


Figura 2 - Modelo especulativo da divisão celular de *P. furiosus* (a-h). A CdvA (proteína de interação membranar) forma uma estrutura anelar (em vermelho) envolta do nucleóide (em azul) antes da segregação deste e orienta a separação dos nucleóides (b-d). A maquinária responsável para a separação cromossomal ainda não é identificada. O anel CdvA recruta e facilita a montagem de outras proteínas (lilás) associadas às novas estruturas formadas (e). Em conjunto, vão diminuindo, gradualmente, à medida que a membrana invagina (f-h). Fonte: (8).

Genoma

Possui um único cromossômico circular. Seu tamanho é de 1,908,255 bp, com 40,8% do conteúdo de G-C e 2.065 ORFs que codificam proteínas, 470 operons. Destas 2.065 ORFs, 6% (130 ORFs) foram consideradas únicas para *P. furiosus*. Evidências experimentais mostraram

que ele pode manter pelo menos dois vetores estáveis de transferência. Além disso, em uma análise comparativa entre os genomas de *P. furiosus* e *Pyrococcus woesei* observou-se evidências de que mais de 100 ORFs foram adquiridas por transferência lateral de genes. O genoma de *P. furiosus* se distingue das outras espécies de *Pyrococcus* por um inventário significativamente mais completo das vias biossintéticas de aminoácidos e pela adição de várias vias para a captação e catabolismo dos carboidratos: celobiose, maltose, trealose, laminarina e quitina (1).

Tabela 2 - Propriedades genômicas da *P. furiosus*.

Genoma	Tamanho (pb)	Nº de genes	GC (%)	Ano
DSM 3638	1.908,256	2.169	40,8%	2001

Fonte: (4)

Aplicações Biotecnológicas

A *Pyrococcus furiosus* não apenas revelou uma infinidade de reações metabólicas sem precedentes, mas também foi uma fonte de enzimas termoestáveis, com possíveis aplicações em vários processos industriais. Provavelmente, o mais famoso exemplo é a DNA polimerase I que possui uma atividade de exonuclease de 3'-5'. Devido a essa capacidade de revisão, essa polimerase chamada de Pfu-DNA tem uma taxa de erro muito menor nas PCRs, em comparação com a polimerase Taq-DNA. A polimerase Pfu é agora usada em milhares de PCRs em todo o mundo. Várias outras enzimas de *P. furiosus* foram isoladas nas últimas três décadas, algumas exibindo extrema termoestabilidade. Por exemplo, uma β -glucosidase de 85h a 100 °C e uma α -amilase que tem meia-vida de 2h a 120 °C. Já nos primeiros anos, *P. furiosus* foi chamado de *E. coli* dos hipertermófilos. No entanto, a ausência de um sistema genético dificultou, severamente, seu potencial biotecnológico. Durou até 2010, quando um sistema de transformação baseado em plasmídeos foi desenvolvido, logo seguido por



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

manipulação genética cromossômica de uma linhagem de *P. furiosus* naturalmente competente (COM1). A expressão de genes heterólogos codificados pelo cromossomo, se tornou possível, incluindo genes originados de baixa temperatura ou mesmo de bactérias. Isso abriu muitas possibilidades para a engenharia metabólica, incluindo a introdução de novas rotas para a formação alternativa de produtos, respondendo aos pedidos da indústria farmacêutica ou da base biológico-econômica (5).

Referências

1. ROBB, Frank T. *et al.* Genomic sequence of hyperthermophile, *Pyrococcus furiosus*: Implications for physiology and enzymology. **Methods In Enzymology**, [s.l.], p.134-157, 2001. Elsevier. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/s0076-6879\(01\)30372-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0076-6879(01)30372-5). Acesso em: 20 set. 2020.
2. NATHER, D. J. *et al.* Flagella of *Pyrococcus furiosus*: Multifunctional Organelles, Made for Swimming, Adhesion to Various Surfaces, and Cell-Cell Contacts. **Journal Of Bacteriology**, [s.l.], v. 188, n. 19, p.6915-6923, 15 set. 2006. American Society for Microbiology. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/jb.00527-06>. Acesso em: 20 set. 2020.
3. POOLE, F. L. *et al.* Defining Genes in the Genome of the Hyperthermophilic Archaeon *Pyrococcus furiosus*: Implications for All Microbial Genomes. **Journal Of Bacteriology**, [s.l.], v. 187, n. 21, p.7325-7332, 19 out. 2005. American Society for Microbiology. Disponível em: <https://jb.asm.org/content/187/21/7325.short>. Acesso em: 20 set. 2020. DOI: 10.1128/jb.187.21.7325-7332.2005. Acesso em: 20 set. 2020.
4. FIALA, Gerhard; STETTER, Karl O. *Pyrococcus furiosus* sp. nov. represents a novel genus of marine heterotrophic archaeobacteria growing optimally at 100 °C. **Archives Of Microbiology**, [s.l.], v. 145, n. 1, p.56-61, jun. 1986. Springer Nature. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00413027>. Acesso em: 20 set. 2020. Doi:10.1007/bf00413027
5. KENGEN, Servé W. M.. 'Pyrococcus furiosus, 30 years on'. **Microbial Biotechnology**, [s.l.], v. 10, n. 6, p.1441-1444, 20 fev. 2017. Wiley. Disponível em: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1751-7915.12695>. Acesso em: 20 set. 2020. DOI: 10.1111/1751-7915.12695. Acesso em: 20 set. 2020.
6. WAGNER, Alexander et al. Mechanisms of gene flow in archaea. **Nature Reviews Microbiology**, [s.l.], v. 15, n. 8, p.492-501, 15 maio 2017. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro.2017.41>. Acesso em: 20 set. 2020.
7. BRIDGER, S. L. et al. Genome Sequencing of a Genetically Tractable *Pyrococcus furiosus* Strain Reveals a Highly Dynamic Genome. **Journal Of Bacteriology**, [s.l.], v. 194, n. 15, p.4097-4106, 25 maio 2012. American Society for Microbiology. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/jb.00439-12>. Acesso em: 20 set. 2020.
8. SAMSON, Rachel y; BELL, Stephen D. Cell cycles and cell division in the archaea. **Current Opinion In Microbiology**, [s.l.], v. 14, n. 3, p.350-356, jun. 2011. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2011.04.005>. Acesso em: 20 set. 2020.
9. WIKIPEDIA. *Pyrococcus furiosus*. Disponível em: https://en.wikipedia.org/wiki/Pyrococcus_furiosus. Acesso em: 20 set. 2020.



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

2.7 *Pyrolobus fumarii* 1A

O nome *Pyrolobus* deriva das palavras gregas “pyros”, que significa fogo, e a palavra “lobos”, que significa lobo, dando origem ao lobo do fogo, fazendo referência à capacidade de sobrevivência de *Pyrolobus fumarii* a altíssimas temperaturas. Além disso, *fumarii* tem origem na palavra latina “fumari”, a qual significa chaminé, já que essa arquea pode ser isolada de paredes de chaminés. Por isso, é frequentemente chamada de “fumante negro” (1). Foi isolada em 1996 da Dorsal Mesoatlântica, uma cordilheira submarina que se estende ao longo do Oceano Atlântico, a uma profundidade de 3650 metros (2). Esse microrganismo sobrevive por, pelo menos, uma hora dentro de uma autoclave a 121°C (6).

Características Biológicas

É hipertermófilo, crescendo em temperaturas entre 90 e 113°C (sua temperatura ótima é de 106°C) e pH de 4,0 a 6,5 (seu pH ótimo é de 5,5). É quimiolitotrófico, podendo crescer em concentrações de sal de 1 a 4%, e aeróbio facultativo, ganhando energia pela oxidação de H₂. Nitrato, S₂O₃²⁻ e O₂ a baixas concentrações são utilizados por *P. fumarii* 1A como aceptores de elétrons, os quais são reduzidos à amônia, sulfato de hidrogênio e água, respectivamente. Ainda, sobrevive em ambientes pressurizados, contendo até 250 bar de pressão. Possui forma de cocos irregulares com diâmetro de 0,7 a 2,5 µm (2).

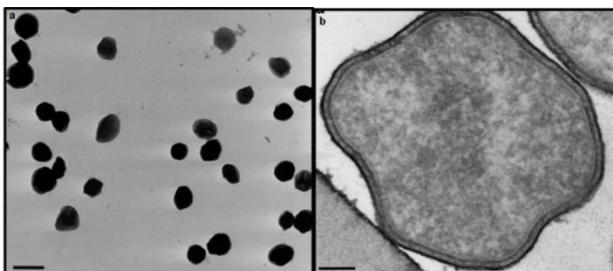


Figura 1 - *Pyrolobus fumarii*. (a) Micrografia eletrônica de baixa ampliação de células coradas com acetato de uranila, 2 µm. (b) Micrografias eletrônicas de seções ultrafinas de células, 200 nm. Fonte: (2).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica de *Pyrolobus fumarii*.

Filo	<i>Crenarchaeota</i>
Classe	<i>Thermoprotei</i>
Ordem	<i>Desulfurococcales</i>
Família	<i>Pyrodictiaceae</i>
Gênero	<i>Pyrolobus</i>
Espécie	<i>P. fumarii</i> 1A

Fonte: (10).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

A *P. fumarii* 1A reproduz-se por fissão binária e, segundo pesquisas, utiliza o complexo chamado de ESCRT-III juntamente à ATPase Vps4 para se reproduzir (5). Devido a sua resistência às condições de altas temperaturas e pressão, a modificação pós-transcricional foi identificada como um mecanismo principal de estabilização estrutural. Foram detectados 26 nucleosídeos modificados, incluindo 1,2'-O-dimetilguanosina (m²Gm), nucleosídeo de RNA previamente desconhecido (3).

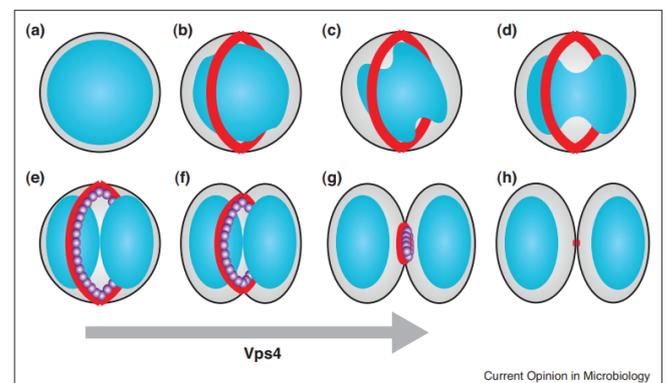


Figura 2 - Ciclo de vida por fissão binária de microrganismos da Ordem *Desulfurococcales* (a-h). A Vps4 (proteína de interação membranar) forma uma estrutura anelar (em vermelho)



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

envolta do nucleóide (em azul), antes da segregação deste e orienta a separação dos nucleóides (b-d). A maquinaria responsável para a separação cromossomal ainda não é identificada. O anel Vps4 recruta e facilita a montagem de outras proteínas (lilás) associadas às novas estruturas formadas (e). Em conjunto, vão diminuindo, gradualmente, à medida que a membrana invagina (f-h). Fonte: (5).

Genoma

O genoma de *P. fumarii* 1A contém informação para síntese de diversas proteínas e enzimas resistentes a produtos químicos inorgânicos e altas temperaturas. O genoma tem 1,85 milhão de pares de bases e contém, aproximadamente, 2.000 genes. Estudos sugerem que *P. fumarii* 1A possui um alto número de genes que não têm similaridade com os genes descritos em outras archaeas (1).

Tabela 2 - Genoma referencial da *Pyrolobus fumarii* 1A.

Genoma	Tamanho (Mb)	GC%	Nº de proteínas	Nº de genes	Ano
Cromossomo Circular	1,84	54,9	1906	1969	2013

Fonte: (4).

Aplicações Biotecnológicas

Devido ao fato de *P. fumarii* 1A sobreviver em condições que pouquíssimos outros microrganismos sobrevivem, há interesse em suas proteínas e enzimas termoestáveis, além daquelas produzidas para a degradação de compostos inorgânicos (1) (2). Além disso, os nucleosídeos encontrados em *P. fumarii* 1A podem ser utilizados para a produção de medicamentos e relacionados.

Referências

1. ANDERSON, Iain. *et al.* Complete genome sequence of the hyperthermophilic chemolithoautotroph *Pyrolobus fumarii* type

strain (1A^T). **Standards in Genomic Sciences**, v. 4, n. 3, p. 381-392, 1 jul. 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4056/sigs.2014648>. Acesso em: 30 nov. 2019.

2. BLÖCHL, Elisabeth. *et al.* *Pyrolobus fumarii*, gen. and sp. nov., represents a novel group of archaea, extending the upper temperature limit for life to 113°C. **Extremophiles**, v. 1, n. 1, p. 14-21, feb. 1997. Springer-Verlag: Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s007920050010>. Acesso em: 30 nov. 2019.
3. MCCLOSKEY, James A. *et al.* Posttranscriptional modification of transfer RNA in the submarine hyperthermophile *Pyrolobus fumarii*. **Nucleic Acids Symposium Series**, v. 44, n. 1, p. 267-268, 1 oct. 2000. Oxford Academic. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/nass/44.1.267>. Acesso em: 30 nov. 2019.
4. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI). *Pyrolobus fumarii* 1A. 2013. Disponível em: ncbi.nlm.nih.gov/genome/1258?genome_assembly_id=171002. Acesso em: 30 nov. 2019.
5. SAMSON, Rachel; BELL, Stephen. Cell cycles and cell division in the archaea. **Current Opinion in Microbiology**, v. 14, n. 3, p. 350-356, jun. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.04.005>. Acesso em: 30 mar. 2020.
6. STETTER, Karl O. Extremophiles and their adaptation to hot environments. **FEBS Letters**, v. 452, n. 1-2, p. 22-25, 4 jun. 1999. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/s0014-5793\(99\)00663-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0014-5793(99)00663-8). Acesso em: 30 nov. 2019.



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

2.8 *Sulfolobus acidocaldarius*

Sulfolobus acidocaldarius é um crenarqueão termoacidófilo aeróbico que cresce otimamente a 80 °C e pH 2 em fontes de sulfato terrestre. É, principalmente, um organismo aquático, altamente abundante em fontes de ácido quente rica em enxofre no Parque Nacional de Yellowstone (1). Também se estabelece em solos ácidos quentes a temperaturas de 55 a 85 °C. Esta arqueia é responsável pela oxidação do enxofre na produção de ácido sulfúrico e pela existência de bactérias oxidantes de enxofre (3). Ele serve como um organismo modelo para o filo Crenarchaeota e é usado em muitos estudos sobre a biologia dos arqueias.

Características Biológicas

As células deste organismo (Figura 1) são ligeiramente irregulares e apresentam lóbulos, o que justifica em parte o nome do gênero. As células apresentam um diâmetro entre 0.8 e 1 µm, com pouca variação de tamanho. Crescem sob condições estritamente aeróbicas, nem substratos orgânicos complexos, incluindo extrato de levedura, triptona e casaminoácidos, uma ampla gama de aminoácidos e um número limitado de açúcares (fontes de carbono).

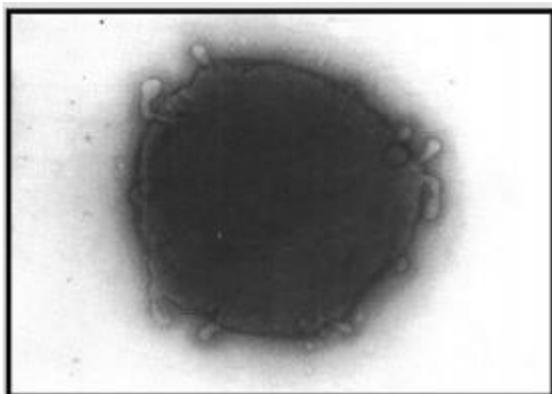


Figura 1 - *S. acidocaldarius* tratada com hidrocloreto de guanidina a 6 M. Fonte: (8).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Sulfolobus acidocaldarius*.

Reino	<i>Archaea</i>
Filo	<i>Crenarchaeota</i>
Classe	<i>Thermoprotei</i>
Ordem	<i>Sulfolobales</i>
Família	<i>Sulfolobaceae</i>
Gênero	<i>Sulfolobus</i>
Espécie	<i>S. acidocaldarius</i>

Fonte: (10).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

É um organismo autotrófico facultativo. Quando cresce autotroficamente, este organismo oxida enxofre elementar (codifica a enzima para metabolizar o enxofre, que produz ácido sulfúrico a partir do sulfeto de hidrogênio), convertendo-o em sulfato, ao mesmo tempo em que fixa carbono proveniente de dióxido de carbono em carbono orgânico. Tem tempo de duplicação de 36.8 a 55.3h quando o crescimento ocorre na presença de enxofre. Esta espécie também pode crescer em um meio complexo de substratos biológicos. Ao crescer em 0,1% de extrato de levedura, o crescimento é mais rápido do que quando o crescimento é autotrófico, e a duplicação ocorre entre 6.5 e 8h. Para ocupar um ambiente tão extremo com eficiência, possui características únicas que lhes permitem viver em fontes quentes e ácidas. Eles são capazes da correção direta de danos no DNA através do reparo de excisão de bases, reparo de excisão de nucleotídeos e reparo da quebra de fita dupla (1). A *S. acidocaldarius* tem uma distribuição de meia-vida de mRNA bastante curta, semelhante



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

à das bactérias de rápido crescimento, que atende à necessidade de reprogramar rapidamente a expressão gênica após mudanças repentinas no ambiente (4). Além disso, o organismo carrega um aparelho para reparo por excisão de dano ultravioleta em seu genoma, a endonuclease de dano UV (1). É observada também, a motilidade para longe de pontos muito quentes e letais, mesmo na ausência de fontes de carbono e energia. Essa motilidade sensível à temperatura é um importante mecanismo de sobrevivência exclusivo para *Sulfolobus acidocaldarius* no ambiente hidrotérmico (2). Possui um mecanismo de replicação homólogo ao mecanismo ESCRT encontrado em eucariotas.

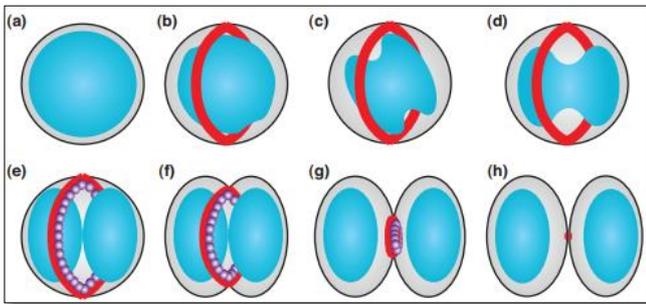


Figura 2 - Modelo especulativo da divisão celular de *Sulfolobus acidocaldarius* (a-h). A CdvA (proteína de interação membranar) forma uma estrutura anelar (em vermelho) envolta do nucleóide (em azul) antes da segregação deste e orienta a separação dos nucleóides (b-d). A maquinária responsável para a separação cromossômica ainda não é identificada. O anel CdvA recruta e facilita a montagem de outras proteínas (lilás) associadas às novas estruturas formadas (e). Em conjunto, vão diminuindo, gradualmente, à medida que a membrana invagina (f-h). Fonte: (9).

Genoma

O genoma circular carrega 2.225.959 bp (37% GC) com 2.292 genes codificadores de proteína. Dos genes codificadores de proteínas, 305 são exclusivos para *S. acidocaldarius* e 866 são específicos para o gênero *Sulfolobus*. Além disso, 82 genes para RNAs não traduzidos foram identificados (1).

Tabela 2 - Genoma referencial da *S. acidocaldarius*.

Genoma	Tamanho (Mb)	GC%	Genes	Ano
DSM 639	2.225.959	37	2374	2005

Fonte: (1).

Aplicações Biotecnológicas

Termófilos extremos sempre foram de grande interesse por causa de suas habilidades termoestáveis. *Sulfolobus acidocaldarius* ajudou nos estudos de proteínas de ligação à cromatina, replicação, ciclo celular, reparo, transcrição, tradução e metabolismo (5). Além disso, sua sensibilidade a uma ampla gama de antibióticos ribossômicos e a facilidade de transformação tornaram *S. acidocaldarius* um foco para estudos genéticos *in vivo*. É o único arquétipo hipertermofílico com taxa de mutação espontânea quantificada *in vivo*. Desperta alto interesse com sua baixa taxa de mutação em ambientes de alta temperatura e com seus sistemas de reparo altamente eficientes (1). Em 2007, uma série de vetores de transferência *Sulfolobus-Escherichia coli* foi construída com sucesso. Os vetores recém-desenvolvidos baseando-se em plasmídeos de transferência *Sulfolobus-Escherichia coli* não integrativos são muito estáveis nos hospedeiros, o que os torna adequados para o uso na expressão de proteínas e estudos de genes. O novo sistema vetorial facilitará os estudos genéticos de *Sulfolobus*, bem como outros usos biotecnológicos, incluindo superexpressão e otimização de enzimas termofílicas que não são expressas adequadamente em hospedeiros mesofílicos (5).

Referências

1. CHEN, L. *et al.* The Genome of *Sulfolobus acidocaldarius*, a Model Organism of the Crenarchaeota. **Journal of Bacteriology**, v. 187, n. 14, p. 4992-4999, 2005. DOI: 10.1128/jb.187.14.4992-4999. Acesso em: 29 set. 2020.



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

https://en.wikipedia.org/wiki/Sulfolobus_acidocaldarius. Acesso em: 22 set. 2020

2. LEWUS, P.; FORD, R. M. Temperature-sensitive motility of *Sulfolobus acidocaldarius* influences population distribution in extreme environments. **Journal of bacteriology**, v. 181, n. 13, p.4020-4025, 1999. DOI: 10.1128/JB.181.13.4020-4025. Acesso em: 29 set. 2020.

3. FLIERMANS, C. B.; BROCK, T. D. Ecology of sulfur-oxidizing bacteria in hot acid soils. **Journal of bacteriology**, v. 111, n. 2, p.343-350, 1972. DOI: 10.1128/JB.111.2.343-350. Acesso em: 29 set. 2020.

4. ANDERSSON, A. F. *et al.* Global analysis of mRNA stability in the archaeon *Sulfolobus*. **Genome Biology**, v. 7, n. 10, p.99-110, 2006. DOI: 10.1186/gb-2006-7-10-r99. Acesso em: 29 set. 2020.

5. BERKNER, S. *et al.* Small multicopy, non-integrative shuttle vectors based on the plasmid pRN1 for *Sulfolobus acidocaldarius* and *Sulfolobus solfataricus*, model organisms of the (cren-)archaea. **Nucleic Acids Research**, v. 35, n. 12, p.88, 2007. Oxford University Press. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkm449>. Acesso em: 29 set. 2020.

6. HÄRTEL, T.; SCHWILLE, P. ESCRT-III mediated cell division in *Sulfolobus acidocaldarius* - a reconstitution perspective. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, p.257, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2014.00257>. Acesso em: 29 set. 2020.

7. HJORT, Karin; BERNANDER, Rolf. Cell cycle regulation in the hyperthermophilic crenarchaeon *Sulfolobus acidocaldarius*. **Molecular Microbiology**, v. 40, n. 1, p.225-234, 2001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02377.x>. Acesso em: 29 set. 2020.

8. WEISS R. L. Subunit cell wall of *Sulfolobus acidocaldarius*. **Journal of bacteriology**, v.118, n. 1, p.275-284, 1974. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JB.118.1.275-284>. Acesso em: 29 set. 2020.

9. SAMSON, Rachel; BELL, Stephen D. Cell cycles and cell division in the archaea. **Current Opinion in Microbiology**, v. 14, n. 3, p.350-356, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2011.04.005>. Acesso em: 29 set. 2020.

10. WIKIPEDIA. *Sulfolobus acidocaldarius*. Disponível em:



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

2.9 *Sulfolobus solfataricus*

A espécie arqueal *Sulfolobus solfataricus* é um microrganismo extremófilo. Foi isolada pela primeira vez nos arredores do vulcão Solfatara (Pisciarelli-Campania, Itália) por dois microbiologistas alemães, Karl Setter e Wolfram Zilling, no ano de 1980 (5, 6).

No ano de 2004, foram identificadas as origens da replicação do DNA deste microrganismo, juntamente com a *Sulfolobus acidocaldarius*. Essa foi a primeira vez em que se mostrou mais de uma origem de replicação do DNA de uma célula procarionte. A partir desse momento, a *S. solfataricus* passou a ser utilizada como modelo de estudo sobre os mecanismos moleculares da replicação de DNA em arqueias (6).

Características Biológicas

A *S. solfataricus* (Figura 1) é um microrganismo procarionte, aeróbio obrigatório, unicelular, de formato esférico e que, com frequência, forma lóbulos (1). A *S. solfataricus* vive em ambientes extremos, assim como todas as espécies do seu gênero. O seu habitat são áreas de atividades vulcânicas, fontes termais e em gêiseres. Por ser termófila e acidófila, sua condição ótima de crescimento é em pH muito baixo (pH entre 2 e 3) e altas temperaturas (75-80°C) (6; 4).

A ordem das *Sulfobales* é conhecida por formar lipídios tetra-éter pouco comuns. Os lipídios ligados ao éter se unem covalentemente através de uma bicamada, formando tetra éteres. Estes tetra-éteres formam uma monocamada que protege o microrganismo das condições extremas do ambiente em que estão (6).

O microrganismo *S. solfataricus* possui um metabolismo flexível (varia entre litoautotrófico e quimioheterotrófico). Obtém a sua energia pela oxidação de enxofre (litoautotrofismo) ou oxida compostos que contém carbono – açúcares, álcoois, compostos aromáticos (na presença de oxigênio) - quimioheterotrofismo (6; 10).

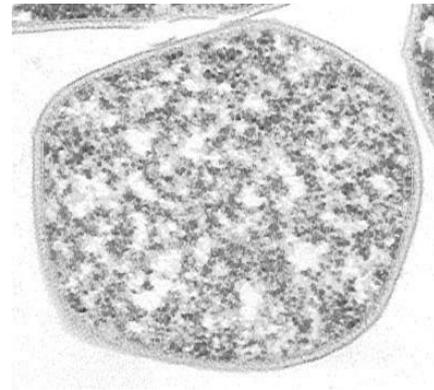


Figura 1 - *Sulfolobus solfataricus*. Fonte: (6).

Taxonomia

Tabela 1 - Descrição taxonômica da *S. solfataricus*.

Domínio	<i>Archaea</i>
Filo	<i>Crenarchaeota</i>
Classe	<i>Thermoprotei</i>
Ordem	<i>Sulfolobales</i>
Família	<i>Sulfolobaceae</i>
Gênero	<i>Sulfolobus</i>
Espécie	<i>S. solfataricus</i>

Fonte: (7).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

Como mencionado na introdução, em 2004 foram identificadas as origens da replicação do DNA da *S. solfataricus* e a, partir desse momento, este microrganismo passou a ser utilizado como modelo de estudo sobre os mecanismos moleculares da replicação de DNA em arqueias. Ademais, uma vez que seu sistema de replicação de DNA é simples, sugeriu-se como um possível modelo de estudo ao complexo sistema de replicação em eucariotes (6).

De acordo com Fröls, S. et al. (2008), a exposição da *S. solfataricus* aos agentes que danam o seu DNA, tais como: radiação UV, bleomicina e mitomicina C, induz a agregação



2. ARQUEÍAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

celular, situação que não é vista perante outros estresses físicos, nomeadamente, a exposição a câmbios no pH ou temperatura. Isto sugere que a indução à agregação de células é causada por danos específicos ao DNA, no entanto, as pesquisas ainda não são esclarecedoras.

Em relação ao ciclo de vida, o tipo de reprodução atribuída à *S. solfataricus* a assexual, por meio da divisão celular (figura 2). Após o nucléolo se dividir, mecanismos genéticos ativam o estrangulamento celular a partir dos polos, gerando duas novas células-filhas idênticas (Figura 3).

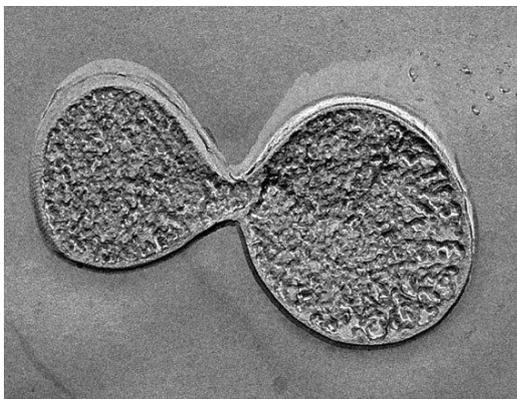


Figura 2 - *S. solfataricus* durante a divisão celular. Fonte: (6).

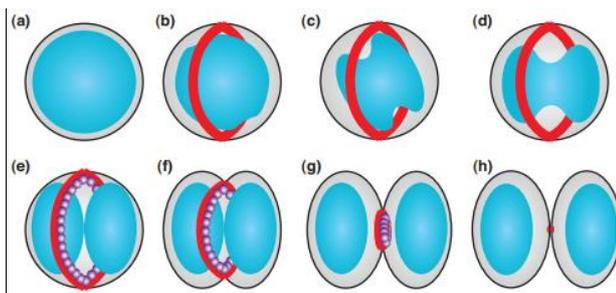


Figura 3. Modelo especulativo da divisão celular de *S. solfataricus* (a-h). A CdvA (proteína de interação membranas) forma uma estrutura anelar (em vermelho) envolta do nucleóide (em azul) antes da segregação deste e orienta a separação dos nucleóides (b-d). A maquinaria responsável para a separação cromossomal ainda não é identificada. O anel CdvA recruta e facilita a montagem de outras proteínas (lilás) associadas às novas estruturas formadas (e). Em conjunto,

vão diminuindo, gradualmente, à medida que a membrana invagina (f-h). Fonte: (9).

Genoma

Tabela 2 - Informações genômicas da *S. solfataricus*.

Genoma	Tamanho (Mb)	Nº genes	GC%	Nº proteínas
SSOP1	3,03	3,279	35,8	2,894

Fonte: (7).

Aplicações Biotecnológicas

A *Sulfolobus solfataricus* possui enzimas que são de interesse biotecnológico para várias indústrias (6). As aminopeptidases e as esterases, como a serine arylesterase, uma nova enzima descoberta nesta arqueia, são termoestáveis (não se degradam a altas temperaturas) e, por isso, as indústrias de alimento, têxtil e de papel têm interesse, visto que elas são fáceis de cultivar, estabilizar e importantes em acelerar reações-chave (2).

Novos estudos também apontam uma crescente importância às vesículas membranares do microrganismo, devido à presença de agentes com propriedades antimicrobicas (8).

Referências

1. BROCK, T. D. *et al.* Sulfolobus: a new genus of sulfur-oxidizing bacteria living at low pH and high temperature. **Archiv für Mikrobiologie**. v. 84, p. 54-68, 1972. DOI:10.1007/bf00408082. Acesso em: 6 maio 2020.
2. DANIEL, R. M. A correlation between protein thermostability and resistance to proteolysis. **Biochemical Journal**. v. 207, p. 641-644, 1982. DOI:10.1042/bj2070641. Acesso em: 6 maio 2020.
3. FRÖLS, S. *et al.* UV- inducible cellular aggregation of the hyperthermophilic archaeon *Sulfolobus solfataricus* is mediated by pili formation. **Molecular Microbiology**. v.70, p. 938-952, 2008. DOI:10.1111/j.1365-2958. Acesso em: 6 maio 2020.
4. GROGAN, D. W. Phenotypic characterization of the archeobacterial genus *Sulfolobus*: comparison



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

- of five wild-type strains. **Journal of Bacteriology**. v. 171, p. 6710-6719, 1989. DOI:10.1128/jb.171.12.6710-6719. Acesso em: 6 maio 2020.
5. INTERCEPT. **Where was *Sulfolobus solfataricus* first found?** Disponível em: <http://intercept.cnrs.fr/where-was-sulfolobus-solfataricus-first-found/>. Acesso em: 6 maio 2020.
 6. MAHAJAN, G. *Sulfolobus solfataricus*. **Alchetron**. 2018. Disponível em: <https://alchetron.com/Sulfolobus>. Acesso a 6 maio 2020.
 7. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *Sulfolobus solfataricus*. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browse/r/wwwtax.cgi>. Acesso em: 6 maio 2020.
 8. QUEHENBERGER, J. *Sulfolobus* – A potencial key organism in future biotechnology. **Frontiers in Microbiology**. v. 8, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02474>. Acesso em: 6 maio 2020.
 9. SAMSON, R. Y.; BELL, S. D. Cell cycles and cell division in the archaea. **Current Opinion in Microbiology**. v.14, p.350-356, 2011. DOI: 10.1016/j.mib.2011.04.005. Acesso em: 6 maio 2020.
 10. ULAS, T. *et al.* Genome-scale reconstruction and analysis of the metabolic network in the hyperthermophilic archaeon *Sulfolobus solfataricus*. **PLOS ONE**. v. 7, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0043401. Acesso em: 6 maio 2020.



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

2.10 *Thermoplasma acidophilum*

A *Thermoplasma acidophilum* foi isolada, pela primeira vez, em 1960, de uma região térmica e ácida de uma pilha de carvão no estado de Indiana, nos Estados Unidos. Normalmente, é encontrada em fontes termais e campos de solfatara (grande camada de enxofre depositada pelos vapores que saem de vulcões em repouso) (11). Já foi encontrada, junto a outros organismos extremófilos, no Rio Tinto, localizado na Espanha (8).

Características biológicas

É unicelular, anucleada, não possui parede celular rígida (1) (5), porém é delimitada por uma membrana de camada tripla, com espessura de 5 a 10 nm (5). A *T. acidophilum* (Figura 1) é pleomórfica, ou seja, sua forma vai depender das condições e do estágio de crescimento. As células podem ser móveis, utilizando flagelo monotríqueom (5). O tamanho de cada célula varia de 0,1 a 5,0 μm (5) (7). Trata-se de um microrganismo termófilo, podendo crescer em ambientes quentes com temperaturas entre 45 e 63°C (demonstra um ótimo crescimento em temperatura próxima a 55°C). Além disso, está entre os organismos mais acidófilos conhecidos e se desenvolve em ambientes com uma faixa de pH de 0,5 a 4 (o pH ótimo fica próximo de 2,0 e, em pH neutro, *T. acidophilum* sofre lise) (5)(7)(11).

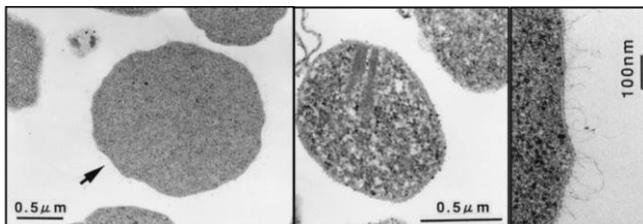


Figura 1 - Micrografia eletrônica de isolados de *Thermoplasma acidophilum*. Fonte: (15).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Thermoplasma acidophilum*.

Filo	<i>Euryarchaeota</i>
Classe	<i>Thermoplasmata</i>
Ordem	<i>Thermoplasmatales</i>
Família	<i>Thermoplasmataceae</i>
Gênero	<i>Thermoplasma</i>
Espécie	<i>Thermoplasma acidophilum</i>

Fonte: (7).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

Muitas pesquisas que sugerem forte relação evolutiva de *T. acidophilum* com o reino *Eukaryota* baseiam-se em estudos do proteossoma dessa arqueia (Figura 2) (2). Foi possível entender a organização do proteossoma eucariótico, a partir da estrutura de *T. acidophilum* (3).

Segundo Puhler *et al.* (1992), os proteossomas de *T. acidophilum* e de eucariotos são quase idênticos. Enquanto o proteossoma de eucariotos é composto de 10 a 20 diferentes subunidades, o da arqueia possui apenas subunidades α e β (9) (16). Devido ao fato de existir conservação da estrutura da enzima há, também, conservação da função dela, por isso, os proteossomas dessa arqueia desempenham praticamente os mesmos papéis dos proteossomas eucarióticos (2).

Com relação ao ciclo de vida, de acordo com algumas pesquisas, arqueobactérias pertencentes ao filo *Euryarchaeota*, como *T. acidophilum*, codificam proteínas FtsZ (em vermelho), responsáveis pela divisão celular, o que sugere que a *T. acidophilum* possa se reproduzir por fissão binária (Figura 3) (6). Porém, outras publicações sugerem que alguns filamentos presentes nos microrganismos do



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

gênero *Thermoplasma* fazem com que se reproduzam por brotamento (1) (5). Ainda por ser um dos organismos mais acidófilos conhecidos, muitas pesquisas são conduzidas em torno de suas proteínas, já que a maioria das proteínas “comuns” desnaturam em altas temperaturas e baixos níveis de pH (7)(11).

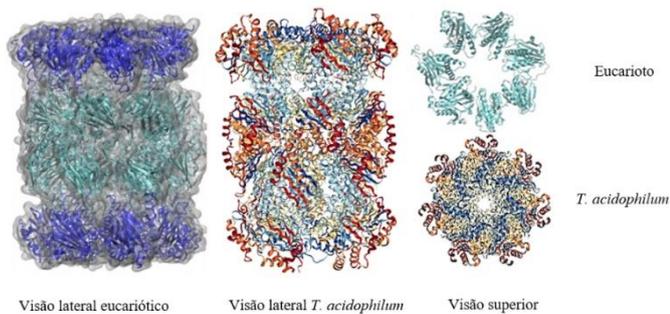


Figura 2 - Comparação entre proteossomas de eucariotos e de *T. acidophilum*. Fonte: (4)(11).

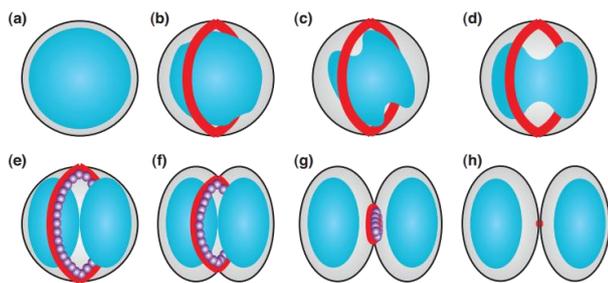


Figura 3 - Ciclo de vida por fissão binária representativo da *Thermoplasma acidophilum* (a-h). A FtsZ (proteína de interação membranas) forma uma estrutura anelar (em vermelho) envolta do nucleóide (em azul) antes da segregação deste e orienta a separação dos nucleóides (b-d). A maquinaria responsável para a separação cromossomal ainda não é identificada. O anel FtsZ recruta e facilita a montagem de outras proteínas (lilás) associadas às novas estruturas formadas (e). Em conjunto, vão diminuindo, gradualmente, à medida que a membrana invagina (f-h). Fonte: (12).

Genoma

O genoma de *T. acidophilum* foi sequenciado, em 2015, e pode ser acessado na plataforma em NCBI Nucleotide database por

meio da identificação AL139299.1 (7). Anteriormente, acreditava-se que o microrganismo pertencesse ao domínio *Eukaryota*, já que pesquisas sugerem forte relação evolutiva com os eucariotos. Essa arqueia possui 1564 kb, o que a classifica como um dos microrganismos com menor genoma sequenciado. Apesar disso, possui informação para sintetizar 68 proteínas que não aparecem em nenhum outro microrganismo semelhante (11).

Tabela 2 - Genoma da *Thermoplasma acidophilum*.

Genoma	Tamanho (Mb)	GC%	Nº de proteínas	Nº de genes	Ano
Circular	1,56	46	1521	1590	2015

Fonte: (7).

Aplicações Biotecnológicas

As aplicações biotecnológicas da arqueia *thermoplasma acidophilum* concentram-se nas pesquisas a nível molecular nas áreas medicinal e farmacêutica. Devido a organização do proteossoma de *T. acidophilum* ser quase idêntica ao dos organismos eucariontes (2), como já mencionado, foi possível o estudo dos mecanismos proteolíticos de enzimas eucarióticas relevantes à saúde humana, através do proteossoma “modelo” desta arqueia (17), uma vez que ambos os proteossomas desempenham funções similares (2).

Os proteossomas de alguns eucariontes estão envolvidos com a regulação proteica em algumas enfermidades. Entender os mecanismos químicos dessas enzimas possibilita a compreensão de doenças causadas por mutações no proteossoma, como: fibrose cística, síndrome de Angelman, doença de Parkinson, síndrome de Liddle e, inclusive, alguns tipos de câncer (13). A desregulação desse sistema enzimático pode influenciar positivamente na progressão de tumores, na resistência a fármacos e no sistema imune debilitado. Assim, novas terapias podem surgir com base nos estudos de proteossoma da arqueia *thermoplasma acidophilum*.



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Referências

1. AMERICAN TYPE CULTURE COLLECTION (ATCC). *Thermoplasma acidophilum* (ATCC® 25905™). Disponível em: <https://www.atcc.org/search#q=thermoplasma%20acidophilum&sort=relevancy>. Acesso em: 26 mar. 2020.
2. DAHLMANN, Burkhardt. *et al.* Biochemical properties of the proteasome from *Thermoplasma acidophilum*. **FEBS**. v. 208, n. 3, p. 789-797, 1992. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1432-1033.1992.tb17249.x>. Acesso em: 24 set. 2019.
3. HEDGE, Ashok N. Ubiquitin-Dependent Protein Degradation. In: LIU, Hung-Wen (Ben); MANDER, Lew. **Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology**. 1 ed. Reino Unido: Elsevier Ltd, 2010. p. 711. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-008045382-8.00697-3>. Acesso em: 26 mar. 2020.
4. HODOŠČEK, Milan; ELGHOBASHI-MEINHARDT, Nadia. Insight into Inhibitor Binding in the Eukaryotic Proteasome: Computations of the 20S CP. **International Journal of Molecular Sciences**, Berlim, v. 19, n. 12, p. 1-18, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms19123858>. Acesso em: 01 out. 2019.
5. LANGWORTHY, Thomas A. *Thermoplasma*. In: WHITMAN, William B. **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**. 1 ed. Nova Jersey: John Wiley & Sons, Inc, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00524>. Acesso em: 26 mar. 2020.
6. MIYAGISHIMA, Shin-ya. *et al.* FtsZ-less prokaryotic cell division as well as FtsZ- and dynamin-less chloroplast and non-photosynthetic plastid division. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. 459, p. 1-13, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00459>. Acesso em: 26 mar. 2020.
7. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI). *Thermoplasma acidophilum*. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Thermoplasma+acidophilum>. Acesso em: 24 set. 2019.
8. PILLING, Sergio. **Astrobiologia: Extremófilos** (tipos, propriedades, zona de habitabilidade extrema). Disponível em: https://www1.univap.br/spilling/AB/Aula_16%20Extremofilos.pdf. Acesso em: 24 set. 2019.
9. PUHLER, Gabriela. *et al.* Subunit stoichiometry and three-dimensional arrangement in proteasomes from *Thermoplasma acidophilum*. **The EMBO Journal**, v. 11, n. 4, p. 1607-1616, 1992. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1373380>. Acesso em: 30 set. 2019.
10. RCSB, PROTEIN DATA BASE. *Thermoplasma acidophilum* 20S proteasome. Disponível em: <https://www.rcsb.org/3d-view/3J9I>. Acesso em: 01 out. 2019.
11. RUEPP, Andreas. *et al.* The genome sequence of the thermoacidophilic scavenger *Thermoplasma acidophilum*. **Nature**, v. 407, n. 6803, p. 508-513, 2000. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1038/35035069>. Acesso em: 24 set. 2019.
12. SAMSON, Rachel; BELL, Stephen. Cell cycles and cell division in the archaea. **Current Opinion in Microbiology**, v. 14, n. 3, p. 350-356, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.04.005>. Acesso em: 30 mar. 2020.
13. VOGES, D., ZWICKL, P., BAUMEISTER, W. The 26S proteasome: A molecular machine designed for controlled proteolysis. **Annu. Rev. Biochem.** v. 68, p. 1015-1068, 1999. DOI: [10.1146/annurev.biochem.68.1.101](https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.68.1.101). Acesso em: 30 mar. 2020.



2. ARQUÉIAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

14. WANG, Xunde; LUTKENHAUS, Joe. FtsZ ring: the eubacterial division apparatus conserved in archaeobacteria. **Molecular Microbiology**, USA, v. 21, n. 2, p. 313-319, 1996. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2958.1996.6421360.x>. Acesso em: 26 mar. 2020.
15. YASUDA, Moriyoshi. *et al.* Morphological Variation of New *Thermoplasma acidophilum* Isolates from Japanese Hot Springs. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 9, p. 3482-3485, 1995. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7574659>. Acesso em: 24 set. 2019.
16. ZWICKL, P.; LOTTSPPEICH, F.; BAUMEISTER, W. Expression of functional *Thermoplasma acidophilum* proteasomes in *Escherichia coli*. **FEBS**, Martinsried, v. 312, n. 2,3, p. 157-160, 1992. Disponível em: [https://dx.doi.org/10.1016/0014-5793\(92\)80925-7](https://dx.doi.org/10.1016/0014-5793(92)80925-7). Acesso em: 24 set. 2019.
17. ZWICKL, P. *et al.* An archaeobacterial ATPase, homologous to ATPases in the eukaryotic 26 S proteasome, activates protein breakdown by 20 S proteasomes. **J. Biol. Chem.** v. 274, n.37, p. 26008-14. 1999. DOI: 10.1074/jbc.274.37.26008.1999. Acesso em: 30 mar. 2020.

Reino Protista (Microalgas)

Os Protistas representam um grupo de organismos eucarióticos unicelulares muito diversificado, e vagamente conectados filogeneticamente entre si, que não se enquadram como plantas, fungos ou animais. Não há uma característica única, como história evolutiva ou morfologia comum a todos esses organismos, e eles estão, extraoficialmente, posicionados sob um Reino separado chamado Protista (ou Protoctista). Portanto, o Reino Protista não constitui uma classificação formal, e diferentes membros mostram vários graus de homologia, com base em sequenciamento de DNA, com espécies pertencentes a organismos de todos os cinco Reinos eucarióticos. No entanto, ainda é usado como um termo de conveniência para descrever os primeiros microrganismos eucarióticos. É composto exclusivamente por organismos com um núcleo totalmente definido, com estrutura celular complexa, mas sem organização em nível de tecido, incluindo um número notável e uma variedade de organismos vivos que superam em muito o número de bactérias e vírus em sua diversidade de espécies. Estima-se que haja quase três vezes mais protistas desconhecidos do que aqueles que foram descritos. A sua diversidade funcional e a natureza cosmopolita dos nichos que ocupam – de fontes geotermiais do oceano profundo a calotas polares árticas, de piscinas a intestinos de mosquitos – tornam-nos fundamentais para a conservação e manutenção da biodiversidade, bem como candidatos potenciais para estudo e desenvolvimento de novas biotecnologias. Apresentam uma grande variedade de hábitos alimentares, ciclos reprodutivos e modos de locomoção. Alguns são autótrofos, utilizando pigmentos para aproveitar a energia solar e convertê-la em carboidratos simples, enquanto outros são heterótrofos, como a ameba, e consomem outros organismos como alimento. Protistas autotróficos e não móveis costumam ser considerados algas, embora não tenham níveis mais altos de organização tecidual. Estima-se que os membros desse grupo contribuam com quase 40% da atividade fotossintética da Terra e, em particular, as algas (fitoplâncton) representam as grandes responsáveis por produzir a maior parte do oxigênio disponível no planeta – um subproduto da fotossíntese. Alguns protistas são heterotróficos e móveis, comumente reportados como protozoários. Eles são classificados com base em seu modo de locomoção. Alguns, como a ameba, usam pseudópodes ou "pés falsos", enquanto outros usam flagelos ou cílios. Esses protistas de vida livre estão entre os maiores consumidores de bactérias e contribuem para a diversidade de espécies em muitos ecossistemas.

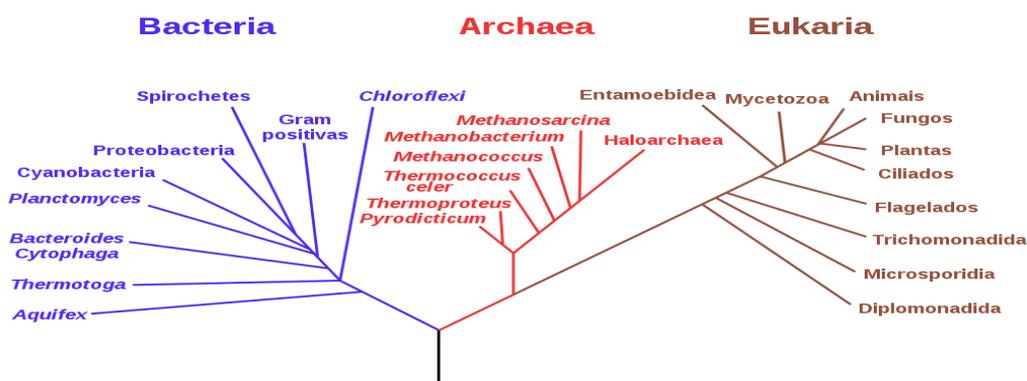


Figura 1. Árvore filogenética baseada na análise do rRNA, proposta por Carl Woese e George E. Fox (1977), mostrando a separação dos grandes grupos biológicos: Bacteria, Archaea e Eukarya. O Domínio Eukaria, que abriga o Reino Protista, encontra-se representado em marrom.

Referências

WOESE, Carl R.; FOX, George E. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 74, n. 11, p.5088-5090, 1977. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/74/11/5088>. Acesso em: 01 dez 2020. DOI: 10.1073/pnas.74.11.5088.



Índice

- 3.1 *Botryococcus braunii*
- 3.2 *Chlorella vulgaris*
- 3.3 *Cyanidioschyzon merolae*
- 3.4 *Dunaliella salina*
- 3.5 *Euglena gracilis*
- 3.6 *Galdieria sulfuraria*
- 3.7 *Haematococcus pluvialis*
- 3.8 *Neochloris oleabundans*

3.1 *Botryococcus braunii*

Botryococcus braunii é uma microalga planctônica verde que tem sido amplamente estudada, sendo de grande interesse no campo da biotecnologia, devido a sua habilidade em produzir grandes quantidades de hidrocarbonetos de cadeia longa e lipídios etéreos extracelulares, similares ao petróleo bruto (7)(4). Ademais, pesquisas evidenciam que este organismo e seus parentes ancestrais colaboraram para a formação de reservas de petróleo desde o período Ordoviciano (6).

Das dezessete espécies reconhecidas do gênero *Botryococcus*, a *B. braunii* é a mais estudada. Suas estirpes se diferem nos tipos de hidrocarbonetos que sintetizam, sendo então classificadas em quatro raças (Tabela 2). Entre elas, a espécie da raça B é a que se destaca porque tem a capacidade de acumular até 86% de botriococenos de peso seco e metilesqualenos; ambas as moléculas facilmente convertidas em biocombustível (4).

Características Biológicas

Botryococcus braunii (Figura 1) é uma microalga verde eucarionte, unicelular e planctônica. Com formato oval, vive maioritariamente em colônias cobertas por uma

matriz lipídica (Figura 2) que confere às células com alta resistência a condições adversas de temperatura e umidade (12). Esta matriz modela-se numa estrutura oval flexível apta a reservar os hidrocarbonetos produzidos por cada célula. Cada nova célula, oriunda de uma divisão celular, ao começar a secretar celulose e pectina, forma uma nova “bolsa” que se encaixa na matriz e que vai armazenando os hidrocarbonetos produzidos (3).

A parede celular desta microalga é feita de hidrocarbonetos usados para classificar as diferentes estirpes existentes (Tabela 1). Estes biopolímeros contidos são resistentes à degradação química na ausência de oxigênio e esta qualidade deve-se aos ácidos graxos de cadeias longas, em sua maioria ácido oleico (5).

Em se tratando do habitat da *B. braunii*, esta microalga é encontrada em águas doces, lagoas e também já foi vista em salinas. Possui uma boa condição de crescimento a 23°C, é fotossintética com necessidade de fotoperíodo de 12h/dia (9).



Figura 1 - *Botryococcus braunii*. Fonte: (9).



Tabela 1 - Tipos de hidrocarbonetos segundo as quatro raças de *Botryococcus braunii*.

Raça	Hidrocarboneto
A	Hidrocarbono n-alcadieno e trieno, número ímpar de carbono entre C ₂₃ e C ₃₃
B	Hidrocarbonos triterpenóides, Botryocosenos C30-C37 e escaleno metilado em C34
L	Hidrocarbonos tetraterpenóides e lycopadieno
S	Cadeias epóxi-n-alcano e n-alcano saturado, com 18 e 30 carbonos, respectivamente.

Fonte: (4) Adaptado.



Figura 2 - Colônia de *B. braunii* BOT-22 mostra as células embebidas numa matriz orgânica. A colônia está sendo comprimida pelas gotículas de hidrocarbonetos da matriz, o que leva ao afastamento de algumas das células. Fonte: (4).

Taxonomia

Tabela 2 - Classificação taxonômica da *Botryococcus braunii*.

Filo	Chlorophyta
Classe	<i>Trebouxiophyceae</i>
Ordem	<i>Trebouxiales</i>
Família	<i>Botryococcaceae</i>
Gênero	<i>Botryococcus</i>
Espécie	<i>B. braunii</i>

Fonte: (2) Adaptado.

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

Segundo Borowitzka (2018, p. 52), o ciclo de vida de *Botryococcus* é pouco conhecido. A Reprodução sexual nunca foi reportada e a reprodução vegetativa dá-se por autósporos. Suzuki *et al.* (2013, p. 4) descreveram a fissão binária desta microalga e mudanças de algumas estruturas em diferentes fases. Durante a divisão celular, num primeiro momento, ocorre a divisão mitótica das organelas e do núcleo. Em seguida, forma-se o septo e a célula-mãe divide-se, dando lugar a duas novas células idênticas. Uma vez geradas as células-filhas, ocorre a formação de parede celular ao redor das mesmas e acumulação de lipídios na superfície celular.

Ademais, Suzuki *et al.* (2013, p. 5) mencionam que as bolsas lipídicas mudam drasticamente em dois estágios específicos do ciclo celular da microalga *B. braunii*. A primeira mudança, na qual o número e o tamanho destas bolsas aumentam, deu-se desde o estágio de crescimento até após a formação do septo. Por sua vez, a segunda grande mudança, na qual estas bolsas foram “reformadas”, aconteceu



desde a maturação das células-filhas até depois da nova acumulação de lipídios na superfície celular.

Genoma

Tabela 2 - Genoma da *Botryococcus braunii*.

Genoma	Tamanho (Mb)	GC%
Inespecífico	184,38	50,8

Fonte: (8).

Aplicações biotecnológicas

B. braunii tem sido, ultimamente, considerada uma potencial fonte alternativa de biodiesel devido ao alto armazenamento de lipídios e uma vez que, com isso, pode gerar elevadas quantidades de óleo. Esta alternativa “verde” se destaca também por não competir por espaço em terras de cultivo (10).

Ademais, também é modelo para melhorias genéticas no sentido de aumentar a capacidade de produção de coprodutos de alto valor agregado que seriam derivados do petróleo. Seus hidrocarbonetos se assemelham em 90% ao petróleo em nível de eficiência (10).

Outrossim, como já mencionado, *B. braunii* produz escaleno. Este composto, presente no fígado de tubarões, é utilizado para proteger as células, reduzindo os efeitos da quimioterapia. Portanto, a microalga *Botryococcus braunii* pode se tornar uma alternativa a este produto farmacêutico (1).

Referências

1. AMERICAN CANCER SOCIETY. **Pharmacological and Biological Treatment: Shark Liver Oil**. 2008. Disponível em: <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/complementary-and-alternative-medicine.html>. Acesso em: 1 abr. 2020.
2. ALGAE BASE. *Botryococcus braunii* Kützing 1849. Disponível em: https://www.algaebase.org/search/species/detail/?tc=accept&species_id=27992. Acesso em: 16 jun. 2020.
3. ALGAL OIL YIELDS. **Yield Data for Oil from Algae Strains, Algae Species with High Oil Yields**. 2009. Disponível em: <http://www.oilgae.com/algae/oil/yield/yield.html>. Acesso em: 1 abr 2020.
4. BOROWITZKA, Michael A. Cap 3: Biology of Microalgae. In: LEVINE, Ira *et al.* **Microalgae in Health and Disease Prevention**. [s.l]: Academic Press, 2018. p. 23-72. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811405-6.00003-7>. Acesso em: 1 abr 2020.
5. BOROWITZKA, M. A.; HOHEIMANI, N.R. Algal Lipids and their Metabolism. **Algae for Biofuels and Energy**. 2013. p. 24. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-007-5479-9_2 Acesso em: 1 abr. 2020.
6. JOINT GENOME INSTITUTE. **Our Projects: Why sequence Botryococcus braunii?**. 2010. Disponível em: <https://jgi.doe.gov/why-sequence-botryococcus-braunii/> Acesso em: 1 abr. 2020.
7. METZGER, P.; LARGEAU, C. *Botryococcus braunii*: a rich source for hydrocarbons and related ether lipids. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 2005. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00253-004-1779-z> Acesso em: 1 abr. 2020.
8. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *Botryococcus braunii*. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Botryococcus+braunii>. Acesso em: 16 jun. 2020.
9. QIN, Jian. Bio-Hydrocarbons from Algae: Impacts of temperature, light and salinity on algae growth. **Rural Industries Research and**



- Development Corporation.** 2005. Disponível em:
<https://web.archive.org/web/20110715112007/https://rirdc.infoservices.com.au/downloads/05-025.pdf>. Acesso em: 1 abr 2020.
10. RAMARAJ, R. *et al.* Direct Transesterification of Microalga *Botryococcus braunii*. Biomass for Biodiesel Production. **Emer Life Sci Res.** 2016. Disponível em:
https://www.researchgate.net/publication/305046617_Emer_Life_Sci_Res_2016_22_1-7_Direct_Transesterification_of_Microalga_Botryococcus_braunii_Biomass_for_Biodiesel_Production. Acesso em: 25 out. 2019.
11. SUZUKI, R. *et al.* Transformation of lipid bodies related to hydrocarbon accumulation in a green alga, *Botryococcus braunii* (race B). **PLoS ONE.** v. 8, n.12. DOI: 10.1371/journal.pone.0081626. Acesso em: 16 jun. 2020.
12. WEISS, T. L. *et al.* Colony Organization in the Green Alga *Botryococcus braunii* (Race B) Is Specified by a Complex Extracellular Matrix. **American Society for Microbiology: Eukaryotic Cell.** 2012. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22941913>
Acesso em: 1 abr. 2020.



3.2 *Chlorella vulgaris*

Esta microalga unicelular fora descoberta, em 1890, por Martinus Willem Beijerinck como a primeira microalga com um núcleo bem definido. No início da década de 1990, cientistas alemães notaram o alto teor de proteína de *C. vulgaris* e começaram a considerá-la como uma nova fonte de alimento. O Japão é, atualmente, o maior consumidor de *Chlorella*. Microalgas, incluindo diatomáceas e algas verdes, em conjunto com cianobactérias, foram estudadas durante mais de um século (3). O uso desses micróbios fotossintéticos tem várias vantagens sobre plantas superiores por causa de sua taxa mais rápida de crescimento, maior produtividade de biomassa, a falta de concorrência com as culturas de terras aráveis, além da capacidade de crescimento sustentável com recursos marginais. Em 2002, fora também descoberto que *C. vulgaris* produz vitamina B12, embora fosse identificado em 2015, que está na forma de metil cobalamina (6), seria mais fácil de ser assimilada por seres humanos.

Características Biológicas

A *Chlorella vulgaris* (Figura 1) se apresenta como uma alga verde eucariótica e unicelular, esférica, com tamanho de 5-10µm. Fotolitoautotrófica, heterotrófica ou mixotrófica capaz de crescer rapidamente chegando a cada 20 a 24 horas quadruplicar seus números. Devido ao seu alto nível de proteína e minerais é usado para produzir diversos produtos alimentícios, seja para suplementação humana em forma de cápsulas e desidratado ou até em rações para animais. Assim como muitas algas, *C. vulgaris* produz lipídios através da fotossíntese. Isso faz destes organismos uma fonte viável de biocombustível por deter um conteúdo lipídico

por biomassa de aproximadamente 42%, muito maior que a soja, cana-de-açúcar e milho. Possui parede celular digerível por enzima, diferente de outras algas verdes. *C. vulgaris* é um pouco versátil quanto à fixação de carbono (7).

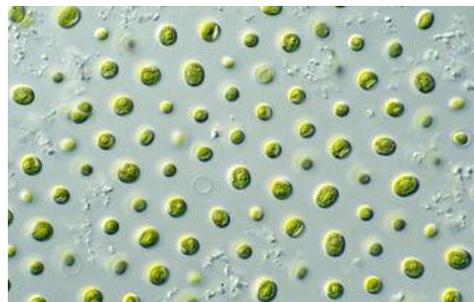


Figura 1 - *Chlorella vulgaris* vista em microscópio. Fonte: (12).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Chlorella vulgaris*.

Filo	<i>Chlorophyta</i>
Classe	<i>Trebouxiophyceae</i>
Ordem	<i>Chlorellales</i>
Família	<i>Chlorellaceae</i>
Gênero:	<i>Chlorella</i>
Espécie:	<i>C. vulgaris</i>

Fonte: (8) Adaptado.

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

O cloroplasto de *C. vulgaris* fora sequenciado por Wakasugi e seu time, em 1997, e estes observaram a existência de genes possivelmente envolvidos na divisão de cloroplastos, tendo então sua atividade fotossintética expandida (11). Tal é sua atividade fotossintética que empresas como a *Hypergiant Industries* estão vendendo fotobiorreatores de microalgas com, segundo



3. MICROALGAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

sua propaganda, 400 vezes maior assimilação por volume que uma árvore poderia (5).

Michela Cecchin *et al.* sequenciaram o genoma de *C. vulgaris* e estudaram o transcriptoma para qualificá-lo em suas atribuições (fig. 4), observando características tais como: DNA mitocondrial grande como o das plantas, genes para mobilidade e pseudogene de plastídio presente no DNA da mitocôndria sugerindo transferência horizontal, sendo este último previamente só encontrado em plantas (2).

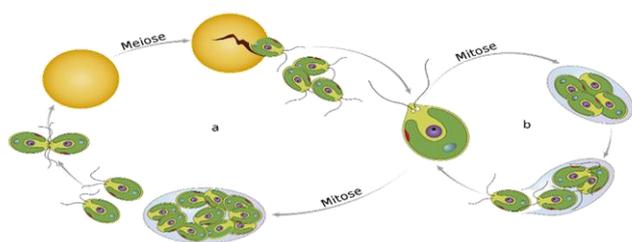


Figura 2 - Ciclo de vida sexuada (a) e assexuada (b) de *Chlorella* SP. Ilustração: Aldona Griskeviciene / Shutterstock.com. Fonte: (10).

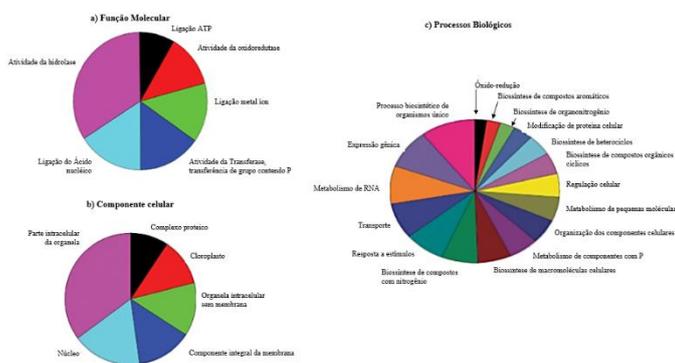


Figura 3 - Classificação de Ontologia genética (GO) de genes 211/11P de *Chlorella vulgaris* anotados. Transcrições de *Chlorella vulgaris* anotadas usando o programa blast2Go foram agrupadas funcionalmente com base nos termos GO 'func-tion molecular' (a), 'componente celular' (b) e 'processo biológico' (c). A distribuição dos diferentes grupos é relatada com base na pontuação do nó associado a cada grupo,

considerando termo GO com pontuação de nó superior a 1%. Fonte: (2).

Genoma

Tabela 2 - Genoma referencial da *Chlorella vulgaris*.

Genoma	Tamanho (Mb)	GC %	Nº de genes	Ano
16 cromossomos	40	56,1	10.724	1997

Fonte: (14).

Aplicações Biotecnológicas

Biocombustíveis: *C. vulgaris* é visto como uma fonte promissora de bioenergia. Pode ser uma boa alternativa às culturas de biocombustíveis como: soja, milho ou colza, pois é mais produtiva e não compete com a produção de alimentos. Pode produzir uma grande quantidade de lipídios (5-40% da massa seca), até 20 vezes mais do que as culturas que têm um perfil adequado para a produção de biodiesel. Esta microalga também contém grandes quantidades de amido (12-55% de peso seco), bom para a produção de bioetanol (1). Não apenas isto, mas *C. vulgaris* vem sendo utilizada em processos industriais para a formação de hidrogênio e metano (9)(12), como será relatado a seguir.

Nutricionais: O teor de proteínas de *C. vulgaris* varia de 42 a 58% de seu peso seco de biomassa. Essas proteínas são consideradas como tendo uma boa qualidade nutricional em comparação com o perfil padrão para nutrição humana da Organização Mundial da Saúde e da Organização da Alimentação e Agricultura, já que as algas sintetizam aminoácidos (1).

Ambientais: Microalgas verdes podem crescer em águas residuais rapidamente e absorver compostos contendo nitrogênio e fósforo do meio ambiente. É importante



ressaltar que a biomassa de algas produzida através de tal processo pode ser usada como matéria-prima na produção de biocombustíveis e para uma série de subprodutos como: medicamentos, alimentos, nutrição, fertilizantes e suplementos de ração animal e peixes. Ao todo, o tratamento de águas residuais por microalgas parece ser eficiente tanto para a reciclagem de biomassa quanto para a proteção ambiental da indústria suína (13). Fora também observado que *C. vulgaris* tem potencial para reduzir nanopartículas de níquel, um poluente danoso (4).

Referências

1. ANJOS, M. *et al.* Optimization of CO₂ bio-mitigation by *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 139, p. 149–154, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.04.032>. Acesso em: 4 nov. 2019
2. CECCHIN, M. *et al.* *Chlorella vulgaris* genome assembly and annotation reveals the molecular basis for metabolic acclimation to high light conditions. **The Plant Journal**, [s. l.], p. 1–17, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/tpj.14508>. Acesso em: 4 nov. 2019.
3. FU, W. *et al.* Advances in microalgal research and engineering development. **Current Opinion in Biotechnology**, [s. l.], v. 59, p. 157–164, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.05.013>. Acesso em: 4 nov. 2019
4. GONG, N. *et al.* Biototoxicity of nickel oxide nanoparticles and bio-remediation by microalgae *Chlorella vulgaris*. **Chemosphere**, [s. l.], v. 83, n. 4, p. 510–516, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.12.059>. Acesso em: 4 nov. 2019
5. HERBACEOUS PLANT EXTRACTS. **Bioreactor absorbs CO₂ 400x more effectively than trees.** Disponível em: <https://newatlas.com/environment/algae-fueled-bioreactor-carbon-sequestration/>. Acesso em: 4 nov. 2019
6. KUMUDHA, A. *et al.* Methylcobalamin - A form of vitamin B12 identified and characterised in *Chlorella vulgaris*. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 170, p. 316–320, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.035>. Acesso em: 4 nov. 2019
7. LAM, Man Kee; LEE, Keat Teong. Effect of carbon source towards the growth of *Chlorella vulgaris* for CO₂ bio-mitigation and biodiesel production. **International Journal of Greenhouse Gas Control**, [S. l.], v. 14, p. 169–176, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijggc.2013.01.016>. Acesso em: 4 nov. 2019
8. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. ***Chlorella vulgaris***. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Chlorella+vulgaris>. Acesso em: 16 jun. 2020
9. RASHID, N. *et al.* Hydrogen production by immobilized *Chlorella vulgaris*: Optimizing pH, carbon source and light. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, [s. l.], v. 36, n. 7, p. 867–872, 2013. DOI: 10.1007/s00449-012-0819-9. Acesso em: 16 jun. 2020.
10. SILVA, Priscila. **Algas verdes**. Infoescola. [S.I.] [2018?] Disponível em: <https://www.infoescola.com/biologia/algas-verdes/>. Acesso em: 24 abril 2020.
11. WAKASUGI, T. *et al.* Complete nucleotide sequence of the chloroplast genome from the green alga *Chlorella vulgaris*: The existence of genes possibly involved in chloroplast division. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 94, n. 11, p. 5967–5972, 1997. DOI:



10.1073/pnas.94.11.5967. Acesso em: 16 jun. 2020.

12. WIECZOREK, N. *et al.* Fermentative hydrogen and methane production from microalgal biomass (*Chlorella vulgaris*) in a two-stage combined process. **Applied Energy**, [s. l.], v. 132, p. 108–117, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2014.07.003>. Acesso em: 24 abril 2020.
13. WIKIMILI. *Chlorella vulgaris*. Disponível em: https://wikimili.com/en/Chlorella_vulgaris#Chlorella_vulgaris_NIES2170.jpg. Acesso em: 3 nov. 2019.
14. WU, T. *et al.* Sequencing and comparative analysis of three *Chlorella* genomes provide insights into strain-specific adaptation to wastewater. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 1–12, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-45511-6>. Acesso em: 4 abril 2020.



3.3 *Cyanidioschyzon merolae*

A *Cyanidioschyzon merolae* é considerada uma microalga vermelha apesar de ter, predominantemente, a cor verde. Possui o menor genoma de todos os eucariontes fotossintéticos (4) e, devido à sua arquitetura celular extremamente simples e de organização minimalista, é tida como um excelente sistema-modelo para pesquisa nas áreas de biologia estrutural e bioquímica (3) (5).

Foi isolada pela primeira vez, em 1978, por De Luca, nas fumarolas de Solfataria em Campi Flegrei, Naples, Itália (3).

Características biológicas

Esta microalga vermelha, pertence à classe das *Cyanidiales* (5) e apresenta-se como um microrganismo unicelular, em forma de “taco”, de aproximadamente 2µm.

A *C. merolae* possui o menor genoma entre todos os eucariontes fotossintéticos conhecidos com poucas estruturas internas. Contém um único núcleo, um cloroplasto, uma mitocôndria, um aparelho de Golgi com duas cisternas, um peroxissomo, um retículo endoplasmático, um plastídio e poucas estruturas semelhantes a lisossomos. Não consta de vacúolo, nem de parede celular e tem baixo volume de citosol (4). Ademais, está adaptada a ambientes de fontes termais ácidas (pH 1,5, T 45°), com alto teor de enxofre (4).

Embora não haja relatos na literatura especificando como se desenvolve, atribui-se a esta alga a forma de crescimento por fotoautotrofismo, através do qual utilizam a energia do sol, dióxido de carbono e água para produzir compostos orgânicos (3).

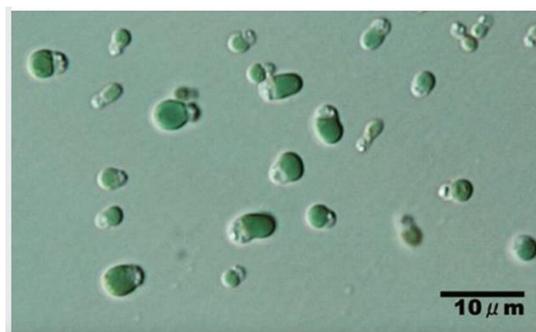


Figura 1 - *Cyanidioschyzon merolae*. Fonte: (1).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Cyanidioschyzon merolae*.

Divisão	<i>Rhodophyta</i>
Classe	<i>Cyanidiphyceae</i>
Ordem	<i>Cyanidiales</i>
Família	<i>Cyanidiaceae</i>
Gênero	<i>Cyanidioschyzon</i>
Espécie	<i>C. merolae</i>

Fonte: (6).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

Matsuzaki, M. *et al.* (2004) identificaram que ao menos 86,3% do genoma da *C. merolae* é expresso. As características únicas da estrutura do seu genoma incluem a presença de íntrons em apenas 26 genes. Apenas três cópias de DNA ribossômico mantêm o nucléolo e, a existência de dois genes dínamos, envolvidos exclusivamente na divisão mitocondrial e do plastídio.

A origem conservada em mosaico das enzimas do ciclo de Calvin, tanto desta microalga quanto de plantas verdes, sustenta a hipótese da existência de uma única endossimbiose plastídica primária (4). Ademais, a *C. merolae* não expressa o gene para actina



nem da miosina, tornando o processo de citocinese simples, o que a torna um modelo ideal de estudo sobre a origem, evolução e os mecanismos fundamentais da célula eucariótica (4).

A sua reprodução dá-se por fissão binária, sincronizada com o ciclo de luz e escuridão (4)(5).

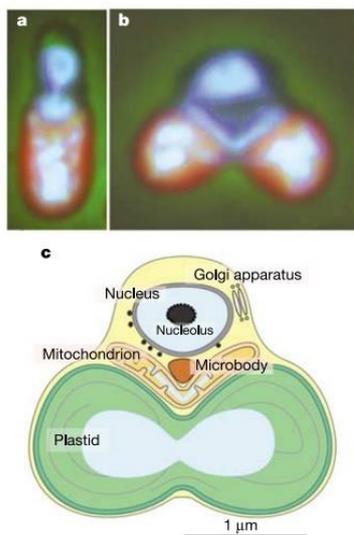


Figura 2 - *C. merolae* 10D. Imagens fluorescentes de contraste entre a interfase (a) e divisão celular (b). Nas células mostram-se a localização do DNA nuclear (topo), mitocondrial (meio) e plastídio (no fundo em azul/branco), após coloração com DAPI. Os plastídios emitem fluorescência vermelha. A divisão celular esquemática (c) contém um núcleo (*Nucleus*), uma mitocôndria (*Mitochondrion*) em V, um plastídio (*Plastid*) na forma de sino, um peroxissomo (*Microbody*) e um aparelho de Golgi (*Golgi apparatus*). As divisões dos mesmos estão sincronizadas por ciclos de luz e escuridão. Fonte: (4).

Genoma

Tabela 2 - Genoma da *Cyanidioschyzon merolae* 10D.

Genoma	Nº de genes	Tamanho (pb)	GC%	Ano
10D	5331	16.520,305	55,0	2004

Fonte: (4)

Aplicações Biotecnológicas

O ponto de maior interesse com relação à *Cyanidioschyzon merolae* é a pesquisa sobre a sua origem, evolução e interação com outros organismos.

As análises proteômicas e *microarrays* feitos a partir das informações do genoma da *A. C. merolae*, possibilitam o conhecimento sobre os princípios básicos das microalgas (4).

Ademais, pela perspectiva evolucionista, este microrganismo possui propriedades que permitem o estudo da origem das células eucarióticas, endossimbiose primária entre cianobactérias e hospedeiros eucarióticos, e endossimbiose secundária entre alga vermelha e seus hóspedes (4). Neste contexto, este microrganismo é uma espécie-modelo em estudos bioquímicos e biológicos (5).

Referências

1. ACUF. Disponível em: https://www.facebook.com/permalink.php?story_fbid=965353686964075&id=337518609747589&substory_index=0. Acesso em: 17 jun. 2020.
2. BOROWITZKA, Michael A. **Cap 3: Biology of Microalgae**. In: LEVINE, Ira *et al.* **Microalgae in Health and Disease Prevention**. Academic Press. 2018. p. 23-72. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811405-6.00003-7>. Acesso em: 17 jun. 2020.
3. DE LUCA, P. *et al.* *Cyanidioschyzon merolae*: a new alga of thermal acidic environments. **Journal of Plant Taxonomy and Geography**. 1978. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00837792.1978.10670110>. Acesso em: 30 mar. 2020.
4. MATSUZAKI, M. *et al.* Genome sequence of the ultrasmall unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae* 10D. **Nature**. v. 428, p. 653–657, 2004. Disponível em:



3. MICROALGAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

<https://doi.org/10.1038/nature02398>. Acesso em:
30 mar. 2020.

5. NATSUMI, M. Uncommon properties of lipid biosynthesis of isolated plastids in the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*. **FEBS Openbio**. v. 9, p. 114-128, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12551>. Acesso em: 30 mar. 2020
6. WIKIPEDIA. *Cyanidioschyzon merolae*. Disponível em: https://en.wikipedia.org/wiki/Cyanidioschyzon_merolae. Acesso em: 30 mar. 2020



3.4 *Dunaliella salina*

Pertencente ao filo *Chlorophyta*, a microalga *Dunaliella salina*, também conhecida como *Dunaliella bardawil* (3), embora alguns autores diferenciem estas espécies (2), é hoje em dia amplamente utilizada em diversos setores da indústria (3)(8). Esta microalga é uma fonte natural de β -caroteno e o desenvolvimento do seu cultivo em larga-escala teve início nos anos oitenta em Austrália, Israel e Estados Unidos da América (3). Isto conduziu a produção comercial desta microalga para a terceira maior indústria no ramo de produção de biomassa de microalgas dado ao fato de que o β -caroteno é considerado o carotenoide de maior relevância no mercado, dadas às diversas aplicações (8).

Características Biológicas

A *Dunaliella salina* (Figura 1) é unicelular, bipartida, uninucleada e com um único cloroplasto. Possui formato oval flexível e não consta de parede celular, embora tenha uma camada de glicocálix que envolve a célula (3)(8).

Em condições favoráveis de crescimento, apresenta coloração verde, pois possui apenas os pigmentos necessários para a fotossíntese, em concentrações não muito elevadas. Além das clorofilas a e b, contém carotenoides, tais como o caroteno, a bixina, a cantaxantina, a zeaxantina e a luteína, apresentando-se assim, na coloração amarelo-alaranjado (2).

Ademais, é encontrada em ambientes aquáticos hipersalinos (halofíla) como: lagos salgados, lagoas cristalizadas e salinas (3)(4). Conseguir sobreviver em condições extremas de hipersalinidade, onde a maioria dos eucariontes não conseguiria viver, deve-se ao fato da célula acumular glicerol como soluto compatível, que atua como regulador osmótico, equilibrando assim a atividade osmótica externa e protegendo a integridade das proteínas celulares (3).

Nestes ambientes, destaca-se por ser um microrganismo eucarionte com a função de

produtor primário (fotossintético), responsável pela maior parte da produção primária (ou formação de substâncias orgânicas ricas em energia a partir de material inorgânico). Por fim, também é capaz de sobreviver em condições extremas de temperatura (6).

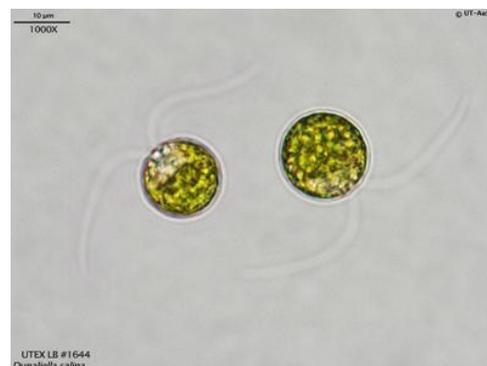


Figura 1 - *Dunaliella salina*. Fonte: (9).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Dunaliella salina*.

Filo	<i>Chlorophyta</i>
Classe	<i>Chlorophyceae</i>
Ordem	<i>Chlamydomonadales</i>
Família	<i>Dunaliellaceae</i>
Gênero	<i>Dunaliella</i>
Espécie	<i>D. salina</i>

Fonte: (1) Adaptado.

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

Sua reprodução pode ocorrer por divisão longitudinal das células móveis (reprodução vegetativa – Figura 2A), por formação de aplanósporos (Figura 2B) ou por fusão de duas



células móveis para formar um zigoto (reprodução sexual – Figura 2C) (3).

A reprodução vegetativa se inicia com a divisão nuclear, seguida da invaginação da célula nos dois polos (extremidade flagelar e a oposta). Concomitantemente, ocorre a divisão do cloroplasto e do pirenoide até que as futuras duas novas células fiquem conectadas apenas por uma fina ponte citoplasmática no meio. Neste momento, recresce o segundo flagelo em ambas as células e, quando estes atingem o tamanho ideal, as células se deslocam em direções opostas e acabam por romper a ponte citoplasmática existente entre elas (3).

Uma vez expostas à diminuição da salinidade, algumas estirpes da *D. salina* são capazes de entrar no estágio palmelar, onde elas perdem o seu flagelo (ficam imóveis), arredondam um pouco mais e passam a secretar uma camada orgânica na qual se dividem continuamente, dando origem a muitas células dentro dessa matriz gelatinosa. Quando as condições se tornam favoráveis, as células voltam ao seu estado normal, readquirindo as suas características comuns (3). Ademais, nessas mesmas condições de salinidade, em condições ambientais de inverno ou em deficiência de nitrogênio, a *D. salina* pode formar cistos vegetativos (aplanósporos), que são células extremamente resistentes e com uma parede celular rugosa. A germinação destes cistos dá-se pela divisão mitótica que origina apenas duas células-filhas que, ao terem suas próprias flagelas crescidas, rompem com a parede do aplanósporo e escapam (3).

Por fim, o aumento da salinidade do meio fomenta a reprodução sexual, que é isogamética. Estirpes isomórficas (+/-) juntam seus flagelos totalmente, o organismo gameto (+) passa a produzir um “tubo” entre os seus flagelos que conecta com o outro organismo (gameto (-)), também entre seus flagelos. Assim, as duas células se “atrelam” e vão se fusionando transversalmente (formando o planozigoto com

quatro flagelos) até ser um organismo só. Depois, o planozigoto descarta os flagelos, arredonda e forma uma parede celular densa, formando assim o zigoto. Durante a germinação, ocorre divisão meiótica e quatro, oito ou até trinta e duas novas células podem ser geradas. As novas células, uma vez com seus flagelos, quebram a parede do zigoto e escapam (3).

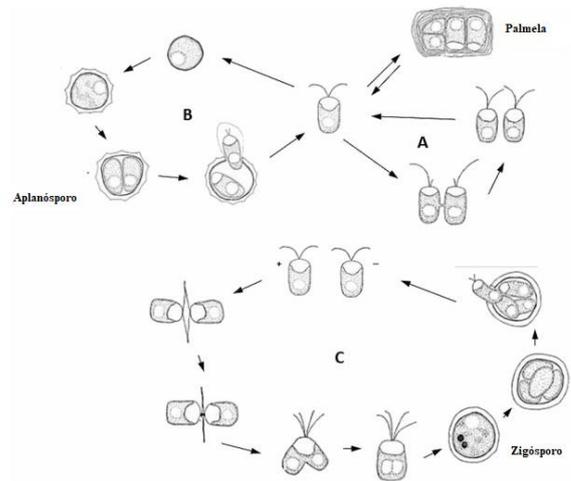


Figura 2 - Diagrama do Ciclo de vida da *D. salina*. (A) Reprodução vegetativa da célula haploide por mitose seguida de citocinese. (B) Formação de aplanósporos (cistos assexuais). Em condições favoráveis ocorre uma ou mais divisões mitóticas que gera células-filhas haploides que serão libertadas. (C) Reprodução sexual: Encontro entre duas linhagens compatíveis (+ e -). Em seguida dá-se a plasmogamia e a cariogamia. É formado o zigósporo diploide. Em condições favoráveis, dá-se a meiose e as células-filhas haploides serão libertadas. Fonte: (3).

Genoma

Tabela 2 - Genoma da *Dunaliella salina*.

Genoma	Tamanho (Mb)	GC%
Master WGS	343.4	40,1

Fonte: (5).



Aplicações Biotecnológicas

A contribuição mais notável para a biotecnologia da *Dunaliella salina* é a sua produção natural de pigmentos, em especial, o β -caroteno. Esta substância tem uma grande variedade de aplicações: corante nos alimentos industrializados, produção de aromatizantes (madeira, hortelã, doce, frutado, etc.), sendo um componente integrado nos produtos farmacêuticos, cosméticos e alimentícios. Outros pigmentos que produz também são utilizados (8).

Segundo Tinoco, B. *et al* (2015), as aplicações destes corantes são as seguintes:

- β -Caroteno (cor amarela), usado para Provitamina A, antioxidante, aditivo alimentar E160a e coloração de gema de ovo.
- Bixina (cor amarelada, cor de pêssego), usado como aditivo alimentar E160b (corante) e em cosméticos.
- Zeaxantina (cor laranja-amarelo), usado para aditivo alimentar E 161 h, ração animal e na Indústria farmacêutica como anticâncer do cólon, antidegeneração muscular.
- Luteína (cor amarelo-laranja), usado como aditivo alimentar E161b, coloração amarela da gema de ovo (aditivo) e pigmentação de tecidos animais. Na indústria farmacêutica é usado como antidegeneração muscular; para cosméticos é usado na coloração.
- Cantaxantina (cor laranja dourado), utilizado como aditivo alimentar E 161 g, cultivo de salmonídeos e frango, e para pílulas de bronzeamento.

Além da produção de carotenoides, a *D. salina* tem amplo emprego em outras áreas da biotecnologia como: a produção de biocombustíveis, tratamento de águas residuais, remoção de metais pesados, produção de glicerol

e ácidos graxos, vitaminas e indicadores ecológicos (2).

Referências

1. ALGAEBASE. *Dunaliella bardawil*. Disponível em: https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=g12922b3d0881ca2a. Acesso em: 24 set. 2019
2. BEN-AMOTZ, A. *et al*. Accumulation of β -carotene in halotolerant algae: Purification and characterization of β -carotene-rich globules from *Dunaliella bardawil* (Chlorophyceae). **Journal of Phycology**. V. 18, n. 4, p. 529-537, 1982. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1982.tb03219.x>. Acesso em: 24 set. 2019
3. BOROWITZKA, Michael A. **Cap 3: Biology of Microalgae**. In: LEVINE, Ira *et al*. **Microalgae in Health and Disease Prevention**. Academic Press. [s.i], p. 23-72, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811405-6.00003-7>. Acesso em: 24 set. 2019.
4. MELKONIAN M.; PREISIG, H. R. An ultrastructural comparison between Spermatozopsis and *Dunaliella* (Chlorophyceae). **Plant Systematics and Evolution**. v. 146, p.31–46, 1984. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00984052>. Acesso em: 1 abr. 2020.
5. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **Genome, *Dunaliella salina***. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=dunaliella+salina>. Acesso em: 5 mar. 2020.
6. OREN, A. The ecology of *Dunaliella* in high-salt environments. **Journal of Biological Research**. v. 21, n. 1, p. 23, 2014. DOI: [10.1186/s40709-014-0023-y](https://doi.org/10.1186/s40709-014-0023-y). Acesso em: 5 mar. 2020.
7. TAFRESHI, A.; SHARIATI, M. *Dunaliella* biotechnology: methods and applications. **Journal of Applied microbiology**. v. 107, n. 1,



- p. 14-35, 2009. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2009.04153.x. Acesso em: 5 mar. 2020.
8. TINOCO, B. *et al.* O Gênero *Dunaliella*: Biotecnologia e Aplicações. **Rev. Virtual Quim.** V. 7, n. 4, p. 1421-1440, 2015. DOI: 10.5935/1984-6835.20150078. Acesso em: 5 mar. 2020.
9. UTEX. **LB 2538** *Dunaliella bardawil*. Disponível em: <https://utex.org/products/utex-lb-1644?variant=30992105799770>. Acesso em: 18 jun. 2020.



3.5 *Euglena gracilis*

A microalga *Euglena gracilis* é um eucarionte pertencente à divisão da *Euglenozoa*, sendo a espécie mais estudada da mesma (2). Nos últimos anos, emergiu como um microrganismo, candidato a diversas aplicações tanto na área da pesquisa quanto na indústria devido à sua versatilidade, resiliência e síntese de uma variedade única de bioprodutos (3).

Características Biológicas

A *Euglena gracilis* (Figura 1) é uma microalga unicelular (3) que pode ser encontrada em ambientes de água doce ou salobra como lagoas ricas em matéria orgânica (2).

É biflagelada, sendo que um dos flagelos é curto e não se sobressai, quanto que o outro é longo e permite à célula mover-se. Ademais, possui diversos cloroplastos envoltos por três membranas e pirenoides. Por sua vez, este microrganismo não possui parede celular. O seu citoplasma está envolvido em uma película constituída por proteínas espirais e microtúbulos. É esta película que permite à célula ter muita flexibilidade e contractilidade durante o seu movimento (2).

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Euglena* constam do estigma, uma organela que filtra a luz e a foca no corpo paraflagelar, e está envolvida na fototaxia da célula (2).

A *E. gracilis* tem metabolismo flexível, sendo fotoautotrófica e/ou heterotrófica (3). Armazena energia na forma de paramilon, β -1,3 glucose em grânulos no citosol (2). Ademais, é tolerante a diversas condições ambientais de estresse como: a acidificação, radiação ionizante e presença de metais pesados, sendo capaz de sequestrar os mesmos (3).



Figura 1 - *Euglena gracilis*. Fonte: (4).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Euglena gracilis*.

Domínio	Eukaryota
Divisão	<i>Euglenozoa</i>
Classe	<i>Euglenida</i>
Ordem	<i>Euglenales</i>
Família	<i>Euglenaceae</i>
Gênero	<i>Euglena</i>
Espécie	<i>Euglena gracilis</i>

Fonte: (5).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

Segundo Borowitzka, M. A. (2018), ainda não foi evidenciada a reprodução sexual de nenhuma espécie do gênero *Euglena*, ocorrendo apenas a reprodução vegetativa por fissão binária longitudinal. Ademais, o estágio palmeloide e de formação de cistos já foram reportados.

A reprodução assexuada por fissão binária (Figura 2) envolve o processo de mitose e divisão celular, dando lugar a duas células-filhas idênticas. A maioria das espécies *Euglena* tem seu ciclo de vida dividido em fase móvel e imóvel. É durante a fase móvel que a célula multiplica o seu genoma e suas organelas. A posteriori, ocorre a citocinese, separação longitudinal da célula (1).



Em condições desfavoráveis ao microrganismo, eles se protegem englobando-se dentro de um cisto. A formação deste cisto protetor é característica da fase não móvel da célula. Neste contexto, em alguns casos é possível que a microalga entre no estágio palmeloide, dando lugar à formação de cistos reprodutivos. Estes cistos (aplanósporos) são envoltos numa camada gelatinosa e se dividem por fissão binária originando células-filhas idênticas. Uma vez em condições adequadas, estes cistos se tornam flagelados e deixam de possuir a envoltura gelatinosa (1).

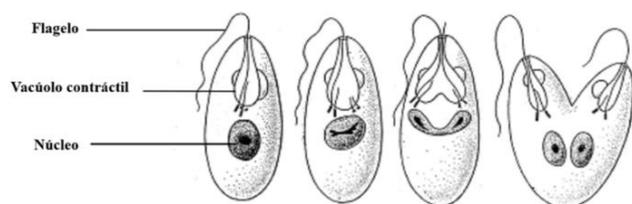


Figura 2 - Ilustração da reprodução assexuada da *Euglena gracilis*. Fonte: (6).

Genoma

Tabela 2 - Genoma de referência da *Euglena gracilis*.

Genoma	Tamanho (Mb)	GC%
master WGS	1435,5	50,6

Fonte: (5).

Aplicações biotecnológicas

Segundo Gissibl, A. *et al.* (2019), as aplicações biotecnológicas da microalga *Euglena gracilis* se estendem nas categorias de nutrição, biocombustíveis e biomateriais, biomedicina e nutracêuticos.

Por ser capaz de sequestrar metais pesados, a *Euglena gracilis* já foi testada para a biorremediação de corpos de água poluídos com elevados níveis de nitrogênio, fosfatos, carbono

orgânico, cádmio, cromo, urânio, zinco e mercúrio (3).

Esta microalga consegue acumular uma alta quantidade do polissacarídeo paramilon (β -1,3- glicose). Esta molécula e seus derivados são de interesse biotecnológico devido a sua atividade imuno-estimuladora e antimicrobica. Adicionalmente, alguns estudos indicam que estes tipos de açúcares auxiliam na diminuição do colesterol, e têm atividade antidiabética, antiglicêmica e hepatoprotetiva, além de já terem sido utilizadas para o tratamento de câncer de estômago. Ademais, a *E. gracilis* é fonte de proteínas dietéticas, vitaminas A, C e E, ácidos graxos poli-insaturados e fibras dietéticas (3).

Por fim, esta microalga foi proposta como fonte de biocombustível, uma vez que acumula elevados níveis de lipídios, como ésteres e ácidos graxos, durante o seu crescimento. Também pode ser empregada para a produção de lubrificantes, de velas ou em cosméticos (3).

Referências

1. BAILEY, Regina. **Euglena Cells**. Publicado a 26/01/2018. Disponível em: thoughtco.com/about-euglena-cells-4099133. Acesso em: 14 jun. 2020.
2. BOROWITZKA, Michael A. **Cap 3: Biology of Microalgae**. In: LEVINE, Ira *et al.* **Microalgae in Health and Disease Prevention**. Academic Press. [s.i], p. 23-72. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811405-6.00003-7>. Acesso em: 14 jun. 2020.
3. GISSIBL, A. *et al.* Bioproducts from *Euglena gracilis*: Synthesis and Applications. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**. V. 7, p. 108, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00108>. Acesso em: 14 jun. 2020.
4. MICROSCOPIA. **Euglena gracilis**. Disponível em: <http://www.microscopia.bio.br/euglena-gracilis-2.html>. Acesso em: 14 jun. 2020.



3. MICROALGAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

5. NATIONAL CENTER OF BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *Euglena gracilis*. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Euglena+gracilis>. Acesso em: 14 jun. 2020.

6. KAUR, H. **Animal diversity – I (non-chordates) protozoa**. Disponível em:
<https://www.researchgate.net/publication/237800064>. Acesso em: 14 jun. 2020.



3.6 *Galdieria sulphuraria*

A primeira descrição desta microalga vermelha foi feita no ano de 1899, e foi lhe atribuída primeiramente o gênero *Pleurococcus* (*Pleurococcus sulphurarius*). Porém, após mais estudos, principalmente relativos aos seus pigmentos, este microrganismo deu lugar a um novo gênero, o *Galdieria*, ao qual passou a pertencer, tornando-se então *Galdieria sulphuraria* (5).

O interesse pela produção de microalgas em escala industrial para atender o seu uso comercial tem vindo a crescer nos últimos anos. Uma maior visualização tem sido dada à aplicação nos campos da medicina, biotecnologia e farmácia. Assim, com a habilidade de crescer tanto em condições heterotróficas como fotoautotróficas, e cujo metabolismo é versátil – capaz de utilizar diversas fontes de carbono - a *Galdieria sulphuraria* é um potencial alvo de pesquisa nestas linhas (2).

Características Biológicas

A *Galdieria sulphuraria* (Figura 1) é uma microalga vermelha eucarionte, unicelular e de formato esférico. Possui um diâmetro de 3 a 11 μm (picômetros) e pode se dividir em 4-8-16 ou mais autósporos. Contém um cloroplasto (produz clorofila e C-ficocianina (C-FC)), um vacúolo e inúmeras mitocôndrias (5).

É termoacidófila, pertencendo à família das algas vermelhas melhor adaptadas a ambientes ácidos e sobrevive a temperaturas de até 56 °C. Em condições extremas é capaz de crescer com eficiência, produzindo quantidades significativas de biomassa e compostos de interesse (9).

A maioria das espécies pertencentes à sua divisão são fotolitotróficas, ou seja, utilizam a luz solar e componentes inorgânicos como fonte de energia (8). Porém, esta espécie se destaca por ter um metabolismo muito flexível (8; 9; 13).

São consideradas fotolitotróficas facultativas, ou seja, podem obter energia por fotolitotrofismo ou por quimio ou foto-organotrofismo, obtendo sua energia a partir de componentes orgânicos (8).

São autotróficas, mistotróficas, ou seja, heterotróficas e fotoautotróficas, capazes de utilizar mais diversos tipos de açúcares e álcoois como fonte de carbono, sendo que mais de 50 diferentes fontes já foram reportadas (13). O seu metabolismo de carbono é único, devido ao fato de sobreviver em ambientes de condições extremas, dando lugar a compostos benéficos para o uso humano (9). Segundo Sakurai, T. *et al.* (2015), a *Galdieria sulphuraria* pode metabolizar diferentes fontes de carbono, mesmo em altas concentrações, e inclusive o próprio CO₂. Assimila também a partir do ar com 50 ppm de SO₂. A regularização do fluxo metabólico de carbono na síntese de glicogênio e ácidos graxos vai depender das condições de crescimento, ou seja, o acúmulo e a estrutura do glicogênio, assim como a quantidade e a composição dos lipídios produzidos vão variar dependendo do tipo de metabolismo que a *G. sulphuraria* adota, segundo as condições em que está presente (9).



Figura 1 - Imagem microscópica da *Galdieria sulphuraria*. A barra preta corresponde a 20 μm . Fonte: (4).



Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Galdieria sulfuraria*.

Divisão	<i>Rhodophyta</i>
Classe	<i>Cyanidiophyceae</i>
Ordem	<i>Cyanidiales</i>
Família	<i>Galdieriaceae</i>
Gênero	<i>Galdieria</i>
Espécie	<i>G. sulfuraria</i>

Fonte: (7).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

O genoma da *G. sulphuraria* contém evidências de transferência horizontal de genes a partir de *archaeas* e bactérias termofílicas. Isso explica a sua adaptação a ambientes extremos. Assim, observa-se neste microrganismo algo incomum nos eucariontes: ao menos 5 % do seu proteoma derivam de transferência horizontal de genes (10). Ademais, o genoma deste microrganismo contém um vasto número de genes associados ao metabolismo do carbono e ao transporte através da membrana (1).

Com relação ao seu ciclo de vida, compartilha os mecanismos de reprodução comuns às microalgas. É capaz de se reproduzir sexuadamente (Figura 2a), onde há a fusão de dois indivíduos distintos geneticamente através dos gametas flagelados. Esta fusão ocorre por plasmogamia (fusão dos protoplastos) seguida pela cariogamia (fusão dos núcleos), que resulta na formação do zigoto diploide ($2n$). Os flagelos encurtam-se até desaparecerem e no lugar forma-se uma parede espessa e o zigoto se torna um zigósporo, que fica em um período de

dormência. Após este período, o zigoto se divide por meiose zigótica originando quatro células haplóides (n), as quais formarão dois novos flagelos. A Reprodução vegetativa (assexual) da célula haploide se dá por mitose seguida de citocinese (figura 2b). Ocorre a formação de aplanósoros (cistos assexuais). Em condições favoráveis, ocorre uma ou mais divisões mitóticas que gera 4 ou mais células-filhas haploides (também conhecidas como autósporos), que romperão a membrana e serão libertadas (12).

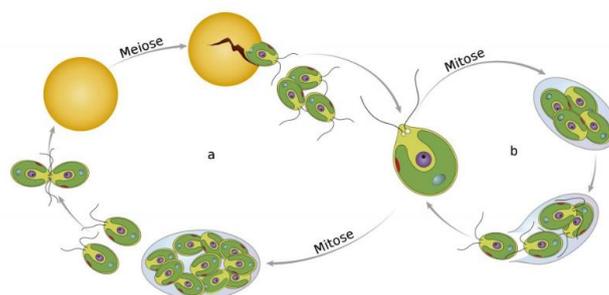


Figura 2 - Ciclo de vida sexado (a) e assexuado (b) de *Galdieria sulphuraria*. Ilustração: Aldona Griskeviciene / Shutterstock.com. Fonte: (12).

Genoma

Tabela 2 - Genoma de referência da *G. sulfuraria*.

Genoma	Nº de genes	Tamanho (Mb)	GC%	Nº de proteínas
<i>ASM34128v1</i>	6,723	13,71	37,9	7,174

Fonte: (7).

Aplicações Biotecnológicas

As microalgas são capazes de gerar uma grande variedade de metabólitos com excelentes propriedades. A *G. sulphuraria* se destaca pelos antioxidantes capazes de produzir. Tanto os antioxidantes como as moléculas antiproliferativas, oriundas de fontes naturais, são uma alternativa aos compostos elaborados sinteticamente, que possuem efeitos tóxicos (2).

Esta microalga, em estudo, contém ficobiliproteínas, como a ficocianina (C-FC),



pigmentos que capturam a energia da luz solar num comprimento de onda cuja clorofila absorve em menor quantidade. Assim, auxilia o processo de captação de energia, aumentando a sua eficiência (2). A C-FC contém o grupo protético cromóforo, que é muito fluorescente, sendo então utilizado em diversas aplicações como as análises imunológicas e detecção de espécies reativas de oxigênio. Este grupo protético também tem ação antioxidante e anti-inflamatória (2).

Ademais, a *Galdieria sulphuraria* foi testada como ingrediente ativo em fórmulas cosméticas e dermatológicas, para ação em peles com excesso de oleosidade e sebo. Esta microalga é capaz de inibir a ação da enzima 5- α reductase (que regula o hormônio associado à superprodução de sebo) e de induzir a expressão de β -defensinas (primeira linha de defesa das células da pele no combate de microrganismos associados ao sebo) (4). Adicionalmente, esta microalga tem sido utilizada para bioremediação. Segundo Ju, X. *et al.* (2016), a *G. sulphuraria* é eficiente na bioextração de metais preciosos. A sua aplicação na recuperação de metais em baixa concentração, como o ouro ou paládio, tendo sido descartados em águas residuais metálicas, mostrou-se ecológica e econômica. É uma alternativa viável frente a outras tecnologias de alto custo operacional. Dentro deste contexto, pesquisas têm sido direcionadas para a reciclagem de metais de terras raras, devido às inúmeras aplicações industriais destes elementos. Uma vez que o acúmulo de metais em microrganismos é um método de baixo custo, ecológico e eficiente, este microrganismo foi testado e mostra-se eficaz para a recuperação de metais terra-rara como La (III), Nd (III), Dy (III) (6).

Por fim, a *Galdieria sulphuraria* também é aplicável na remoção de nutrientes em efluentes tais como nitrogênio amoniacal e fosfatos (11).

Referências

1. BARBIER, G. *et al.* Comparative genomics of two closely related unicellular thermo-acidophilic red algae, *Galdieria sulphuraria* and *Cyanidioschyzon merolae*, reveals the molecular basis of the metabolic flexibility of *Galdieria sulphuraria* and significant differences in carbohydrate metabolism of both algae. **Plant Physiology**. v. 137, n. 2, p. 460–74, 2005. DOI:10.1104/pp.104.051169. Acesso em: 24 abril 2020.
2. BOTTONE, C. *et al.* Antioxidant and anti-proliferative properties of extracts from heterotrophic cultures of *Galdieria sulphuraria*. **Natural Product Research**. v. 33, n. 11, p. 1659-1663, 2018. DOI: 10.1080/14786419.2018.1425853. Acesso em: 24 abril 2020.
3. JU, X. *et al.* Effective and selective recovery of gold and palladium ions from metal wastewater using a sulfothermophilic red alga, *Galdieria sulphuraria*. **Bioresource Technology**. v. 211, p. 759–64, 2016. DOI:10.1016/j.biortech.2016.01.061. Acesso em: 24 abril 2020.
4. LUCIA, A. D. *et al.* *Galdieria sulphuraria* Relieves Oily and Seborrheic Skin By Inhibiting the 5- α Reductase Expression in Skin Cells and Reducing Sebum Production in vivo. Smantic Scholar. Publicado em 2016. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/Galdieria-sulphuraria-Relieves-Oily-and-Seborrheic-Lucia-Carola/bc8589982c97f8c3cd2738df241239849217adc6>. Acesso em: 24 abril 2020.
5. MEROLA, A. *et al.* Revision of *Cyanidium caldarium*. Three species of acidophilic algae. **Giornale botanico italiano**. v. 115, n. 4-5, p. 189-195, 1981. DOI: 10.1080/11263508109428026.



- Acesso em: 24 abril 2020.
6. MINODA, A. *et al.* Recovery of rare earth elements from the sulfothermophilic red alga *Galdieria sulphuraria* using aqueous acid. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v. 99, n. 3, p. 1513–9, 2015. DOI: 10.1007/s00253-014-6070-3. Acesso em: 24 abril 2020.
 7. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *Galdieria sulphuraria*. Representative genome: *Galdieria sulphuraria* (assembly ASM34128v1). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Galdieria+sulphuraria+genome>. Acesso em: 20 abril 2020.
 8. RAVEN, J. A. *et al.* **Chapter 8: Carbon metabolism**. In: COLE, K. M.; SHEATH, R. G. **Biology of the Red Algae**. Cambridge: Cambridge University Press. [s.i], p. 172. 1990.
 9. SAKURAI, T. *et al.* Profiling of lipid and glycogen accumulations under different growth conditions in the *sulfothermophilic* red alga *Galdieria sulphuraria*. **Bioresource Technology**. v. 200, p. 861-866, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.014>. Acesso em: 24 abril 2020.
 10. SCHÖNKNECHT, G. *et al.* Gene transfer from bacteria and archaea facilitated evolution of an extremophilic eukaryote. **Science**. v. 339, n. 6124, p. 1207-10, 2013. DOI:10.1126/science.1231707. Acesso em: 24 abril 2020.
 11. SELVARATNAM, T. *et al.* Evaluation of a thermo-tolerant acidophilic alga, *Galdieria sulphuraria*, for nutrient removal from urban wastewaters. **Bioresource Technology**. v. 156, p. 395–9, 2014. DOI:10.1016/j.biortech.2014.01.075. Acesso em: 24 abril 2020.
 12. SILVA, Priscila. **Algas verdes**. Infoescola. [S.I.] [2018?] Disponível em: <https://www.infoescola.com/biologia/algas-verdes/>. Acesso em: 24 abril 2020.
 13. WEBER, A. P. *et al.* EST-analysis of the thermo-acidophilic red microalga *Galdieria sulphuraria* reveals potential for lipid A biosynthesis and unveils the pathway of carbon export from rhodoplasts. **Plant Molecular Biology**. v. 55, n. 1, p. 17–32, 2004. DOI:10.1007/s11103-004-0376-y. Acesso em: 24 abril 2020.



3.7 *Haematococcus pluvialis*

A *Haematococcus pluvialis* é uma microalga verde que pertence à divisão das clorofitas e chama a atenção por acumular grandes quantidades do carotenoide astaxantina (1,2,3). A primeira empresa que começou a cultivar esta espécie foi a Cyanotech no Havai, fazendo-a crescer em grandes lagoas ao ar livre. No entanto, a maioria das demais empresas utiliza o sistema de cultivo em fotobioreatores tubulares, destacando-se a Algatechbologies, localizada no Deserto de Negev, que possui mais de quinhentos quilômetros em tubulações de vidro (2).

Características Biológicas

A *H. pluvialis* (Figura 1) é encontrada na natureza em corpos de água rasos, como charcos perto de rochas (1)(2). Apresenta-se como uma célula verde, biflagelada e móvel, contendo um único cloroplasto. Porém, à medida que evolui no seu ciclo de vida, perde tais características, adquirindo um formato redondo (cocóide), torna-se aflagelada e de coloração vermelha (Figura 2). Os principais pigmentos fotossintetizantes são a clorofila a e b. Armazena energia na forma de amido, contendo grandes quantidades do mesmo (2).

No estágio inicial do seu ciclo de vida, a sua célula possui uma matriz extracelular gelatinosa (periplasma) conectada ao protoplasto por meio de uma fina camada citoplasmática. Ademais, inicialmente, o acúmulo de astaxantina é observado em gotículas lipídicas no citoplasma ao redor do núcleo. A posteriori, quando se desenvolve em aplanósporo, o acúmulo deste carotenoide preenche todo o citoplasma (2).

Esta microalga é fotoautotrófica, mas pode ser cultivada mixotrófica e heterotroficamente, tendo nestes dois últimos casos o acetato como a fonte de carbono preferencial. No entanto, para uma maior concentração de astaxantina (em até 5,0% do seu

peso seco) só é possível em cultura fotoautotrófica, uma vez que a biossíntese deste carotenoide requer alta intensidade de luz (2).

Curiosamente, a produção da astaxantina é induzida quando a *H. pluvialis* é cultivada em condições de estresse, a saber, alta intensidade lumínica, limitação em nutrientes, especialmente o nitrogênio, alta temperatura, salinidade ou na presença de íons como o Fe^{2+} (2).

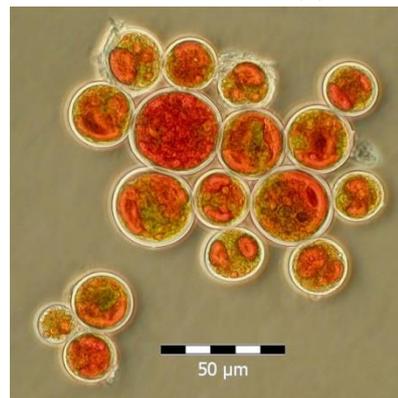


Figura 1 - *Haematococcus pluvialis*. Fonte: (4).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Haematococcus pluvialis*.

Divisão	<i>Chlorophyta</i>
Classe	<i>Chlorophyceae</i>
Ordem	<i>Chlamydomonadales</i>
Família	<i>Haematococcaceae</i>
Gênero	<i>Haematococcus</i>
Espécie	<i>H. pluvialis</i>

Fonte:(4) Adaptado.

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

O Ciclo de vida da *H. pluvialis* é descrito a partir do seu cultivo. Assim, em cultura, a microalga passa por todos os seus estágios de vida vegetativos, iniciando como uma célula



verde e biflagelada. Nesta forma, entra no estágio de palmela, tornando-se arredondada e perdendo seus flagelos. A seguir, entra no processo de encistamento, onde ocorre a formação do aplanósforo (cisto assexual), que por sua vez contém grande quantidade de astaxantina acumulada. Quando o aplanósforo é colocado em meio fresco, inicia-se a divisão celular, mitoses e citocineses são levadas a cabo, produzindo até trinta e duas células-filhas flageladas haploides (autósforo) dentro da parede celular da célula-mãe, que romperão a membrana e serão libertas (2)(5).

Por sua vez, ainda que não se exclua a reprodução sexuada, este mecanismo não está descrito na literatura para este microrganismo.

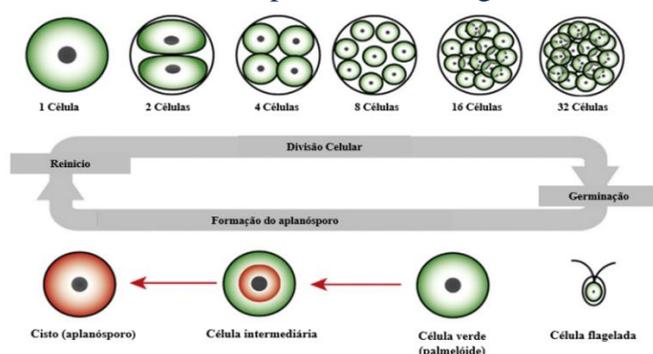


Figura 2 - Ciclo de vida da *Haematococcus pluvialis*. Reinício: culturas antigas são transpostas para um meio fresco e então as células cocóides incidem o processo de divisão celular para formar células flageladas no interior da célula-mãe. Germinação: as células flageladas se assentam e se tornam células cocóides. As condições de estresse aceleram o acúmulo de astaxantina durante o encistamento, formação do aplanósforo (setas vermelhas). Fonte: (2).

Genoma

Tabela 2 - Genoma de referência da *Haematococcus pluvialis*.

Genoma	Nº de genes	Tamanho (Mb)	GC%	Nº de proteínas
<i>Lacustris</i> 1.0	33,500	171,8	43,4	28,279

Fonte: (4).

Aplicações Biotecnológicas

A *H. pluvialis* se destaca por ser a fonte natural mais rica em astaxantina, um carotenoide com propriedades nutraceuticas. A astaxantina possui atividade antioxidante através da qual é capaz de inibir produção de mediadores inflamatórios, uma vez que bloqueia a ativação de determinadas moléculas como as NF- κ B, iNOS e COX-2. Ademais, suprime a produção de NO, PGE2 e TNF- α (1).

Guerin, M. *et al.* (2003) descrevem este bioproduto como um pigmento presente em diversos alimentos do mar como o salmão e as ostras, e que está associado a diversas funções biológicas essenciais como a proteção à oxidação de ácidos poliinsaturados, aos efeitos da luz UV e das respostas imunes, sendo então utilizado na indústria farmacêutica, cosmética e de alimentos.

Referências

1. BARVE, K. H. *et al.* **Chapter 7: Nutraceuticals as therapeutic agents for inflammation.** In: BARVE, K. H. *et al.* **Fruits, Vegetables, and Herbs.** 2016. DOI:10.1016/b978-0-12-802972-5.00007-x. Acesso em: 24 abril 2020.
2. BOROWITZKA, Michael A. **Chapter 3: Biology of Microalgae.** In: LEVINE, Ira *et al.* **Microalgae in Health and Disease Prevention.** [s.i]: Academic Press. p. 23-72, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811405-6.00003-7>. Acesso em: 24 abril 2020.
3. GUERIN, M., *et al.* *Haematococcus* astaxanthin: applications for human health and nutrition. **Trends in Biotechnology.** v. 21, n. 5, p. 210–216, 2003. DOI:10.1016/s0167-7799(03)00078-7. Acesso em: 24 abril 2020.
4. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *Haematococcus pluvialis.* Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=há>



3. MICROALGAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

[ematococcus+pluvialis](#). Acesso em: 14 jun. 2020.

5. SILVA, Priscila. **Algas verdes**. Infoescola. [2018?]. Disponível em: <https://www.infoescola.com/biologia/algas-verdes/>. Acesso em: 24 abril 2020.



3.8 *Neochloris oleoabundans*

É uma microalga verde pertencente à classe *Chlorophyceae*. Conhecida por seu alto teor lipídico, este microrganismo é capaz de acumular altas quantidades de triacilglicerídeos, que é o substrato para a produção de biodiesel (1). Foi isolada pela primeira vez em dunas da Arábia Saudita (3). O primeiro estudo relatando a composição lipídica de *Neochloris oleoabundans* (Figura 1) fora realizado por Tornabene e colaboradores, em 1983. Eles observaram que o maior acúmulo de triacilgliceróis ocorre em meio com baixo nitrogênio (1).

Interessantemente, o ácido oleico (18:1 ω 9) é o mais abundante, seguido do palmítico (16:0) e do esteárico (18:0). As cadeias mais abundantes têm poucas insaturações e a proporção de ácido linoleico (18:3 ω 3) está abaixo de 12%, atendendo aos requisitos do padrão europeu EN 14214 para a produção de biodiesel (1).

Características biológicas

Neochloris oleoabundans (Figura 1) é uma microalga verde terrestre, unicelular, móvel que vive em colônias, adaptando-se aos ambientes de condições severas como: a escassez de água e alta salinidade (3).

A parede celular rígida desta microalga permite a sobrevivência da célula a diferentes intempéries, como o estresse biótico ou abiótico, e concede a ela plasticidade, fazendo com que a célula cresça e adote diferentes formatos, sendo, predominantemente, arredondada (3).

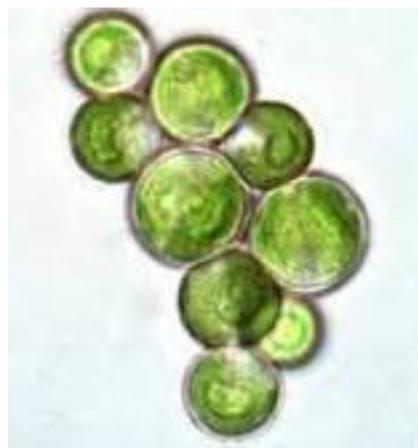


Figura 1 - *Neochloris oleoabundans*. Fonte: (4).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Neochloris oleoabundans*.

Filo	<i>Chlorophyta</i>
Classe	<i>Chlorophyceae</i>
Ordem	<i>Sphaeropleales</i>
Família	<i>Neochloridaceae</i>
Gênero	<i>Neochloris</i>
Espécie	<i>N. Oleoabundans</i>

Fonte: (6).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

Embora não haja referências literárias que descrevam o ciclo de vida da *Neochloris oleoabundans*, atribui-se que esta compartilha a reprodução sexual comum à divisão *Chlorophyta*, tendo a reprodução assexuada (Figura 2b), a mais usual.

Num primeiro momento, no interior da célula, ocorrem várias divisões mitóticas das organelas e do núcleo, gerando-se novas células-filhas que, todavia, ficam dentro da “antiga” célula-mãe. Normalmente, o núcleo se divide em até 16 células-filhas. Após o desenvolvimento de uma parede ao redor do núcleo e o flagelo, cada célula-filha produz uma enzima que rompe a



3. MICROALGAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

parede da célula-mãe e as novas células passam a se dispersar no ambiente (2).

Este microrganismo também se reproduz sexuadamente (Figura 2a), onde há a fusão de dois indivíduos distintos geneticamente através dos gametas flagelados. Esta fusão ocorre por plasmogamia (fusão dos protoplastos), seguida pela cariogamia (fusão dos núcleos), que resulta na formação do zigoto diploide ($2n$). Os flagelos encurtam-se até desaparecerem e, no lugar, forma-se uma parede espessa e o zigoto se torna um zigósporo, que fica em um período de dormência. Após este período, o zigoto se divide por meiose zigótica originando quatro células haplóides (n), as quais formarão dois novos flagelos (2).

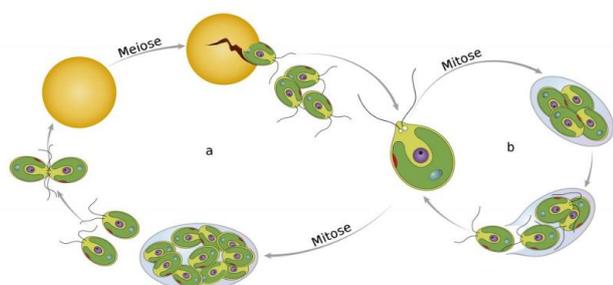


Figura 2 - Ciclo de vida sexuada (a) e assexuada (b) de *N. oleoabundans*. Ilustração: Aldona Griskeviciene / Shutterstock.com. Fonte: (2).

Genoma

Tabela 2 - Genoma da *Neochloris oleoabundans* UTEX 1185.

Genoma	Tamanho (Mb)	GC%	Nº genes
UTEX 1185	40	57,32%	9960

Fonte: (1).

Aplicações Biotecnológicas

Esta microalga é considerada uma fonte promissora de matéria-prima para a produção de bioenergia. Por ser naturalmente capaz de grande acúmulo lipídico em resposta à privação de

nitrogênio e possuir um perfil de ácidos graxos, ideal para a produção de biodiesel, a *Neochloris oleoabundans* é uma espécie de grande interesse biotecnológico para a produção de biocombustíveis de terceira geração (1).

Já a caracterização de seu genoma permitiu, por sua vez, levantar insumos para a compreensão das bases moleculares do fenótipo de maior interesse relacionado à maior produção lipídica. Foram identificados os genes envolvidos no metabolismo energético, no acúmulo de lipídios e na resposta à privação de nitrogênio, permitindo levantar genes-chaves que podem ser objetos de estudos mais detalhados ou, até mesmo, de manipulação genética, contribuindo assim, para aplicações biotecnológicas (5).

Referências

- FAVARELLI, R. B. **Análise do genoma da microalga produtora de lipídios *neochloris oleoabundans*, visando à produção de combustíveis de terceira geração.** Tese (Mestrado em Genética e Biologia Molecular). Campinas: Universidade Estadual de Campinas. 2012. Disponível em: http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/316763/1/Favarelli_BrunaRoncon_M.pdf. Acesso em: 5 mar. 2020.
- SILVA, P. **Algas verdes.** Infoescola. [S.I.] [2018?]. Disponível em: <https://www.infoescola.com/biologia/algas-verdes/>. Acesso em: 5 mar. 2020.
- RASHIDI, B.; TRINDADE, M. L. Detailed biochemical and morphologic characteristics of the green microalga *Neochloris oleoabundans* cell wall. **Algal Research**. V. 35, p. 152-159, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.08.033>. Acesso em: 5 mar. 2020.
- UTEX. ***Neochloris oleoabundans*, algal strain.** Disponível em: [https://utex.org/pages/search-results/neochloris%20oleoabundans%20\(algal%2](https://utex.org/pages/search-results/neochloris%20oleoabundans%20(algal%2)



3. MICROALGAS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

[Ostrain%20utex%201185](#)). Acesso em: 19 nov. 2019.

5. YAZDI, R. H. *et al.* Transcriptomic analysis of the oleaginous microalga *Neochloris oleoabundans* reveals metabolic insights into triacylglyceride accumulation. **Biotechnology for Biofuels**. v. 5, n. 72, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1754-6834-5-74>. Acesso em: 5 mar. 2020.
6. WIKIPEDIA. *Neochloris oleoabundans*. 2018. Disponível em: https://en.wikipedia.org/wiki/Neochloris_oleoabundans. Acesso em: 17 nov. 2019.

Reino *Fungi* (Leveduras e Fungos filamentosos)

Fungos são organismos eucarióticos, unicelulares (leveduras) ou multicelulares (fungos filamentosos e bolores de solo, de madeira, de ambientes quentes e úmidos, da água e do ar, e macrofungos), que são heterotróficos e desempenham papéis importantes no ciclo de nutrientes em um ecossistema. Os fungos se reproduzem sexualmente e assexuadamente e também têm associações simbióticas com plantas e bactérias.

As células dos fungos têm um núcleo e organelas, como as células vegetais e animais. As paredes celulares dos fungos contêm quitina, uma substância dura também encontrada no exoesqueleto de insetos e artrópodes, como os crustáceos. Eles não contêm celulose, que comumente constitui a parede celular das plantas. Os fungos multicelulares têm muitas hifas (singular: hifa), que são filamentos ramificados. As hifas têm uma forma tubular e são divididas em compartimentos semelhantes a células por paredes conhecidas como septos. Essas células podem ter mais de um núcleo, e os núcleos e outras organelas podem se mover entre eles. A rede de hifas de um fungo é chamada de micélio.

Os fungos são heterotróficos – eles não podem realizar a biossíntese de carboidratos e, assim, tem que obter nutrientes da matéria orgânica. Para fazer isso, eles usam suas hifas, que se alongam e se ramificam rapidamente, permitindo que o micélio do fungo aumente rapidamente de tamanho. São organismos oportunistas, o que significa que podem obter nutrientes de uma ampla variedade de fontes e prosperar em uma ampla gama de condições ambientais. Alguns fungos obtêm nutrientes da matéria orgânica morta; esses fungos são chamados de sapróbios e considerados decompositores. Outros fungos parasitam plantas ou animais e são responsáveis por induzir doenças. No entanto, os fungos também podem ter relações simbióticas (mutuamente benéficas) com algas ou bactérias fotossintéticas, bem como com as raízes das plantas. Uma associação simbiótica de um fungo e um protista (alga) fotossintetizante é chamada de líquen, enquanto uma associação de raiz de planta e fungo é chamada de micorriza.

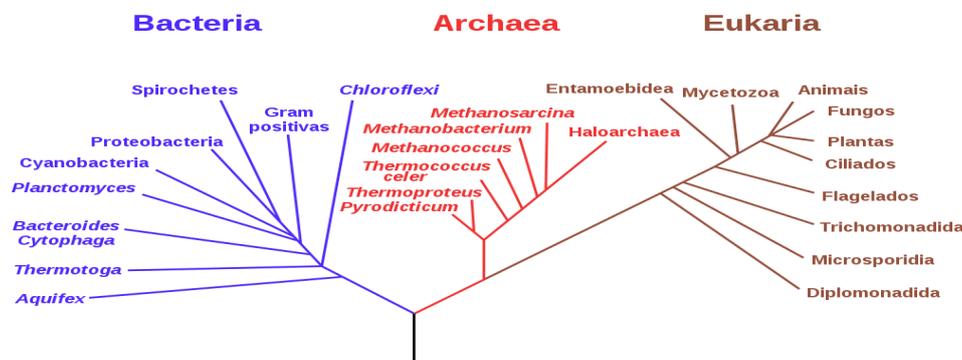


Figura 1 - Árvore filogenética baseada na análise do rRNA, proposta por Carl Woese e George E. Fox (1977), mostrando a separação dos grandes grupos biológicos: Bacteria, Archaea e Eukarya. O Domínio Eukaria, que abriga o Reino Fungi, encontra-se representado em marrom.

Referências

WOESE, Carl R.; FOX, George E. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 74, n. 11, p.5088-5090, 1977. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/74/11/5088>. Acesso em: 01 dez 2020. DOI: 10.1073/pnas.74.11.5088.



Índice

- 4.1 *Aspergillus fumigatus*
- 4.2 *Beauveria bassiana*
- 4.3 *Cyberlindnera jadinii (torula)*
- 4.4 *Exophiala dermatitidis*
- 4.5 *Geotrichum candidum*
- 4.6 *Kluyveromyces marxianus*
- 4.7 *Penicillium chrysogenum*
- 4.8 *Pichia pastoris (Komagataella pastoris)*
- 4.9 *Rhizopus stolonifer*
- 4.10 *Saccharomyces cerevisiae*
- 4.11 *Saccharomyces pastorianus*
- 4.12 *Yarrowia lipolytica*

4.1 *Aspergillus fumigatus*

O *Aspergillus fumigatus* é um fungo causador da aspergilose, doença que é contraída pelo trato respiratório e pode levar a várias alergias e doenças, variando em severidade e podendo atingir um nível grave. Estima-se que um indivíduo inale centenas de conídios deste fungo, mas o sistema imunológico consegue combatê-lo eficazmente (em indivíduos saudáveis), através da ação dos macrófagos (4,8,10). O sequenciamento da estirpe Af293 ocorreu em 2005, e isso abriu portas para estudar melhor o ciclo de vida e o sistema metabólico da espécie para desenvolver uma forma eficaz de tratamento (7).

Apesar de ser nocivo à saúde do ser humano, pelo seu estudo, foram desvendados alguns usos biotecnológicos, como a bioabsorção de metais em soluções aquosas (9).

Características Biológicas

O *Aspergillus fumigatus* (Figura 1) é um fungo filamentososo que pode ser encontrado no mundo todo. Comumente vive no solo e é encontrado com frequência na superfície de plantas e de composteiras. Tendo assim um papel saprofítico de reciclar carbono e nitrogênio de organismos mortos. O mesmo também possui capacidade de suportar a temperaturas de 70 °C, temperatura característica de pilhas de compostagem. Apesar de estar no solo, por poder se disseminar pelo ar, pode assim invadir outros hospedeiros (1).



Figura 1 - Cultura de *Aspergillus fumigatus*.
Fonte: (4).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica do *Aspergillus fumigatus*.

Reino	<i>Fungi</i>
Filo	<i>Ascomycota</i>
Classe	<i>Eurotiomycetes</i>
Ordem	<i>Eurotiales</i>
Família	<i>Aspergillaceae</i>
Gênero	<i>Aspergillus</i>
Espécie	<i>A. fumigatus</i>

Fonte: (6).



4. LEVEDURAS E FUNGOS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Ciclo de vida e Mecanismos Genéticos

Pesquisas proteômicas de *A. fumigatus* indicaram que este tem um armamento enzimático que o permite degradar a parede polisacarídica das plantas (glicosilhidrolases) e em comparação com sapotróficos e fitopatógenos, indica que o nicho primário de *A. fumigatus* é em vegetais. Não possui lignina peroxidase, então seu papel degradativo principal é em folhas e outros materiais friáveis e não em madeira (9). Devido ao seu ambiente, *A. fumigatus* é frequentemente exposto a flutuações de pH e temperatura, bem como a espécies reativas de oxigênio. Uma resposta ao estresse regulado pela proteína cinase dependente de AMPc (PKA) desempenha um papel na regulação do crescimento e da virulência do fungo (7). Ademais, foi demonstrado em experimentos que os mutantes da subunidade reguladora da PKA são mais suscetíveis a danos oxidativos e anormalidades nos conídios, dificultando sua capacidade de se tornar transportada pelo ar e capturada por indivíduos (7).

Ascomicetos filamentosos, como é o caso deste fungo, produzem hifas divididas por septos perfurados, permitindo a transmissão do citoplasma de uma célula para a outra. Conídios e ascos, que são usados para a reprodução sexual e assexuada, respectivamente, geralmente são separados das hifas vegetativas por septos bloqueados (não perfurados) (5).

A reprodução assexuada (Figura 2) é frequente e envolve a produção de conidióforos que liberam esporos haploides que, por sua vez, irão germinar (5).

A reprodução sexual começa com o desenvolvimento de hifas especiais de um dos dois tipos de linhagens de acasalamento. A cepa “masculina” produz anterídios e a “feminina” desenvolve o ascogônio. Na fertilização, o anterídio e o ascogônio se combinam sem fusão nuclear (plasmogamia).

Surgem, então, hifas ascógenas especiais, nas quais pares de núcleos migram: um da linhagem “masculina” e outro da linhagem “feminina”. Em cada asco, dois ou mais ascósporos haploides fundem seus núcleos para originar um zigoto diploide (cariogamia) (5).

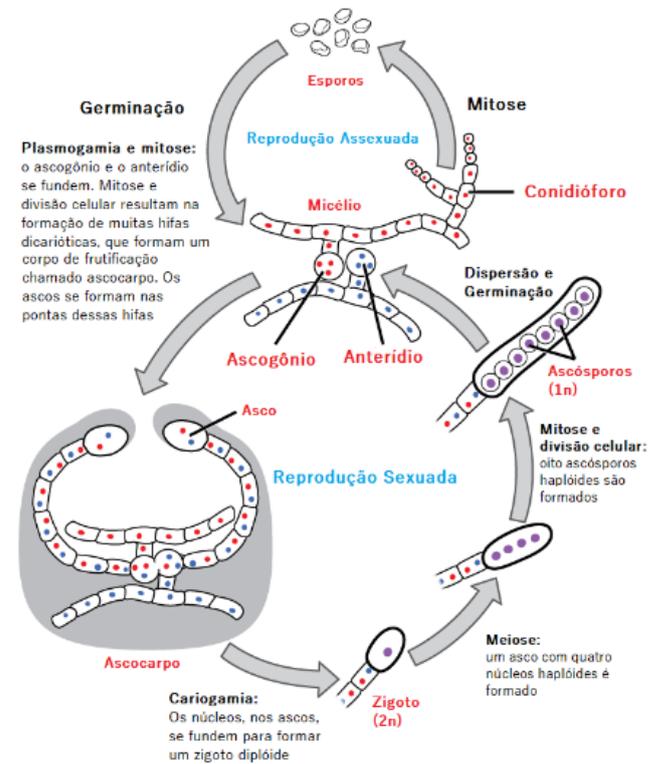


Figura 2 - Ilustração do ciclo de vida do *Aspergillus fumigatus*. O ciclo de vida de um ascomiceto é caracterizado pela produção de ascos durante a fase sexual. A fase haploide é a fase predominante do ciclo de vida. Fonte: (5).

Genoma

Tabela 2 - Genoma de referência do *Aspergillus fumigatus*.

Genoma	Nº de genes	Tamanho (Mb)	GC%	Nº de proteínas	Ano
Af293	9544	28,831	49,5	9630	2005

Fonte: (6).

Aplicações Biotecnológicas

Uma potencial aplicação do fungo *A. fumigatus* é na bioabsorção. A bioabsorção é



considerada como uma tecnologia inovadora para remover metais de soluções aquosa devido as suas vantagens de alta eficiência e seletividade para absorver metais em baixas concentrações, economia de energia e largo espectro de pH e temperaturas. Assim, a *A. fumigatus* vem sendo utilizada com sucesso em construir *beads* fúngicos para absorção de íons de urânio (VI), metal este que pode contaminar o meio e se amplificar na cadeia alimentar (9,11).

Ademais, o *A. fumigatus* provou ser eficaz em reduzir íons de cobre extracelularmente, de forma rápida, detendo o potencial de sintetizar nanopartículas de prata (Figura 3) quando apresentado a íons do mesmo. Os resultados apresentados pelo grupo de Bhainsa *et al* (2006) provaram ser esse método rápido comparável aos métodos físicos e químicos atuais, tomando questão de minutos para a síntese. É considerado vantajoso por ser extracelular e não precisar de passos adicionais como tratamento por ultrassom ou adição de detergentes. Não apenas isso, mas as nanopartículas formadas são bem estáveis mostrando assim, aplicação prática para fabricar nanomateriais (2).

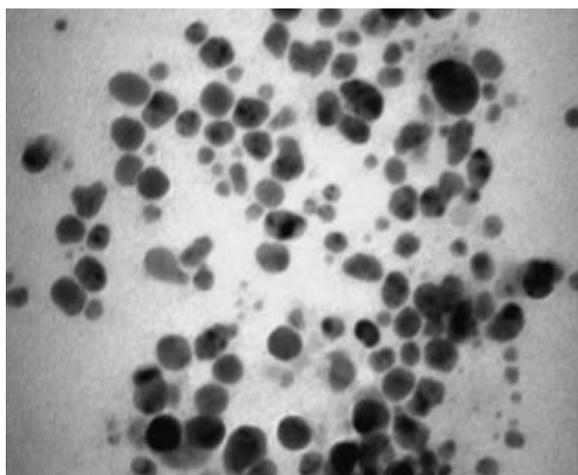


Figura 3 - Micrografia de nanopartículas de prata sintetizadas por *A. fumigatus*. Fonte: (2).

Referências

1. ANNA, H. T. *et al.* Serum Stimulates Growth of and Proteinase Secretion by *Aspergillus fumigatus*. **Infection and Immunity**. v. 70, n. 1, p. 19-26, 2002. DOI: 10.1128/IAI.70.1.19-26.2002. Acesso em: 15 out. 2019.
2. BHAINSA, K. C.; D'SOUZA, S. F. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus fumigatus*. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 47, n. 2, p. 160–164, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2005.11.026>. Acesso em: 15 out. 2019.
3. FINEARTAMERICA. **Culture of Aspergillus Fumigatus Fungus by Science Photo Library**. Disponível em: <https://fineartamerica.com/featured/culture-of-aspergillus-fumigatus-fungus-science-photo-library.html>. Acesso em: 15 out. 2019.
4. LATGE, Jean-Paul. *Aspergillus Fumigatus* and *Aspergillosis*. **Clin Microbial Rev**. v. 12, p. 310–350, 1999. PMID: 10194462.
5. LUMEN, BIOLOGY FOR MAJORS II. **Ascomycota: The Sac Fungi**. Disponível em: <https://courses.lumenlearning.com/wm-biology2/chapter/ascomycota/>. Acesso em: 22 jun. 2020.
6. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *Aspergillus fumigatus*. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/18>. Acesso em: 22 jun. 2020.
7. NIERMAN, W. C. *et al.* Genomic sequence of the pathogenic and allergenic filamentous fungus *Aspergillus fumigatus*. **Nature**. v. 438, n. 7071, p. 1151–1156, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature04332>. Acesso em: 22. jun. 2020.
8. PARIS, S. *et al.* Catalases of *Aspergillus fumigatus*. **Infection and Immunity**. v. 71, n. 6,



p. 3551–3562, 2003. DOI: 10.1128/iai.71.6.3551-3562.2003. Acesso em: 15 out. 2019.

9. TEKAIA, F.; LATGÉ, J. P. *Aspergillus fumigatus*: Saprophyte or pathogen? **Current Opinion in Microbiology**. v. 8, n. 4, p. 385–392, 2005. DOI: 10.1016/j.mib.2005.06.017. Acesso em: 15 out. 2019.
10. VOLLING, K. *et al.* Apoptosis inhibition of alveolar macrophages upon interaction with conidia of *Aspergillus fumigatus*. **FEMS Microbiology Letters**. v. 275, n. 2, p. 250-4. 2007. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2007.00883.x. Acesso em: 15 out. 2019.
11. WANG, J. *et al.* Biosorption of uranium (VI) by immobilized *Aspergillus fumigatus* beads. **Journal of Environmental Radioactivity**. v. 101, n. 6, p. 504–508, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvrad.2010.03.002>. Acesso em: 22 jun. 2020.



4.2 *Beauveria bassiana*

O fungo *Beauveria bassiana* foi nomeado após o entomologista italiano Agostini Bassi, que o descobriu, em 1835, como sendo a causa da doença muscardina, transportada por vetores aéreos (2).

É caracterizado por esporos microscópicos que, ao entrar em contato com um inseto hospedeiro, germinam, penetram na cutícula e se reproduzem dentro, matando o inseto em alguns dias. Após isso, um mofo branco emerge do corpo e produz novos esporos. Estirpes diferentes podem ter hospedeiros-alvo diferentes. Os fatores responsáveis pela susceptibilidade do hospedeiro ainda não foram desvendados. A capacidade dos insetos de se defenderem contra *Beauveria* iluminou muitos aspectos da imunidade inata com relevância direta para a imunologia humana (1).

Características Biológicas

Nasce naturalmente no solo em diversas partes do mundo, sendo considerado ubíquo. É categoricamente parasita de várias espécies de artrópodes (entomopatogênico) causando a doença da muscardina branca (Figura 1). É o anamorfo (forma reprodutiva assexuada) do *Cordyceps bassiana* (5).

Em cultura, o *B. bassiana* se desenvolve como um bolor branco; produz muitos conídios secos em forma de pó como bolas de esporos brancas características. Cada esporo é composto de células conidiogênicas aglomeradas. O ápice destas células é denominado ráqui, o qual alonga após cada conídio produzido, resultando em uma extensão em zig-zag. Os conídios são unicelulares, haploides e hidrofóbicos (5).



Figura 1 - Gafanhotos mortos por *Beauveria Bassiana*, foto por Stefan Jaronski. Fonte: (6).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica de *Beauveria bassiana*.

Reino	<i>Fungi</i>
Filo	<i>Ascomycota</i>
Classe	<i>Sordariomycetes</i>
Ordem	<i>Hypocreales</i>
Família	<i>Cordycipitaceae</i>
Gênero	<i>Beauveria</i>
Espécie	<i>B. bassiana</i>

Fonte: (4).

Ciclo de vida e Mecanismos Genéticos

O alvo principal de estudo para este microrganismo são as suas proteínas degradadoras de quitina denominadas quitinases, as quais agem em conjunto com proteases para destruir a cutícula artrópode, embora o envolvimento da quitinase na patogênese a insetos ainda não fora caracterizado. Pesquisadores do Centro de Pesquisa Biotecnológica de *Chongqing*



observaram que a superexpressão da endoquitinase Bbchit1, através da clonagem do gene da mesma, resultou em uma virulência maior por afídeo (5). Pigmentos não peptídicos e policetídeos (por exemplo, ospaneina, bassianina e tenellina), peptídeos sintetizados de maneira não ribossômica (por exemplo, beauvericina, bassianólides e beauveriólides) e metabólitos secretados envolvidos na patogênese e virulência (por exemplo, ácido oxálico), possuem usos industriais, farmacêuticos e agrícolas potenciais ou já realizados (2).

Com respeito ao ciclo de vida, ascomicetos filamentosos, como é o caso deste fungo, produzem hifas divididas por septos perfurados, permitindo a transmissão do citoplasma de uma célula para a outra. Conídios e ascos, que são usados para a reprodução sexual e assexuada, respectivamente, geralmente são separados das hifas vegetativas por septos bloqueados (não perfurados) (3). A reprodução assexuada (Figura 2) é frequente e envolve a produção de conidióforos que liberam esporos haploides que, por sua vez, irão germinar (3). A reprodução sexual começa com o desenvolvimento de hifas especiais de um dos dois tipos de linhagens de acasalamento. A cepa “masculina” produz anterídios e a “feminina” desenvolve o ascogônio. Na fertilização, o anterídio e o ascogônio se combinam sem fusão nuclear (plasmogamia). Surgem, então, hifas ascógenas especiais, nas quais pares de núcleos migram: um da linhagem “masculina” e outro da linhagem “feminina”. Em cada asco, dois ou mais ascósporos haploides fundem seus núcleos para originar um zigoto diploide (cariogamia) (3).

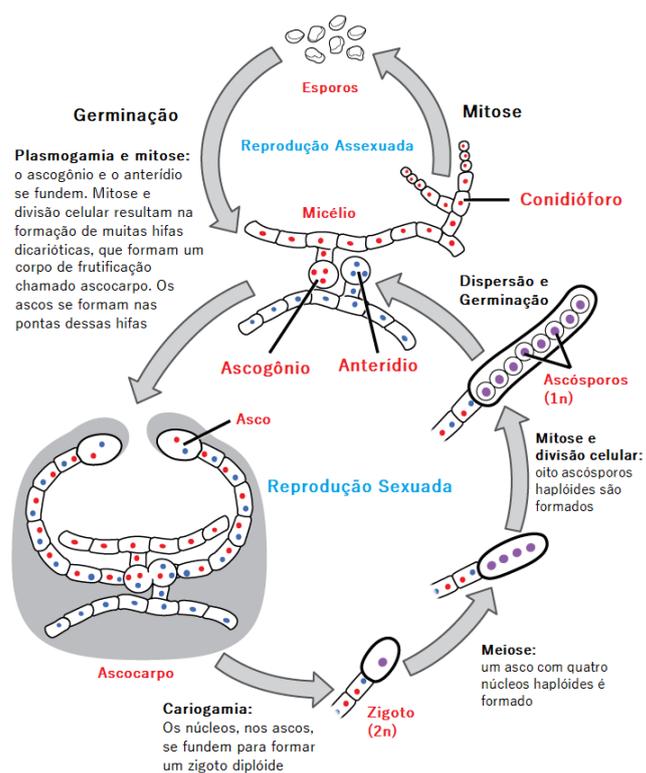


Figura 2 - Ilustração do ciclo de vida do fungo *Beauveria bassiana*. O ciclo de vida de um ascomiceto é caracterizado pela produção de ascos durante a fase sexual. A fase haploide é a fase predominante do ciclo de vida. Fonte: (3).

Genoma

Tabela 2 - Genoma de referência de *Beauveria bassiana*.

Genoma	Nº de genes	Tamanho (Mb)	GC%	Nº de proteínas	Ano
ARSEF 2860	10,364	33,7	51,5	10,364	2012

Fonte: (4).

Aplicações Biotecnológicas

O fungo *Beauveria bassiana* pode ser usado como biopesticida para controle biológico de pragas como cupins, moscas-brancas e muitos outros insetos. Além disso, o uso no controle de mosquitos transmissores da malária está sob investigação (2). Como inseticida, os esporos são pulverizados nas culturas afetadas como uma suspensão



emulsionada, em pó molhável ou aplicados nas redes mosquiteiras como um agente de controle de mosquitos. Pelo fato de algumas cepas terem uma alta abrangência de hospedeiros, esses são considerados inseticidas biológicos não seletivos. E não se recomenda seu uso em flores visitadas por insetos polinizadores. (2, 5)

Outrossim, a modificação genética de *B. bassiana* direcionada a aumentar a expressão do gene *Bbchit1*, responsável pela produção de quitinase, mostrou-se promissora em aumentar a virulência da espécie contra afídeos (1).

O *Beauveria bassiana* também é um conhecido biocatalisador em produtos químicos e tem aplicações industriais (5). Ademais, as larvas do bicho-da-seda infectadas por este fungo (bicho-da-seda batricado), são, há séculos uma medicina tradicional chinesa. O potencial medicinal dos bichos-da-seda batriculados foi validado por tecnologias modernas, por exemplo: extrato de água de bichos-da-seda batriculados protege contra a neurotoxicidade induzida por β -amiloide (5).

Referências

1. FANG, W. *et al.* Cloning of *Beauveria bassiana* Chitinase Gene *Bbchit1* and Its Application to Improve Fungal Strain Virulence. **App Environ Microbiol.** v. 71, n. 1, p. 363–370, 2005. DOI: 10.1128/AEM.71.1.363-370.2005. Acesso em: 22 jun. 2020.
2. FENG, M-G. *et al.* Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. **Biocontrol Science and Technology.** v. 4, n. (1), p. 3-34, 1994. DOI: 10.1080/09583159409355309. Acesso em: 22 jun. 2020.
3. LUMEN, BIOLOGY FOR MAJORS II. **Ascomycota: The Sac Fungi.** Disponível em: <https://courses.lumenlearning.com/wm->

[biology2/chapter/ascomycota/](https://courses.lumenlearning.com/wm-biology2/chapter/ascomycota/). Acesso em: 22 jun. 2020.

4. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *Beauveria bassiana*. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Beauveria+Bassiana>. Acesso em: 22 jun. 2020.

5. XIAO, G. *et al.* Genomic perspectives on the evolution of fungal entomopathogenicity in *Beauveria bassiana*. **Sci Rep.** v. 2, n. 438, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep00483>. Acesso em: 22 jun. 2020.

6. WIKIPEDIA. *Beauveria*. Disponível em: <https://en.wikipedia.org/wiki/File:Beauveria.jpg>.

Acesso em: 25 sep. 2019.



4.3 *Cyberlindnera jadinii*

A *Cyberlindnera jadinii* anteriormente conhecida pelos gêneros (*Picchia*, *Hansenula*, *Lindnera*) pertence ao grupo de leveduras ascomicetas, altamente diversificadas que apresenta um enorme potencial biotecnológico. Essas leveduras convertem uma ampla variedade de substratos em compostos úteis como: etanol, lipídios e vitaminas (5). A *C. jadinii* é considerada como sinônimo de *Candida utilis* devido sua proximidade genômica de 98% (6). A levedura *Candida utilis* fora descrita pela primeira vez como *Torulopsis utilis*, em 1926, por Henneberg, justificando ser popularmente conhecida como levedura *Torula* (1).

Características Biológicas

A *Cyberlindnera jadinii* (Figura 1) é um organismo unicelular, que pode crescer em extremos de temperatura, salinidade e pH (5). *C. jadinii* foi isolada em uma variedade de substratos, desde madeira em decomposição até o organismo humano, mas seu habitat natural é incerto. A espécie é considerada um patógeno oportunista de baixo grau (2,7,9). Suas células podem apresentar formas distintas, como alongadas, esféricas ou ovóides. Algumas espécies do gênero *Cyberlindnera* produzem hifas e pseudo-hifas (7).

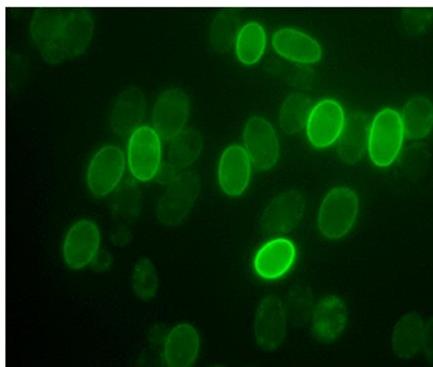


Figura 1 - Imagem de *C. utilis* sinônimo de *Cyberlindnera jadinii* por microscopia de fluorescência. Fonte: (1).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica de *Cyberlindnera jadinii*.

Reino	<i>Fungi</i>
Filo	<i>Ascomycota</i>
Classe	<i>Saccharomycetes</i>
Ordem	<i>Saccharomycetales</i>
Família	<i>Phaffomycetaceae</i>
Gênero	<i>Cyberlindner</i>
Espécie	<i>C. jadinii</i>

Fonte: (3).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

Em sua forma de reprodução teleomórfica (sexuada) é dita como *C. jadinii*, ocorrendo a formação de ascósporos. Em sua forma anamórfica (assexuada), é dita como *Candida utilis*, ocorrendo brotamento multilateral (6,7). Apresenta capacidade de assimilar pentoses, sendo frequentemente cultivada em meios ricos em xilose (8). Além disso, também assimila outras fontes de carbono tais como: ácidos orgânicos, álcoois, propionaldeído e acetaldeído, bem como diversas fontes de azoto (nitrato, nitrito, ureia, hidróxido de amônio) e aminoácidos, o que permite o seu crescimento em diversos substratos de resíduos derivados da biomassa (1).

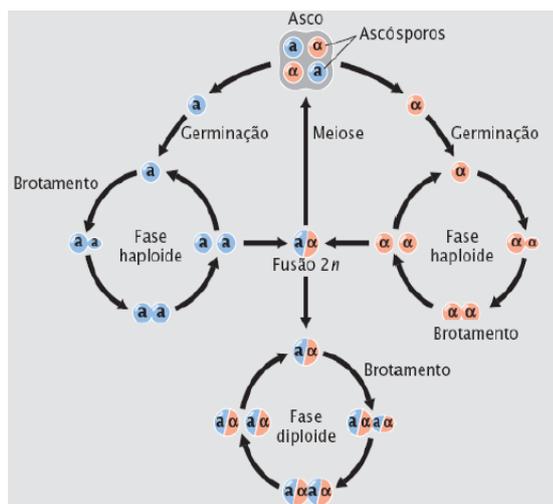


Figura 2 - Representação esquemática do ciclo de vida de *Cyberlindnera jadinii*. Fonte: (4).

Genoma

Tabela 2 - O projeto genômico de *Cyberlindnera jadinii* NRRL Y-1542 foi depositado no GenBank sob o número de acesso LTAD000000000.1.

Genoma	Tamanho (Mb)	% CG	Nº de Proteínas	Nº de Genes	Ano
Linear	13.02	44,6	6.032	6.184	2015

Fonte: (3).

Aplicações Biotecnológicas

A levedura *C. jadinii* apresenta um vasto potencial biotecnológico, podendo ser utilizada para a produção de metabólitos, proteínas, ácidos orgânicos, carotenoides, entre outros, tendo como exemplo: invertase, glutatona, glucomanano, ácidos ribonucleicos. Na medicina estuda-se sua utilização para produção de proteínas terapêuticas de baixo custo para tratamento de doenças autoimune em humanos, devido uma estirpe de *C. jadinii* ter induzido tolerância à esclerose múltipla, em testes com ratos. Outra aplicação para a *C. jadinii* seria como agente probiótico, sendo, por exemplo, antagonista do importante patógeno fúngico humano *Candida albicans* (1).

Referências

1. BUERTH, Christoph; TIELKER, Denis; ERNST, Joachim F. *Candida utilis* and *Cyberlindnera (Pichia) jadinii*: yeast relatives with expanding applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v. 100, n. 16, p. 6981-6990, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-016-7700-8>. Acesso em: 28 nov. 2019.
2. JGI. **Mycocosm. The fungal genomics resources**. Disponível em: <https://mycocosm.jgi.doe.gov/Cybja1/Cybja1.home.html>. Acesso em: 28 nov. 2019.
3. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI). Genome. *Cyberlindnera jadinii*. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Cyberlindnera+jadinii+NRRL+Y-1542>. Acesso em: 28 mar. 2020.
4. PIERCE, Benjamin A. **Genética: um enfoque conceitual** 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.
5. RILEY, Robert. *et al.* Comparative genomics of biotechnologically important yeasts. **Proceedings of The National Academy of Sciences**, v. 113, n. 35, p.9882-9887, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1603941113>. Acesso em: 28 mar. 2020.
6. RUPP, Oliver. *et al.* The structure of the *Cyberlindnera jadinii* genome and its relation to *Candida utilis* analyzed by the occurrence of single nucleotide polymorphisms. **Journal of Biotechnology**, v. 211, p.20-30, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2015.06.423>. Acesso em: 28 mar. 2020.
7. SOUZA, Rafael Marques de. **Produção de xilitol por linhagens de leveduras do gênero Cyberlindnera**. 2019. 70 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 2019.



8. TOMITA, Yasuyuki. *et al.* Genome and Transcriptome Analysis of the Food-Yeast *Candida utilis*. **Plos One**. v. 7, n. 5, p.e37226, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0037226>. Acesso em: 28 mar. 2020.

9. TREGUIER, Pauline. *et al.* Cyberlindnera jadinii (teleomorph *Candida utilis*) candidaemia in a patient with aplastic anaemia: a case report.: a case report. **Jmm Case Reports**, v. 5, n. 8, p. 005160, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1099/jmmcr.0.005160>. Acesso em: 28 mar. 2020.



4.4 *Exophiala dermatitidis*

O fungo *Exophiala dermatitidis* foi encontrado, primeiramente, em ambientes de floresta tropical (no solo e em madeira em decomposição). É comumente isolado de locais com condições quentes e úmidas como: saunas, banhos de vapor e lava-louças (9). Ainda, pode ser encontrado em fontes ambientais associadas a locais poluídos contendo madeira com creosoto (composto utilizado na preservação da madeira) e óleo de origem petrolífera (6). Pode ser denominada *Wangiella dermatitidis*, sinônimo utilizado para caracterizar esse fungo (7).

Infecções superficiais, doenças cutâneas e subcutâneas, além de doenças sistêmicas ou viscerais podem ser causadas por *E. dermatitidis*. As infecções superficiais são comumente relacionadas a traumas, embora possam ocorrer infecções invasivas por *E. Dermatitidis*, após traumas. Há uma série de relatos de casos envolvendo feohifomicose, cromoblastomicose, adenite linfática, fungemia, estomatite, otitímedia, úlceras de córnea, esofagite, pneumonia, cirrose hepática, pancreatite, inflamação dos sistemas gastrointestinal e biliar, edocardite e peritonite, além de infecções cerebrais (3). Um dos fatores mais importantes da virulência desse fungo está envolvido com a produção da melanina. Tal composto confere crescimento em pH ácido, tolerância à dissecação, proteção contra estresse e substâncias tóxicas e capacidade de sobreviver com baixa disponibilidade de água e nutrientes (6). A melanina pode agir como sequestrador de radicais oxidativos do oxigênio, conferindo maior resistência a drogas antifúngicas e aos mecanismos de defesa do organismo do hospedeiro (1).

Características Biológicas

O *Exophiala dermatitidis* (Figura 1) trata-se de um fungo dematiáceo, fungo negro

caracterizado pela produção e deposição de melanina em sua parede celular. É semelhante à levedura, oligotrófico e termofílico, tolerando temperaturas entre 4 e 42°C. Apresenta crescimento lento a 25°C e escurecimento da colônia após 3 ou 4 semanas de cultivo. Não assimila nitrato de potássio. É um patógeno oportunista (1,9).

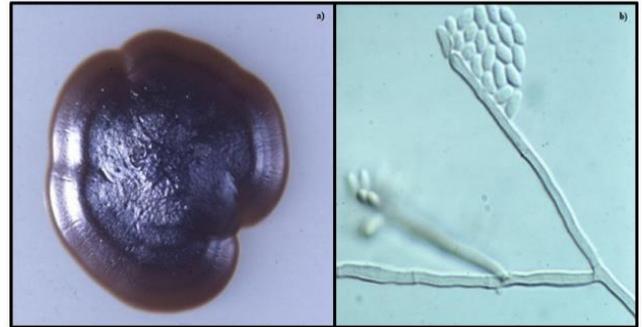


Figura 1 - (a) Macro e (b) micrografia do fungo *Exophiala dermatitidis*. Fonte: (1).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica de *Exophiala dermatitidis*.

Reino	<i>Fungi</i>
Filo	<i>Ascomycota</i>
Classe	<i>Eurotiomycetes</i>
Ordem	<i>Chaetothyriales</i>
Família	<i>Hepotrichiellaceae</i>
Gênero	<i>Exophiala</i>
Espécie	<i>E. dermatitidis</i>

Fonte: (8).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

E. dermatitidis possui propriedades polimórficas, que impedem a exata determinação taxonômica, já que, em algumas fases de crescimento, apresenta características de leveduras, como a reprodução mitótica por brotamento para produção de novas células.



Além disso, *E. dermatitidis* produz pseudo-hifas e hifas septadas. Não foi observada forma sexual desse fungo, mas estudos analisando o lócus *mating type* de *E. dermatitidis* sugerem que pode se reproduzir sexualmente (1,9,11).

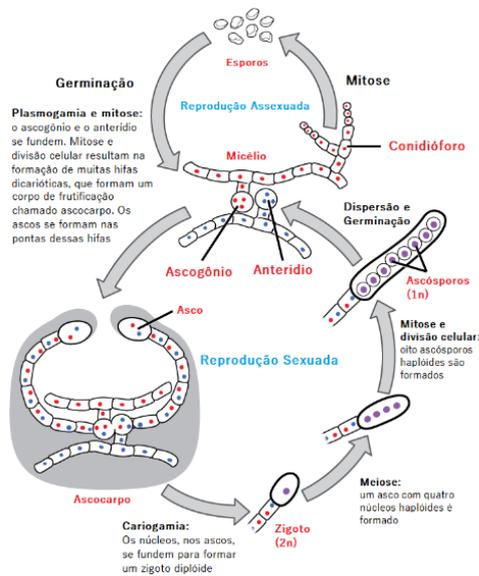


Figura 2 - Ilustração do ciclo de vida de *Exophiala dermatitidis*. O ciclo de vida de um ascomiceto é caracterizado pela produção de ascos durante a fase sexual. A fase haploide é a fase predominante do ciclo de vida. Fonte: (4).

Genoma

O genoma de *Exophiala dermatitidis* ainda não foi totalmente sequenciado. Na plataforma NCBI Nucleotide database encontram-se: o DNA mitocondrial em um nível de 50% do sequenciamento e o DNA cromossômico em um nível de 25% do sequenciamento. Tais informações podem ser consultadas na plataforma pelo número NW_008751656.1 (8).

Genoma	Tamanho (Mb)	GC%	Nº de proteínas	Nº de genes	Ano
Cromossomo 1 Linear	26,37	51,5	9578	9356	2017

Tabela 1 - Genoma de *Exophiala dermatitidis*. Fonte: (8).

Aplicações Biotecnológicas

Possui grande aplicação biotecnológica por ser um organismo oligotrófico, utilizando-se de diversos hidrocarbonetos para sua sobrevivência. Estudos demonstraram que *E. dermatitidis* suportou o crescimento tendo benzeno, tolueno, xileno, gasolina ou óleo diesel como única fonte de carbono. Dessa forma, pode ser utilizado para biorremediação de áreas contaminadas com esse tipo de composto (5).

Referências

1. KAJISHIMA, Akio K. **Estudo da biogênese dos melanossomas e o controle da síntese da melanina pelo inibidor triclazol nos fungos demáceos *Fonsecaea pedrosoi* e *Wangiella dermatitidis***. 2009. 31f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Bioetnologia) – Colegiado de Ciências Biológicas e da Saúde – Centro Universitário Estadual da Zona Oeste. Rio de Janeiro. 2009.
2. KONDORI, Nahid. *et al.* High Rate of *Exophiala dermatitidis* Recovery in the Airways of Patients with Cystic Fibrosis Is Associated with Pancreatic Insufficiency. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 3, p. 1004-1009, 2011. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1128/JCM.01899-10>. Acesso em: 27 nov. 2019.
3. LANG, Raynell. *et al.* Disseminated *Exophiala dermatitidis* causing septic arthritis and osteomyelitis. **BMC Infectious Diseases**, v. 18, n. 255, p. 1-5, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3171-0>. Acesso em: 27 nov. 2019.
4. LUMEN, BIOLOGY FOR MAJORS II. **Ascomycota: The Sac Fungi**. Disponível em: <https://courses.lumenlearning.com/wm-biology2/chapter/ascomycota/>. Acesso em: 22 jun. 2020.



- Acesso em: 28 nov. 2019.
5. MEGIOLARO, Fernanda. **Potencial biotecnológico de fungos melanizados na degradação e assimilação de hidrocarbonetos.** 2016. 77f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciência e Biotecnologia) – Universidade do Oeste de Santa Catarina. Videira. 2016.
 6. MELATI, Ranieri Bueno. **Ocorrência de fungos negros em ambientes domésticos.** 2015. 39 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista. Rio Claro. 2015.
 7. NAGANO, Yuriko. *et al.* Development of a novel PCR assay for the identification of the black yeast, *Exophiala (Wangiella) dermatitidis* from adult patients with cystic fibrosis (CF). **Journal of Cystic Fibrosis**, v. 7, n. 6, p. 576-580, 2008. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1016/j.jcf.2008.05.004>. Acesso em: 27 mar. 2020.
 8. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI). *Exophiala dermatitidis*. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Wangiella+dermatitidis+NIH+8656>. Acesso em: 27 nov. 2019.
 9. OLSOWSKI, Maike. *et al.* *Exophiala dermatitidis* isolates from various sources: using alternative invertebrate host organisms (*Caenorhabditis elegans* and *Galleria mellonella*) to determine virulence. **Scientific Reports**, v. 8, n. 12747, p. 1-13, 2018. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-30909-5>. Acesso em: 28 nov. 2019.
 10. SUZUKI, Kei. *et al.* Pulmonary infection caused by *Exophiala dermatitidis* in a patient with multiple myeloma: A case report and a review of the literature. **Medical Mycology Case Reports**. v. 1, n. 1, p. 95-98, 2012. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1016/j.mmcr.2012.10.002>.
 11. TEIXEIRA, M. M. *et al.* Exploring the genomic diversity of black yeasts and relatives (*Chaetothyriales*, *Ascomycota*). **Studies in Mycology**, v. 86, p. 1-28, 2017. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1016/j.simyco.2017.01.001>. Acesso em: 28 nov. 2019.



4.5 *Geotrichum candidum*

O fungo onipresente *Geotrichum candidum* pode ser encontrado em uma ampla gama de ambientes, desde solo, água, ar, tecidos vegetais, silagem, leite, queijos e até no trato respiratório e gastrointestinal de humanos e outros mamíferos (3,10). Por isso, é utilizado para produção de muitos queijos, conferindo qualidades organolépticas a eles, além de cervejas e enzimas industriais. Inicialmente, fora classificado como levedura, mas sua alta variabilidade morfológica e ampla diversidade fenotípica o fizeram ser reclassificado como fungo filamentososo do tipo levedura (6).

Outrossim, o *G. candidum* é capaz de causar geotricose. Essa é uma doença micótica esporádica, infecciosa e oportunista de mamíferos. O primeiro registro de geotricose ocorreu em 1809, quando um médico isolou o *G. candidum* de um paciente. A infecção já foi relatada na Índia e em outros países do mundo. Nos seres humanos, pode ocorrer como uma infecção oral, brônquica, pulmonar ou intestinal. O tratamento da geotricose utiliza medicamentos antifúngicos. Anfotericina B, nistatina e miconazol apresentaram, *in vitro*, potencial antifúngico contra *G. candidum* (9).

Características Biológicas

O *Geotrichum candidum* (Figura 1) trata-se de um fungo filamentososo do tipo levedura aeróbio, móvel, não capsulado com temperatura ótima de crescimento de 30° a 35°C. Pode sobreviver a temperaturas mínimas de 2°C e é inativado em temperaturas próximas a 55°C (9). O pH ótimo para crescimento se encontra nas faixas de 6,0 e 7,0. Quando cultivado em ágar Sabouraud glicose a 37°C, esse fungo produz colônias planas, brancas e cremosas (3). *G. candidum* apresenta alta sensibilidade ao sal, sendo inibido completamente com concentrações acima de 5% de cloreto de sódio e, por isso, é

encontrado e utilizado apenas no início da fermentação de queijos (1).



Figura 1 - Variação na aparência (a) macro e (b) microscópica de *Geotrichum candidum* utilizando lentes de 400x de aumento. Fonte: (11).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica de *Geotrichum candidum*.

Reino	<i>Fungi</i>
Filo	<i>Ascomycota</i>
Classe	<i>Saccharomycetes</i>
Ordem	<i>Saccharomycetales</i>
Família	<i>Dipodascaceae</i>
Gênero	<i>Geotrichum</i>
Espécie	<i>G. candidum</i>

Fonte: (7).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

G. candidum possui propriedades polimórficas, que por vários anos tornaram sua taxonomia bastante confusa (6). Esse microrganismo pode se reproduzir por esporulação e também produzir hifas. É capaz de metabolizar, por via oxidativa, glicerol, galactose, manose, D-xilose, sorbose, glucose, fructose, manitol, sorbitol e esculina. A lactose é dificilmente oxidada, enquanto que o ácido láctico é uma boa fonte de carbono para *G. candidum*



(1). Ainda, pode ser utilizado para a despolimerização de polifenóis (2).

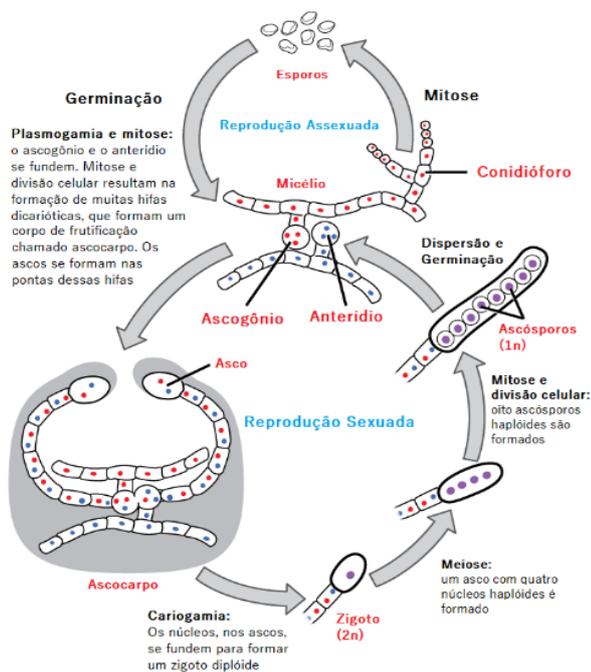


Figura 2 - Ilustração do ciclo de vida do *Geotrichum candidum*. O ciclo de vida de um ascomiceto é caracterizado pela produção de ascos durante a fase sexual. A fase haploide é a fase predominante do ciclo de vida. Fonte: (5).

Genoma

A análise genética de *G. candidum* revelou que o fungo possui muitos genes para a produção de quitina, composto este presente nas paredes celulares de fungos. Devido ao fato dessa substância ser muito importante para a formação de filamentos, explica-se o fato de *G. candidum* reproduzir-se por meio da formação de hifas. Além disso, alguns genes detectados estão envolvidos na produção de enzimas celulases, as quais são necessárias para fungos que habitam plantas, para decompor a celulose em açúcares menores e de fácil assimilação. Dessa forma, tem-se mais uma característica que o faz ser classificado como fungo e não levedura (6). O genoma de *Geotrichum candidum* ainda não foi totalmente sequenciado. Há duas reuniões de informações na plataforma NCBI Nucleotide database que contemplam 50% do genoma desse

fungo. Tais informações podem ser acessadas na plataforma utilizando o número de identificação 34452 (7).

Tabela 2 - Genoma da linhagem CLIB 918 de *Geotrichum candidum*.

Genoma	Tamanho (Mb)	GC%	Nº proteínas	Nº de genes	Ano
CLIB 918	24,84	42,3	6799	7357	2015

Fonte: (7).

Aplicações Biotecnológicas

Estudos demonstraram a utilização de *G. candidum*, juntamente a *Trichosporon cutaneum*, no tratamento de resíduos da produção de azeite de oliva. O fungo em questão foi utilizado no tratamento e descoloração do efluente e em seis dias, *G. candidum* removeu 77% da DQO (demanda química de oxigênio) e 47% da cor do resíduo, justamente por sua capacidade de despolimerizar polifenóis, compostos que geralmente são responsáveis pela coloração de vegetais (2). Isso se deve ao fato do fungo produzir lipases ligadas ao seu micélio, quando cultivado em presença de óleo, o que o torna um biocatalisador para indústrias de óleos e gorduras (8). Além disso, algumas pesquisas também sugerem a utilização desse fungo para a biorremediação de locais poluídos pela indústria de álcool etoxilado e detergentes (4). Ainda, como já citado, pode ser utilizado no início da fermentação de queijos (1), principalmente do queijo Camembert, devido a fazer parte da microbiota natural do leite cru e por sua capacidade proteolítica e aromática (7).

Referências

- DIAS, Geruza. **Influência do uso de *Geotrichum candidum* nas características físico-química e sensoriais do queijo tipo Camembert**. 2007. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007. Disponível em:



4. LEVEDURAS E FUNGOS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

- <<https://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/2826/texto%20completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 28 nov. 2019.
- DRAGIČEVIĆ, Tibela Landeka. *et al.* Biodegradation of olive mill wastewater by *Trichosporon cutaneum* and *Geotrichum candidum*. **Archives of Industrial Hygiene and Toxicology**, v. 61, n. 4, p. 399-405, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.2478/10004-1254-61-2010-2079>. Acesso em: 27 nov. 2019.
 - HEINIC, Gad S. *et al.* Oral *Geotrichum candidum* infection associated with HIV infection. **Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology**, v. 73, n. 6, p. 726-728, 1992. Disponível em: [https://dx.doi.org/10.1016/0030-4220\(92\)90019-m](https://dx.doi.org/10.1016/0030-4220(92)90019-m). Acesso em: 28 nov. 2019.
 - JAKOVLJEVIĆ, Violeta D.; VRVIĆ, Miroslav M. Potential of pure and mixed cultures of *Cladosporium cladosporioides* and *Geotrichum candidum* for application in bioremediation and detergent industry. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 3, p. 529-536, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.01.020>. Acesso em: 28 nov. 2019.
 - LUMEN, BIOLOGY FOR MAJORS II. **Ascomycota: The Sac Fungi**. Disponível em: <https://courses.lumenlearning.com/wm-biology2/chapter/ascomycota/>. Acesso em: 22 jun. 2020.
 - MOREL, Guillaume. *et al.* Differential gene retention as an evolutionary mechanism to generate biodiversity and adaptation in yeasts. **Scientific Reports**, v. 5, n. 11571, p. 1-17, 2015. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1038/srep11571>. Acesso em: 27 nov. 2019.
 - NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI). ***Geotrichum candidum***. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Geotrichum+candidum>. Acesso em: 27 nov. 2019.
 - PAES, Simone Albino. **Diversidade genética de isolados de *Geotrichum spp.* associados a podridões pós-colheita em frutas e hortaliças no Brasil**. 2016. 44 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2016. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/f110/119096f6995d9845ef78fc99cd1d60f748be.pdf>. Acesso em: 28 nov. 2019.
 - PAL, Mahendra. *et al.* Geotrichosis - An Opportunistic Mycosis of Humans and Animals. **International Journal of Livestock Research**, v. 3, n. 2, p. 38-44, 2013. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.5455/ijlr.20130525092525>. Acesso em: 27 nov. 2019.
 - THE UNIVERSITY OF ADELAIDE. **Mycology Online: *Geotrichum candidum***. Disponível em: <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/hyphomycetes/geotrichum/>. Acesso em: 27 nov. 2019.
 - WOLFE, Benjamin. ***Geotrichum candidum*: A yeast holding on to its moldy past**. Publicado a 23/12/2015. Disponível em: <http://microbialfoods.org/geotrichum-candidum-mold-transition/>. Acesso em: 28 nov. 2019.



4.6 *Kluyveromyces marxianus*

A levedura *Kluyveromyces marxianus* já foi encontrada em uma grande variedade de habitats. Isso sugere a existência de uma alta diversidade metabólica e elevado grau de polimorfismos intraespecíficos (2, 8). Entretanto, por ser uma levedura fermentadora de lactose, é largamente encontrada em fontes lácteas (2,6).

Tal levedura possui diversas aplicações biotecnológicas e industriais como: produção de enzimas endógenas termoestáveis, biomassa, emulsificantes, compostos aromáticos, além de poder ser utilizada para o tratamento de resíduos de papel e lama, remoção de lactose e outros açúcares de águas residuais, biossorção de corantes e, ainda, recuperação de metais pesados de águas residuais (2).

Características Biológicas

A *Kluyveromyces marxianus* (Figura 1) é unicelular, não filamentosa, tem parede celular rígida e pode apresentar-se em formato esférico ou oval (7). Ocasionalmente, pode aparecer na forma de cilindro, com tamanho variando de 4 a 8 μm . Pode ocorrer de forma isolada, aos pares, ou em cadeias (1). Ainda, é termotolerante, podendo crescer em temperaturas entre 25 e 45°C (2).

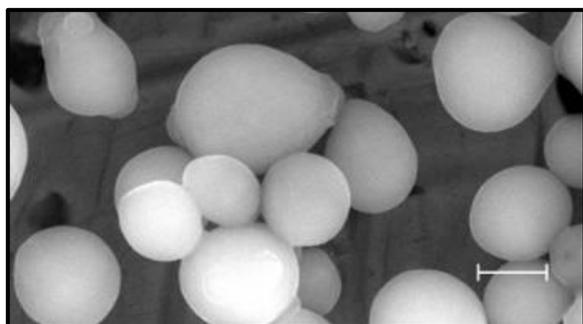


Figura 1 - Micrografia de microscopia eletrônica de varredura de *K. marxianus*; 2 μm . Fonte: (4).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica de *Kluyveromyces marxianus*.

Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Classe	Saccharomycetes
Ordem	Saccharomycetales
Família	Saccharomycetaceae
Gênero	<i>Kluyveromyces</i>
Espécie	<i>K. marxianus</i>

Fonte: (6).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

As leveduras desse gênero são facultativas e, em condições aeróbias, sobrevivem por meio de respiração por possuírem alta afinidade ao oxigênio e grande capacidade respiratória (7). Quando em condições anaeróbias estritas, sobrevivem a partir da fermentação produzindo etanol. Além disso, possuem capacidade de utilizar açúcares como: lactose, inulina (polímero de frutose, metabolizado intra e extracelularmente) e glicose. Também, produzem enzimas como: a β -galactosidase (intracelular), inulinase e endopoligalacturonase (2,7,8). A *K. marxianus* possui alta taxa de crescimento celular e eficiência na conversão de substratos em biomassa, que são consequência da rápida hidrólise de substrato, o que otimiza tempo de reação (2). Em se tratando de reprodução, essa levedura realiza brotamento, mas também produz esporos e pode produzir pseudohifas (1).



4. LEVEDURAS E FUNGOS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

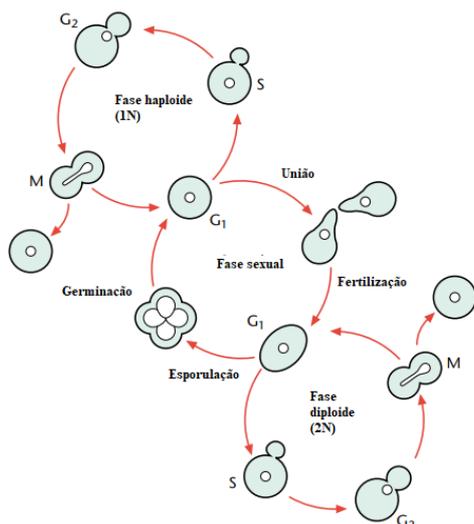


Figura 2 - Ilustração do ciclo de vida de *Kluyveromyces marxianus*. Alternância de gerações e crescimento vegetativo. Fonte: (5).

Genoma

O número de cromossomos dessa espécie pode variar de seis a doze, dependendo da cepa que for analisada. A quantidade mais comum é de oito cromossomos (3). Informações sobre o genoma completo de *K. marxianus* podem ser consultadas na plataforma NCBI pelo número de identificação 10898. Mesmo assim, ainda há grande limitação em relação à pesquisa molecular de *K. marxianus*, devido à falta de informações abrangentes sobre a sequência do genoma, já que existe forte dependência da sequência parcial da cepa CBS 712 de *Kluyveromces marxianus* (2).

Tabela 2 - Genoma de *Kluyveromyces marxianus*.

Genoma	Tamanho (Mb)	GC%	Proteínas	Genes	Ano
Cromossomo 1	1,75	40,0	803	832	2016

Fonte: (6).

Aplicações Biotecnológicas

As leveduras da espécie *K. marxianus* pertencem à classificação de microrganismos

GRAS (“Generally Recognized As Safe”, do inglês, “geralmente reconhecidos como seguros”) feita pelo departamento FDA (Food and Drug Administration) do governo dos Estados Unidos (2,7,8). Por isso, há alto potencial no setor da biotecnologia e poucas restrições à aplicação, otimizando o uso desse microrganismo na indústria. Além disso, sua capacidade de fermentar açúcares como: lactose e inulina, somada a sua taxa de crescimento extremamente rápida, na qual o tempo de geração é de aproximadamente 70 minutos, e também à termotolerância e atividade secretora, aumentam seu potencial de aplicabilidade na indústria biotecnológica (2).

Ademais, o fato de *K. marxianus* produzir enzimas como β -galactosidase (7) e inulinase impulsionaram diversas pesquisas acerca de seu potencial industrial. A produção de inulinase, principalmente, é de grande interesse por não ser uma enzima encontrada em outras leveduras e fungos. Tais estudos tornam *Kluyveromyces marxianus* uma fonte alternativa de enzimas interessantes para a biotecnologia (2).

Por fim, de acordo com algumas pesquisas, a levedura em questão é uma alternativa a *Saccharomyces cerevisiae* para a produção de etanol 2G a partir de material lignocelulósico. *Kluyveromyces marxianus* se mostrou mais eficiente devido à extrema termotolerância, o que possibilita que os processos de sacarificação e fermentação ocorram em conjunto, otimizando o processo como um todo (4).

Referências

1. DEPARTMENT OF VITICULTURE & ENOLOGY, UNIVERSITY OF CALIFORNIA. *Kluyveromyces marxianus*. Publicado em 2018. Disponível em: <https://wineserver.ucdavis.edu/industry-info/enology/wine-microbiology/yeast-mold/kluyveromyces-marxianus>. Acesso em: 23 set. 2019.



2. LANE, Melanie M.; MORRISSEY, John P. *Kluyveromyces marxianus*: A yeast emerging from its sister's shadow. **Fungal Biology Reviews**. v. 24, n. 1-2, p. 17-26, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2010.01.001>. Acesso em: 22 set. 2019.
3. LERTWATTANASAKUL, Noppon. et al. Genetic basis of the highly eficiente yeast *Kluyveromyces marxianus*: complete genome sequence and transcriptome analyses. **Biotechnology for Biofuels**, Yamaguchi, v. 8, n. 47, p 1-14, 2015. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1186/s13068-015-0227-x>. Acesso em: 23 set. 2019.
4. MEHMOOD, Nasir. et al. *Kluyveromyces marxianus*, an Attractive Yeast for Ethanollic Fermentation in the Presence of Imidazolium Ionic Liquids. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 3, p. 1-15, 2018. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.3390/ijms19030887>. Acesso em: 28 mar. 2020.
5. MELL, J.; BURGESS, S. Yeast as a Model Genetic Organism. In: [S.I]. **Encyclopedia of life science**. Macmillan Publishers Ltd, Nature Publishing Group. 2003. Doi: 10.1038/npg.els.0000821. Acesso em: 30 ago. 2019.
6. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *Kluyveromyces marxianus*. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=kluyveromyces+marxianus%5Borgn%5D>. Acesso em: 30 ago. 2019.
7. OGRODOWSKI, Rodenei. **Produção de biomassa a partir do soro de queijo para obtenção de ribonucleotídeos**2006. 122 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas. São Paulo. 2006.
8. SCHOLZ, Elisa Bonifacio. **Estudo Cinético de *Kluyveromyces marxianus* CBS 6556 a partir de fontes alternativas de Carbono e Nitrogênio visando a síntese de β -galactosidase**. 2011. 89 f. Projeto de Pesquisa (Mestrado em Engenharia de Processos) – Universidade da Região de Joinville. Programa de Mestrado em Engenharia de Processos. Joinville. 2011.
9. TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell. R.; CASE, Christine. L. **Microbiologia**. 10 ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.



4.7 *Komagataella pastoris*

A *Komagataella pastoris* é uma levedura metilotrófica, anteriormente pertencente ao grande grupo conhecido como *Pichia pastoris*, que foi reclassificado para um novo gênero denominado *Komagataella* e dividido em três espécies *K. pastoris* e *K. phaffii*, que foram as linhagens utilizadas para aplicações biotecnológicas, e *K. pseudopastoris*. A *Komagataella pastoris* é a linhagem de referência para todas as linhagens de *Pichia pastoris* disponíveis, abrangendo a série SMD de linhagens deficientes em protease. Sendo a espécie de levedura mais utilizada na produção de proteínas heterólogas, especialmente com estruturas de N-glicano semelhantes a humanos. *Komagataella pastoris* é mundialmente usada na produção de proteínas em diversos campos de estudos fundamentais, sendo alvo de medicamentos, devido ao uso terapêutico, além de ser utilizada como modelo para proliferação peroxissômica e assimilação de metanol (4).

Características Biológicas

A *Komagataella pastoris* (Figura 1) é um organismo unicelular, pertencente à família *Saccharomycetaceae*, aeróbica facultativa, podendo apresentar forma oval ou cilíndrica. Em meio sólido, formam colônias não filamentosas brancas ou creme (8). Sendo geralmente encontradas em exsudatos (seiva) de árvores como *Quercus emoryi*, *Populus fremontii* (2).

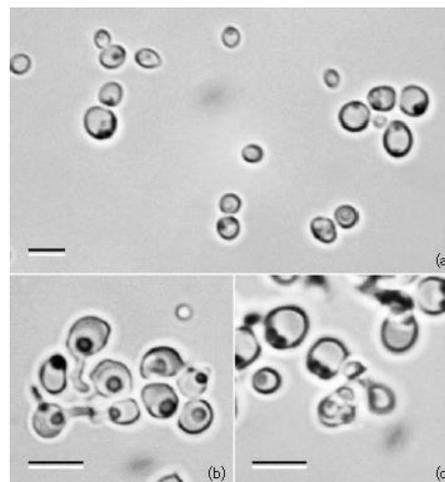


Figura 3 - Imagem de *Pichia pastoris* reclassificada para o gênero *Komagataella*, (a) células em brotamento. b) células com tubos de conjugação; c) asco deliquescente com quatro ascósporos em forma de chapéu. Fonte: (2).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica de *Komagataella pastoris*.

Reino	<i>Fungi</i>
Filo	<i>Ascomycota</i>
Classe	<i>Saccharomycetes</i>
Ordem	<i>Saccharomycetales</i>
Família	<i>Saccharomycetaceae</i>
Gênero	<i>Komagataella</i>
Espécie	<i>K. pastoris</i>

Fonte: (5).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

As leveduras da família *Saccharomycetaceae* reproduzem-se de forma assexuada ou sexuada, podendo existir como células haploides ou diploides. A reprodução assexuada ocorre nas células haploides, durante



escassez de nutrientes, por brotamento ou fissão (mitose). Na reprodução sexuada existem dois tipos de acasalamento onde as diferentes células haploides se fundem e sofrem fusão nuclear para criar uma célula diploide capaz de se reproduzir por mitose. Porém, a escassez de nutrientes induz a célula diploide a sofrer meiose, resultando em quatro núcleos haploides que se separam em diferentes células produzindo esporos haploides que ficam presos em uma estrutura comum, o asco (7). A notável característica fisiológica dessa levedura é o fato de ela ser metilotrófica, sendo capaz de crescer em meio contendo metanol como única fonte de carbono. Isso ocorre pela hiperexpressão de uma enzima peroxissomal chamada álcool oxidase que pode atingir 30% das proteínas intracelulares na presença de metanol (6).

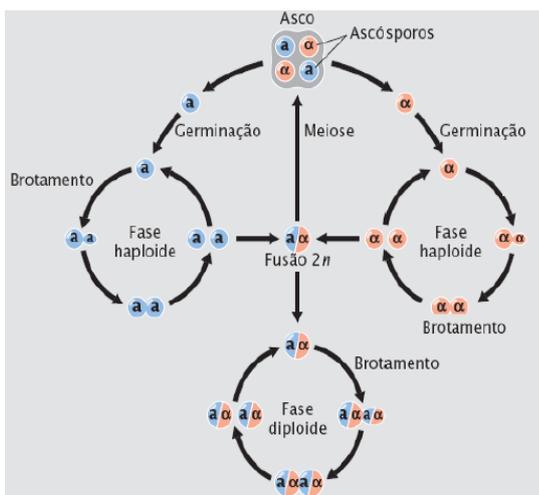


Figura 4 - Representação esquemática do ciclo de vida de *K. pastoris*. Fonte: (7).

Genoma

O genoma de *Komagataella pastoris* é de aproximadamente 9,4 Mb, organizado em quatro cromossomos, nos quais apresenta baixa redundâncias de genoma, onde a maioria das enzimas metabólicas está presente apenas em cópias únicas (4). O genoma de *K. pastoris* contém dois genes álcool oxidase AOX₁ e AOX₂ específicos que permitem a

utilização do metanol como fonte de carbono e energia. Os promotores de AOX são induzidos por metanol e são reprimidos por glicose, glicerol ou etanol (1).

Tabela 2 - O projeto genômico de *Komagataella pastoris* DSMZ 70382 foi depositado no GenBank sob o número de acesso LTAD00000000.1.

Genoma	Tamanho (Mb)	% CG	Nº de proteínas	Nº de genes	Ano
Linear	9,4	41,1	5,057	5,274	2009

Fonte: (5).

Aplicações Biotecnológicas

Quanto ao potencial biotecnológico de *Komagataella pastoris*, a mesma se destaca como hospedeiro alternativo para a produção de proteínas heterólogas biofarmacêuticas como: proteases, anilases, glicomilases, xilanases, lipases, celulases, isomerases entre outras. Apresentando muitas vantagens em relação a outras leveduras como, por exemplo, *Saccharomyces cerevisiae*, devido a sua alta densidade de cultivo, rápido crescimento, desenvolvimento de linhagens mais estáveis, com processamento pós-traducional similar ao de humanos com glicosilação dos tipos (O e N-glicano), crescimento em meio com metanol que inibe o crescimento de contaminantes, baixo custo de produção em escala industrial e baixa carga protéica (6). A baixa carga protéica secretada é uma grande vantagem que possibilita os produtos secretados serem muito menos contaminados com a proteína da célula hospedeira (4). Além disso, a necessidade de engenharia genética para produzir linhagens de *K. pastoris* melhoradas de alto rendimento é relativamente baixa (3). Embora a produção de proteínas seja a principal aplicação biotecnológica de *K. pastoris*, a produção de metabólitos também entrou recentemente em foco de pesquisa, pois além dessas aplicações biotecnológicas, é amplamente utilizado como



modelo para a pesquisa de peroxissomos e organelas secretoras (4).

Referências

1. AHMAD, Mudassar. *et al.* Protein expression in *Pichia pastoris*: recent achievements and perspectives for heterologous protein production. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v. 98, n. 12, p.5301-5317, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-014-5732-5>. Acesso em: 6 abril 2020.
2. KURTZMAN, C. P. Description of *Komagataella phaffii* sp. nov. and the transfer of *Pichia pseudopastoris* to the methylotrophic yeast genus *Komagataella*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 55, n. 2, p.973-976, 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1099/ijs.0.63491-0>. Acesso em: 28 abril 2020.
3. LOVE, Kerry R. *et al.* Comparative genomics and transcriptomics of *Pichia pastoris*. **Bmc Genomics**. v. 17, n. 1, p.1-17, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s12864-016-2876-y>. Acesso em: 28 abril 2020.
4. MATTANOVICH, Diethard *et al.* Genome, secretome and glucose transport highlight unique features of the protein production host *Pichia pastoris*. **Microbial Cell Factories**, [s.l.], v. 8, n. 29, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/1475-2859-8-29>. Acesso em: 28 abril 2020.
5. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI). Genome. *Komagataella pastoris*. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Komagataella+pastoris+>. Acesso em: 6 abr. 2020.
6. OLIVEIRA NETO, Osmar de Souza. **Identificação e análise funcional de sinais de secreção de *Pichia pastoris***. 2012, 70 f., il.
7. PIERCE, Benjamin A. **Genética: um enfoque conceitual**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.
8. ZEPEDA, Andrea B.; PESSOA, Adalberto; FARÍAS, Jorge G. Carbon metabolism influenced for promoters and temperature used in the heterologous protein production using *Pichia pastoris* yeast. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, p.119-127, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2018.03.010>. Acesso em: 28 abril 2020.

Dissertação (Mestrado em Biologia Molecular) - Universidade de Brasília. Brasília. 2012.



4.8 *Penicillium chrysogenum*

O *Penicillium chrysogenum* é um fungo ascomiceto conhecido por ser o principal produtor, a nível industrial, de antibióticos β -lactâmicos, sendo a penicilina, o mais conhecido (4). A penicilina foi descoberta, em 1928, por Fleming, que chamou inicialmente o fungo produtor deste antibiótico de *Penicillium notatum* e, posteriormente, renomeou-o como *Penicillium chrysogenum*. A enorme utilidade da penicilina não foi notada até a década de 1940, quando foi testada clinicamente e produzida em grande escala (8). Todas as linhagens industriais mutadas de *P. chrysogenum* são descendentes da linhagem selvagem NRRL 1951, que fora isolada durante a Segunda Guerra Mundial, a partir de um melão infectado (1). As linhagens industriais foram obtidas por mutagênese por raios X e UV, com objetivo de construir linhagens melhoradas de alta produção, incluindo a amplificação dos genes de biossíntese da penicilina (1,4).

Características biológicas

O *Penicillium chrysogenum* (Figura 1) é um fungo estritamente aeróbico, saprófito, mesofílico, filamentososo com hifas septadas e formadoras de conídios que podem variar entre as formas globosa, subglobosa e elipsoidal. Suas colônias apresentam um denso feltro aveludado, geralmente, de coloração branca nas bordas e verde azulado, verde amarelado, cinza azulado no centro, produzindo um exsudado amarelo pálido ao amarelo brilhante, com aroma frutado ou picante, frequentemente semelhante a abacaxi ou maçã, ou podendo ser inodoro (5). O gênero *Penicillium* é onipresente e pode ser isolado de diferentes ambientes: solos, sedimentos, águas marinhas e em locais de condições extremas (temperatura, salinidade, habitats ácidos, alcalinos e deficientes em água), associados a plantas, caracterizando-se como fungos epífitos, endófitos e rizosféricos, além de estar presente

também em alimentos em decomposição como frutas e pães (9).



Figura 1 - Colônia de *Penicillium chrysogenum*.
Fonte: (9).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica do fungo *Penicillium chrysogenum*.

Reino	<i>Fungi</i>
Filo	<i>Ascomycota</i>
Classe	Eurotiomycetes
Ordem	Eurotiales
Família	Trichocomaceae
Gênero	<i>Penicillium</i>
Espécie	<i>P. chrysogenum</i>

Fonte: (3).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

O *P. chrysogenum* é um fungo considerado naturalmente anamorfo (asexual) a mais de 100 anos. No entanto, recentemente, evidências comprovaram o potencial de *P. chrysogenum* para um ciclo sexual heterotálico, envolvendo produção de progênie de ascósporo recombinante. Isso ocorre devido à descoberta de genes de sinalização do tipo acasalamento (*MAT*) e feromônios presentes em *P. chrysogenum*. A descoberta dos cruzamentos sexuais é de grande importância para o desenvolvimento de novas linhagens com características industriais aprimoradas (2). A reprodução assexuada ocorre



a partir da formação dos conidióforos que produzem conídios, sendo estes, carregados pelo vento e, ao encontrarem condições favoráveis para desenvolvimento, geminam dando origem a outro corpo vegetativo do fungo. A reprodução sexuada de fungos ascomicetos ocorre por meio do contato gametangial, seguido de copulação gametangial e espermatização, ou somatogamia que se constitui de três fases que são plasmogamia, cariogamia e meiose. Após a meiose são formados os ascos que são semelhantes a sacos onde são produzidos os ascósporos, que se dispersam e germinam formando novas hifas (6). Os esporos aéreos de *P. chrysogenum* são importantes alérgenos humano, cujas principais proteínas alergênicas são as proteases vacuolares (Pen ch 18) e as serina proteases alcalinas (Pen ch 13) (7). O *Penicillium chrysogenum* é caracterizado por ser o principal produtor de antibióticos β -lactâmicos como penicilina e seus derivados semissintéticos: amoxicilina, ampicilina e pivampicilina entre outros metabólitos secundários. Quando infectam alimentos, o seu metabolismo de degradabilidade também produz micotoxinas nocivas à saúde humana e animal como: aflatoxinas, ocratoxina e patulina (9).

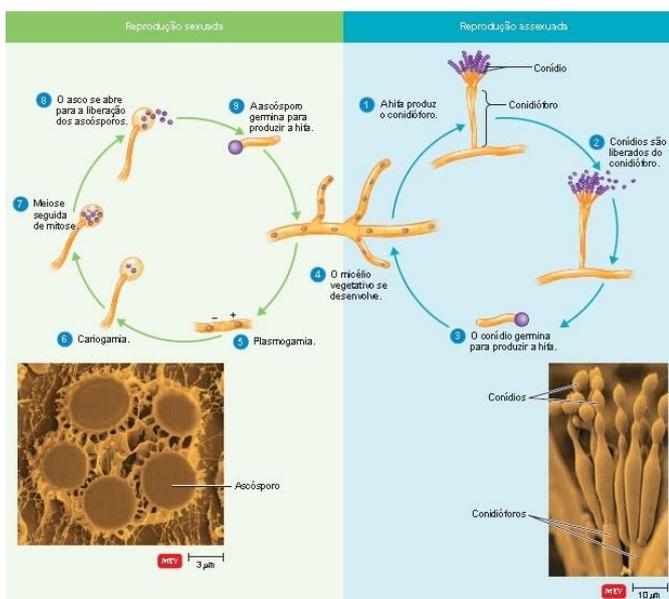


Figura 5 - Ciclo de vida de fungos ascomicetos como o *Penicillium chrysogenum*. Fonte: (8).

Genoma

O genoma da linhagem industrial mutada *P. chrysogenum* P2niaD18 está organizado em quatro cromossomos e apresenta alta produtividade de penicilina e deficiência de nitrato redutase (10).

Tabela 2 - O projeto genômico de *Penicillium chrysogenum* P2niaD18 foi depositado no GenBank sob o número de acesso JMSF00000000.1.

Genoma	Tamanho (Mb)	% CG	Nº de proteínas	Nº de genes	Ano
Linear	32,52	48,9	11,198	11,460	2014

Fonte: (3).

Aplicações Biotecnológicas

O *Penicillium chrysogenum* é produtor de uma grande diversidade de antibióticos, enzimas e metabólitos secundários biosurfactantes (glicolipídeos, lipopeptídeos, fosfolipídios, ácidos graxos e compostos poliméricos) que fazem com que apresente um amplo potencial biotecnológico, podendo ser aplicado no ramo industrial, ambiental e biotecnológico. Industrialmente, pode ser utilizado para produção em larga escala de enzimas, produtos farmacêuticos, produtos alimentícios, cosméticos. No ramo ambiental e biotecnológico, pode ser aplicado como agente de controle biológico, agentes promotores do crescimento de plantas, devido a promover fitohormônios como ácido indolacético (auxina) e ácido giberélico, biorremediação e biodegradação, além de um grande campo de pesquisa ainda inexplorado possibilitando o surgimento de novos produtos naturais para aplicação na medicina, agricultura e indústria (9).



Referências

1. BERG, Marco A van Den et al. Genome sequencing and analysis of the filamentous fungus *Penicillium chrysogenum*. **Nature Biotechnology**, v. 26, n. 10, p.1161-1168, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nbt.1498>. Acesso em: 25 nov. 2019.
2. BÖHM, Julia. *et al.* Sexual reproduction and mating-type-mediated strain development in the penicillin-producing fungus *Penicillium chrysogenum*. **Proceedings of The National Academy of Sciences**, v. 110, n. 4, p. 1476-1481, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1217943110>. Acesso em: 25 nov. 2019.
3. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. Genome. *Penicillium chrysogenum*. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Penicillium+chrysogenum>. Acesso em: 25 nov. 2019.
4. SPECHT, T. *et al.* Complete Sequencing and Chromosome-Scale Genome Assembly of the Industrial Progenitor Strain P2niaD18 from the Penicillin Producer *Penicillium chrysogenum*. **Genome Announcements**, [s.l.], v. 2, n. 4, p. 577-614, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/genomea.00577-14>. Acesso em: 25 nov. 2019.
5. SAMSON, R. A., HADLOK, R. and STOLK, A. C. A taxonomic study of the *Penicillium chrysogenum* series. **Antonie van Leeuwenhoek**. v. 43, p. 169-175, 1977. DOI: 10.1007/bf00395671. Acesso em: 25 nov. 2019.
6. SANTOS, Marcos Vinícius Oliveira dos. **Ascomicetos (anamórficos e teleomórficos) associados ao folheto da mata atlântica no sul da Bahia**. 2015. 83 f. Tese (Doutorado em Biologia de Fungos, Micologia do Centro de Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 2015.
7. SHEN, H. *et al.* Molecular and immunological characterization of Pen ch 18, the vacuolar serine protease major allergen of *Penicillium chrysogenum*. **Allergy**, v. 58, n. 10, p.993-1002, 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1034/j.1398-9995.2003.00107.x>. Acesso em: 25 nov. 2019.
8. TORTORA, G.J., FUNKE, B.R., CASE, C.L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.
9. YADAV, Ajar N. *et al.* Biodiversity of the Genus *Penicillium* in Different Habitats. **New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering**, [s.l.], p.3-18, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-444-63501-3.00001-6>. Acesso em: 25 nov. 2019.
10. ZIEMONS, Sandra. *et al.* Penicillin production in industrial strain *Penicillium chrysogenum* P2niaD18 is not dependent on the copy number of biosynthesis genes. **Bmc Biotechnology**, [s.l.], v. 17, n. 1, p.1-11, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s12896-017-0335-8>. Acesso em: 25 nov. 2019.



4.9 *Rhizopus stolonifer*

É um fungo conhecido por causar o “bolor preto do pão” e a “podridão mole em frutos” (5). Foi descrito pela primeira vez por *Shipper e Stalpers* em 1984 (6).

Características Biológicas

Rhizopus stolonifer (Figura 1) é um fungo saprofítico, filamentososo com hifas não septadas (cenocíticas) (7). Apresenta crescimento ideal em condições de umidade acima de 75% e elevadas temperaturas. Suas colônias são cobertas por um micélio branco e, em seguida, por uma massa de esporângios negros (5). *R. stolonifer* é comumente encontrado no solo, excremento de animais e vegetação em decomposição (1).



Figura 1 - Placa de Petri com colônia de *Rhizopus Stolonifer* (6).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica de *Rhizopus Stolonifer*.

Reino	<i>Fungi</i>
Filo	<i>Zigomicota</i>
Classe	<i>Zigomicetes</i>
Ordem	<i>Mucorales</i>
Família	<i>Mucoraceae</i>
Gênero	<i>Rhizopus</i>
Espécie	<i>R. stolonifer</i>

Fonte: (7).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

Apresenta reprodução assexuada e sexuada, os esporos assexuais são esporangiósporos. Quando o esporângio se abre, os esporangiósporos se dispersam e ao caírem em um meio adequado, germinarão, originando um novo talo de fungo. Os esporos sexuais são zigósporos, que é um esporo grande no interior de uma parede espessa, resultante da fusão de núcleos de duas células morfologicamente similares (7). As hifas fúngicas secretam enzimas pectinolíticas (5).

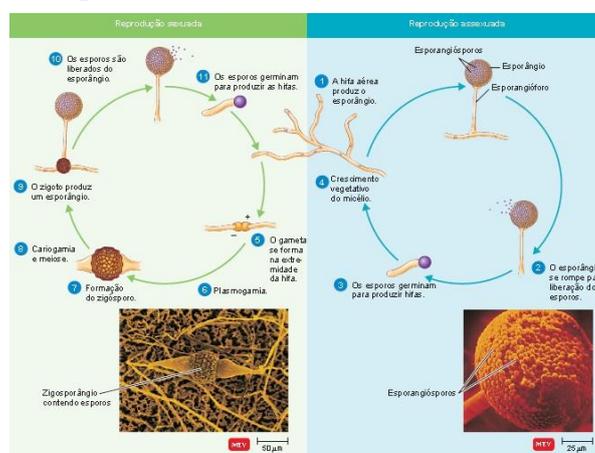


Figura 2 - Ciclo de vida de fungos do gênero *Rhizopus*, um Zigomiceto. Fonte: (7).

Genoma

Tabela 2 - Projeto genômico de *Rhizopus stolonifer* B9770, depositado no GenBank sob o número de acesso JDNS00000000.1.

Genoma	Tamanho (Mb)	% CG	Nº de proteínas	Ano Seq.
Linear	38,03	35,5	13,974	2014

Fonte: (4).

Aplicações Biotecnológicas

As espécies de *Rhizopus* são importantes fermentadores bioindustriais para a produção de alimentos e metabólitos (1). Devido *R. stolonifer* apresentar grande atividade biocatalítica, o mesmo é utilizado para degradação de



micotoxinas (ocratoxina A, zearaleona), produção de metabólitos bioativos por meio da biotransformação de esteroides e terpenos como diterpenos caurânicos que apresentam atividade antimicrobiana, antitumoral, tripanossomicida, anti-inflamatória, analgésica e anti-HIV (6). *R. stolonifer* também é amplamente utilizado para a produção industrial de enzimas como glicose-oxidase, pectinases e fitases (2,3).

Referências

1. GRYGANSKYI, Andrii P. *et al.* Phylogenetic and Phylogenomic Definition of *Rhizopus* Species. **G3: Genes|genomes|genetics**, v. 8, n. 6, p. 2007-2018, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1534/g3.118.200235>. Acesso em: 17 out. 2019.
2. GUIMARÃES, Luis Henrique S. *et al.* Screening of filamentous fungi for production of enzymes of biotechnological interest. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, n. 4, p. 474-480, 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s1517-83822006000400014>. Acesso em: 17 out. 2019.
3. MONTEIRO, Paulo Sérgio. **Produção e caracterização bioquímica de fitases de *Rhizopus stolonifer* e *Aspergillus niger* UFV-1 e suas aplicações em ração animal**. 2011. 79 f. Tese (Doutorado em Bioquímicas Agrícolas) - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. 2011.
4. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. Genome. *Penicillium chrysogenum*. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Rhizopus+stolonifer>. Acesso em: 17 out. 2019.
5. OLIVEIRA, Antonio Alberto Rocha; SANTOS FILHO, Hermes Peixoto. **Podridão de *Rhizopus***. Embrapa Mandioca e Fruticultura. n. 26, 2007. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/655529/podridao-de-rhizopus>. Acesso em: 17 out. 2019.
6. PAIVA, José Régis de. **Estudo do potencial biocatalítico do fungo *Rhizopus stolonifer* na biotransformação de produtos naturais**. 2014. 73 f. Dissertação (Mestrado em Química, Química Orgânica e Inorgânica) - Universidade Federal do Ceará. Fortaleza. 2014.
7. TORTORA, G.J., FUNKE, B.R., CASE, C.L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.



4.10 *Saccharomyces cerevisiae*

Os seres humanos têm explorado o fermento que brota *Saccharomyces cerevisiae* por muitos anos para a fabricação de vinho, cerveja e panificação. Esta relação estreita com a atividade humana levou Louis Pasteur a descobrir seu papel essencial na fermentação alcoólica, em 1857 (6).

Produzir cerveja também foi a principal motivação para o início da genética do fermento. Os experimentos de melhoramento iniciais foram realizados por Øjvind Winge, no laboratório Carlsberg, na década de 30, tendo como objetivo combinar traços de cerveja desejáveis, cruzando diferentes cepas (6).

A nossa capacidade de controlar e manipular o seu ciclo de vida, fez da levedura que brota, o mais poderoso sistema eucariótico unicelular para a pesquisa biológica, e foi, rapidamente, adotado em todo o mundo para investigar, praticamente, todos os aspectos da biologia. Em 1996, S288c se tornou o primeiro eucarioto tendo seu genoma completamente sequenciado e, bibliotecas de estirpe foram subsequentemente desenvolvidas, tais como: bibliotecas de deleção, mutantes de sobre-expressão e estirpes com genes etiquetados por genes repórter (6).

Características Biológicas

A *Saccharomyces cerevisiae* (Figura 1) é uma levedura amarelo-esverdeada em forma globular ovóide com em torno de 5–10 µm de diâmetro. Estirpes naturais da levedura são encontradas sobre as superfícies de plantas, filme de cera envolvendo frutos, nos tratos gastrointestinais, nas superfícies do corpo de insetos e animais de sangue quente, nos solos de todas as regiões do mundo e, mesmo, em ambientes aquáticos (6).

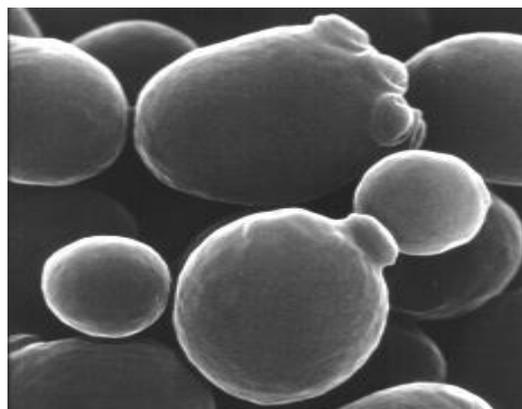


Figura 1 - *Saccharomyces cerevisiae* em microscopia eletrônica. Fonte: (7).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da *Saccharomyces cerevisiae*.

Reino	<i>Fungi</i>
Divisão	<i>Ascomycota</i>
Classe	<i>Saccharomycetes</i>
Ordem	<i>Saccharomycetales</i>
Família	<i>Saccharomycetaceae</i>
Gênero	<i>Saccharomyces</i>
Espécie	<i>S. cerevisiae</i>

Fonte: (7).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

A riqueza de informações que descrevem os genes e proteínas de *S. cerevisiae* é tão vasta que exigiu e possibilitou a criação do *Genome Snapshot* pelo *Saccharomyces Genome Database* (SGD), uma visão geral do genoma desta levedura, constantemente atualizada. Esta página responde a uma série de questões, desde as mais básicas, como por exemplo, quantos genes codificam proteínas em *S. cerevisiae*, às



4. LEVEDURAS E FUNGOS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

perguntas mais complexas sobre quais e quantos genes estão envolvidos em processos celulares particulares (3,8).

O ciclo de vida da levedura que brota é semelhante ao de qualquer eucariota sexual, alternando entre estados haploides e diploides, contendo um e dois conjuntos de complementos cromossômicos, respectivamente (Figura 1). As células se dividem por brotamento. Uma célula-mãe brota para produzir uma célula-filha geneticamente idêntica. Antes da liberação desta, cópias de cada cromossomo segregam por mitose (5). Na fase haploide, duas células haploides se acasalam e se fundem, produzindo uma célula diploide. Já na fase diploide, este pode crescer por brotamento ou sofre meiose, uma dupla rodada de divisão celular produzindo quatro esporos haploides mantidos juntos em um asco. Os esporos podem ser isolados e propagados, individualmente, como clones haploides de esporos ou, acasalados entre si, para formar um diploide (5).

Por fim, assim como outras células, as de levedura envelhecem. Uma célula-mãe produz um número limitado de células-filhas (5).

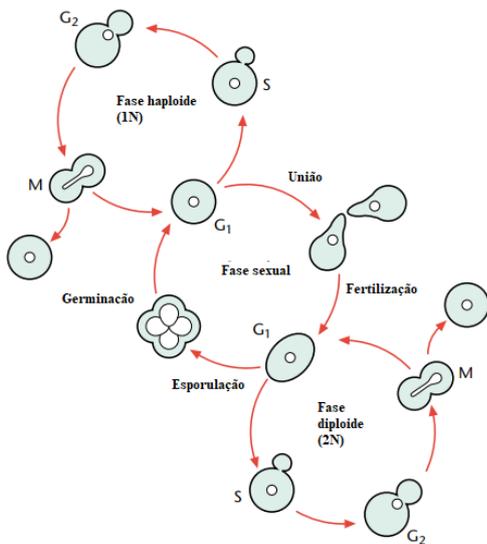


Figura 2 - O ciclo de vida de *Saccharomyces cerevisiae*. Alternância de gerações e crescimento vegetativo. Fonte: (5).

Genoma

Tabela 2 - Classificação genômica da *Saccharomyces cerevisiae* S288C.

Genoma	Tamanho (Mb)	GC%	Nº de proteínas
S288C	11,890	38,29	5410

Fonte: (7).

Aplicações Biotecnológicas

Industrial: Através da fusão de protoplastos de organismos amiliolíticos com *S. cerevisiae*, obtém-se organismos que detêm o potencial de transformar amido em etanol, sem passar pelo processo de sacarificação (1).

Ambiental: a *S. cerevisiae* demonstra vantagens para ser usada na bioabsorção de metais pesados. As vantagens para este processo são as seguintes:

- Fácil de crescer sem técnicas muito sofisticadas.
- Ser obtida de maneira fácil como um resíduo sólido da indústria de fermentação, se diferenciando de microrganismos usados na indústria enzimática e farmacêutica, que se recusam a ceder seus resíduos de biomassa, pelo segredo que envolve seus produtos.
- É considerada segura.
- Por ser tão conhecida, torna-se ideal para estudar o mecanismo de absorção de metais pesados por microrganismos (9).

Pesquisa: uma riqueza enorme de informações sobre genética, biologia molecular e fisiologia foi acumulada deste microrganismo, desde que seu genoma foi sequenciado, em 1996, por Goffeau et. al fazendo desta espécie tradicional, o sistema



eucarioto melhor caracterizado hoje. Assim, não é surpreendente que a primeira vacina recombinante comercializada da hepatite B seja derivada de SC. E esta é largamente utilizada para estudo e expressão de genes para diversos fins (2).

Referências

1. DE SOUZA, P. M.; E MAGALHÃES, P. de O. Application of microbial α -amylase in industry - a review. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 41, n. 4, p. 850–861, 2010. DOI: 10.1590/S1517-83822010000400004. Acesso em: 22 jun. 2020.

2. GELLISSEN, G.; HOLLENBERG, C. P. Application of yeasts in gene expression studies: A comparison of *Saccharomyces cerevisiae*, *Hansenula polymorpha* and *Kluyveromyces lactis* - A review. **Gene**. v. 190, n. 1, p. 87–97, 1997. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(97\)00020-6](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(97)00020-6). Acesso em 22 jun. 2020.

3. HIRSCHMAN, J. E. Genome Snapshot: a new resource at the *Saccharomyces* Genome Database (SGD) presenting an overview of the *Saccharomyces cerevisiae* genome. **Nucleic Acids Research**. v. 34, n. 90001, p. D442–D445, 2006. DOI: 10.1093/nar/gkj117. Acesso em: 22 jun. 2020.

4. LITI, G. The fascinating and secret wild life of the budding yeast *S. cerevisiae*. **eLife**, v. 4, p. 1–9, 2015. DOI: 10.7554/eLife.05835. Acesso em: 22 jun. 2020.

5. MELL, J.; BURGESS, S. **Yeast as a Model Genetic Organism**. In: [S.I]. **Encyclopedia of life science**. 2003. DOI: 10.1038/npg.els.0000821. Acesso em: 22 jun. 2020.

6. MURPHY, A.; KAVANAGH, K. Emergence of *Saccharomyces cerevisiae* as a human pathogen Implications for biotechnology. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 25, n. 7, p. 551–557, 1999.

7. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY. *Saccharomyces cerevisiae*. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Saccharomyces+cerevisiae>. Acesso em: 22 jun. 2020.

8. YEAST GENOME. **Small protein conjugation**. Disponível em: https://downloads.yeastgenome.org/curation/literature/go_slim_mapping.tab. Acesso em: 4 nov. 2019.

9. WANG, J.; CHEN, C. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: A review. **Biotechnology Advances**, v. 24, n. 5, p. 427–451, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.03.001>. Acesso em: 4 nov. 2019.



4.11 *Saccharomyces pastorianus* CBS 1483

A levedura *Saccharomyces pastorianus* é considerada sinônimo de *Saccharomyces carlsbergensis* (1,2). A linhagem 1513 de *S. carlsbergensis* fora isolada, no começo do século XX, por Hansen, em uma cervejaria dinamarquesa denominada Carlsberg (1,2,11). *S. pastorianus* é um híbrido interespecífico de *S. cerevisiae* e *S. bayanus* (9,10,11), que surgiu de um provável evento espontâneo (10). Devido a isso, foi contemplada com características que otimizam a produção de cerveja do tipo Lager, por meio de baixa fermentação, com o processo ocorrendo a baixas temperaturas, entre 8 e 15°C (1,9).

Características Biológicas

A *Saccharomyces pastorianus* (Figura 1) consiste em uma célula eucariótica elíptica, que apresenta elasticidade em sua parede celular (9). É aeróbia facultativa, utilizando açúcares como: sacarose, maltose, melibiose e rafinose, tanto para fermentação quanto para respiração celular. Outras fontes de carbono como o glicerol e o α -metil-D-glucosídeo são metabolizados também para a respiração celular (4). Por se tratar de um híbrido de outras leveduras, é considerada criotolerante, já que tem a capacidade de conduzir a fermentação da cerveja em temperaturas próximas a 5°C (5).

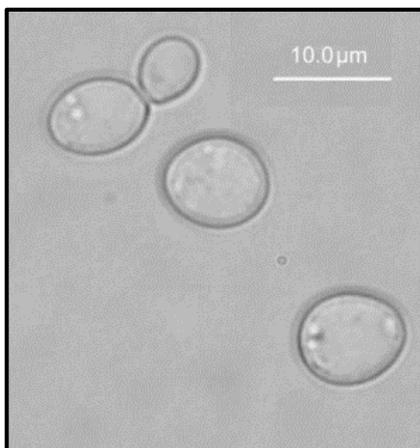


Figura 1 - Microscopia de *Saccharomyces carlsbergensis*. Fonte: (6).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica de *Saccharomyces pastorianus*.

Reino	<i>Fungi</i>
Subreino	<i>Dikarya</i>
Filo	<i>Ascomycota</i>
Classe	<i>Saccharomycetes</i>
Ordem	<i>Saccharomycetales</i>
Família	<i>Saccharomycetaceae</i>
Gênero	<i>Saccharomyces</i>
Espécie	<i>S. pastorianus</i>

Fonte: (10).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

Cepas de *S. carlsbergensis* podem se reproduzir, tanto por brotamento unilateral, quanto por meio do crescimento como células únicas (6). O gênero *Saccharomyces*, especificamente, se reproduz sexualmente, podendo o estado sexuado ser poliploide ou haploide. Nesse caso, a reprodução por conjugação pode ocorrer entre linhagens que se complementam ou pode ocorrer quando células diploides se fundem para formar ascus, os quais contêm quatro ascósporos com formato oval ou globoso e constituído por parede lisa (2,12).

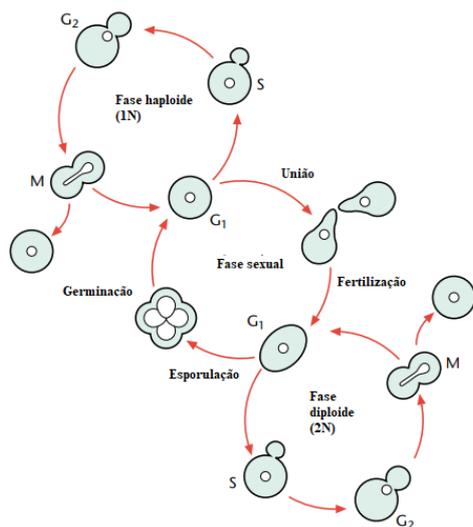


Figura 2 - O ciclo de vida de *Saccharomyces cerevisiae*. Alternância de gerações e crescimento vegetativo. Fonte: (8).

Genoma

O genoma das linhagens de *S. pastorianus* é altamente aneuplóide, ou seja, cada cromossomo pode ou não conter inúmeras cópias de si mesmo. Nesse caso, podem ser encontradas de zero a cinco cópias de cada cromossomo em diferentes linhagens de *S. pastorianus*. Alguns genomas individuais de linhagens dessa levedura contêm entre 45 e 79 cromossomos, o que faz com que *S. pastorianus* seja considerado um microrganismo excepcional dentro do gênero *Saccharomyces* e tenha evoluído ao longo de sua utilização no ambiente cervejeiro (11).

Muitas pesquisas relacionadas ao genoma dessa levedura abordam a separação das linhagens em dois grupos diferentes: o Grupo 1, que contém representantes cuja hibridização ocorreu entre um ancestral haplóide de *S. cerevisiae* e um ancestral diplóide de *S. Eubayanus*; e o Grupo 2, que contém representantes cuja hibridização ocorreu entre um ancestral diplóide, triplóide ou tetraplóide de *S. cerevisiae* e um ancestral diplóide de *S. eubayanus*. As primeiras cepas isoladas por Hansen fazem parte do Grupo 1. Evidências recentes comprovam que o mesmo evento de

hibridação foi responsável pelo surgimento das linhagens dos dois grupos, porém a perda de heteroziguidade, frequente em *Saccharomyces*, afetou tais genomas (11).

A linhagem CBS 1483 pertence ao Grupo 2 foi utilizada para estruturar uma montagem genômica de uma levedura *Saccharomyces pastorianus*, já que, anteriormente, haviam assembléias genômicas incompletas ou fragmentadas desse microrganismo. Essa montagem genômica utilizou o sequenciamento de leitura longa para gerar um genoma de referência contendo várias cópias não idênticas de um mesmo cromossomo. Além disso, para analisar a ancestralidade de *S. pastorianus*, foi desenvolvido um método computacional que calculou a similaridade entre os dados disponíveis para *S. Pastorianus*, em relação aos conjuntos de dados de *S. cerevisiae* e *S. eubayanus* (11).

A análise do genoma completo resultou em 31 cromossomos, totalizando 23 Mb e 10.632 genes. Os cromossomos foram nomeados conforme sua presença nos sub-genomas de *S. cerevisiae* e *S. eubayanus*, como por exemplo, o cromossomo intitulado ScXII se refere ao cromossomo XII do sub-genoma de *S. cerevisiae*, enquanto SeIII, da mesma forma, se refere ao cromossomo III do sub-genoma de *S. eubayanus*. Alguns cromossomos, devido a recombinações, contêm sequências dos dois sub-genomas, incluindo: SeIII-ScIII, SeVII-ScVII, ScX-SeX, SeX-ScX e SeXIII-ScXIII. Por meio da análise de ontologia genética, o estudo identificou o enriquecimento de diversas funções importantes para a indústria na linhagem CBS 1483 de *S. pastorianus*, como genes envolvidos na floculação da levedura ou na atividade transportadora de diversos açúcares como: manose, frutose e glicose (11).

Devido ao extenso número de cromossomos, as informações apresentadas na tabela abaixo serão resumidas. O genoma completo da linhagem CBS1483 de *Saccharomyces pastorianus* pode ser acessado



na plataforma NCBI pelo número de identificação 342 (10), ou diretamente nos artigos aqui citados (11).

Tabela 2 - Genoma da linhagem CBS1483 de *Saccharomyces pastorianus*.

Genoma	Tamanho (Mb)	GC%	Nº de genes	Ano
Linhagem CBS1483	23,0	39,3	10.632	2019

Fonte: (10).

Aplicações Biotecnológicas

A história evolutiva de *Saccharomyces pastorianus* ainda possui muitas dúvidas e controvérsias, sendo que, atualmente, muitas pesquisas estão sendo conduzidas com o intuito de melhor elucidar sua evolução (2). Além disso, é possível abordar, em estudos, a seleção de linhagens dessa levedura adaptadas a condições extremas de fermentação, impostas nos processos industriais, como por exemplo, sua capacidade de fermentar a baixíssimas temperaturas. Em relação ao seu emprego industrial, essa levedura tem sido utilizada para a produção de bebidas como cerveja, do tipo Lager e vinho (12). Também pode ser empregada na produção de extrato de levedura: composto comumente utilizado como fonte proteica em meios de culturas microbianas (3).

Referências

1. DANTAS, Giordanni Cabral. **Diversidade genética de leveduras do complexo *Saccharomyces* “sensu stricto”**. 2010. 48 f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Departamento de Genética, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 2010. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/6812/1/arquivo781_1.pdf>. Acesso em: 30

nov.

2019.

1. DOS SANTOS, Scheila Karina Brito. **Identificação de leveduras dentro do complexo *Saccharomyces* “sensu stricto” por PCR-fingerprinting**. 2006. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Biologia Molecular) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 2006. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/1910/1/arquivo5192_1.pdf>. Acesso em: 30 nov. 2019.
2. DZIMBA, Flávia Edite Justina Manuel. **Obtenção e avaliação de extratos protéicos por autólise das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces carlsbergensis***. 1994. 119 f. Tese (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 1994. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/jspui/bitstream/R_EPOSIP/255300/1/Dzimba_FlaviaEditeJustina_Manuel_M.pdf>. Acesso em: 29 nov. 2019.
3. FLEET, Graham H. Chapter 11: *Saccharomyces* and related genera. In: BLACKBURN, Clive. **Food Spoilage Microorganisms**. Cambridge: Woodhead Publishing, 2006. p. 306-335.
4. GIBSON, Brian; GIANNI, Liti. *Saccharomyces pastorianus*: genomic insights inspiring innovation for industry. **Yeast**, v. 32, n. 1, p. 17-27, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/yea.3033>. Acesso em: 18 mai. 2020.
5. HUTZLER, M. Yeast identification and characterization. **Brewing Microbiology**, p. 65-104, may. 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-331-7.00005-8>>. Acesso em: 30 nov. 2019.
6. MEIER-DÖRNBERG, Tim. *et al.* The Importance of a Comparative Characterization of *Saccharomyces Cerevisiae* and *Saccharomyces Pastorianus* Strains for



<<https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/ICBB-BDAPAW>>. Acesso em: 20 mai. 2020.

- Brewing. **Fermentation**, v. 3, n. 41, p. 1-25, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/fermentation3030041>. Acesso em: 29 mar. 2020.
7. MELL, J.; BURGESS, S. Yeast as a Model Genetic Organism. In: [S.I]. **Encyclopedia of life science**. 2003. Macmillan Publishers Ltd, Nature Publishing Group. DOI: 10.1038/npg.els.0000821. Acesso em: 29 mar. 2020.
8. MESSIAS, Susana Isabel Serra. **Caraterização dos polissacarídeos da parede celular das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces pastorianus***. 2016. 99 f. Tese (Mestrado em Bioquímica) – Departamento de Química, Universidade de Aveiro, Aveiro, 2016. Disponível em: <<https://ria.ua.pt/bitstream/10773/17874/1/Tese%20de%20Mestrado%20Susana%20Messias%202016.pdf>>. Acesso em: 30 nov. 2019.
9. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. ***Saccharomyces pastorianus***. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Saccharomyces+carlsbergensis>. Acesso em: 30 nov. 2019
10. SALAZAR, Alex N. *et al.* Chromosome level assembly and comparative genome analysis confirm lager-brewing yeasts originated from a single hybridization. **BMC Genomics**. v. 20, n. 916, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6263-3>. Acesso em: 18 mai. 2020.
11. TEIXEIRA, Juliana de Freitas. **A levedura *Saccharomyces cerevisiae*: caracterização do gênero, domesticação e importância na composição de vinhos**. 2015. 55 f. Monografia (Especialização em Microbiologia Aplicada) – Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015. Disponível em:



4.12 *Yarrowia lipolytica*

A *Yarrowia lipolytica*, anteriormente conhecida como *Candida lipolytica*, é uma levedura oleaginosa, diferenciada por sua capacidade em estocar óleo (4). Esta levedura está muito distante, metabolicamente, de outras leveduras. No entanto, compartilha várias propriedades com fungos, incluindo a diferenciação em uma verdadeira forma micelial sob certas condições de crescimento (2). *Y. lipolytica* é usada como organismo modelo para engenharia metabólica (1). Pertence ao grupo de leveduras “não convencionais” sendo amplamente utilizada na indústria, biologia molecular e em estudos genéticos (5).

Características Biológicas

A *Yarrowia lipolytica* (Figura 1) é um organismo dimórfico que apresenta a habilidade de crescer em duas formas distintas: como levedura (forma oval) e como filamentos (hifas septadas e pseudo-hifas), sendo estas formas reversíveis entre si, apresentando micélio verdadeiro, sendo estritamente aeróbicas, não patogênicas, unicelulares (3). A *Y. lipolytica* tem como habitat, substratos ricos em lipídios e proteínas como (queijos, embutidos e iogurtes), mas a grande maioria das cepas foi isolada do solo, de rede de tratamento de esgoto e de ambientes contaminados com óleos (1,3,4). Apresenta vigoroso crescimento em diferentes valores de pH e apesar de ter crescimento ótimo a 30°C, também é capaz de crescer em uma ampla faixa de temperatura entre 5 e 32°C, além de ser tolerante à salinidade (3,4). Assim como outras leveduras oleaginosas, a *Y. lipolytica* armazena óleo dentro da célula na forma de uma gota, em reservatórios denominados lipossomos, sendo este, um importante mecanismo de resistência em ambientes adversos, pois o estoque intracelular de óleo representa uma fonte de energia para garantir sua sobrevivência, mesmo em condições ambientais severas (6).

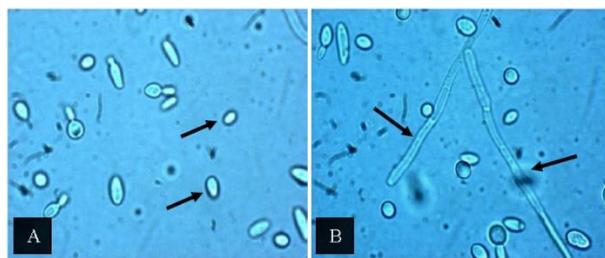


Figura 6 - Imagens de microscopia óptica de *Y. lipolytica* em aumento de 400x, apresentando células na forma leveduriforme (A) e na forma de hifas (B). Fonte: (3).

Taxonomia

Tabela 1 - Classificação taxonômica da levedura *Yarrowia lipolytica*.

Reino	<i>Fungi</i>
Filo	<i>Ascomycota</i>
Classe	<i>Saccharomycetes</i>
Ordem	<i>Saccharomycetales</i>
Família	<i>Dipodascaceae</i>
Gênero	<i>Yarrowia</i>
Espécie	<i>Y. lipolytica</i>

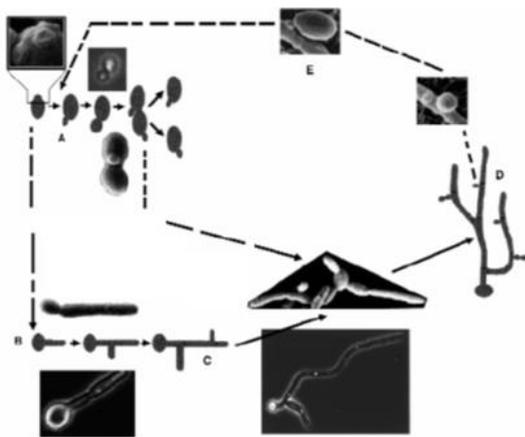
Fonte: (2).

Ciclo de Vida e Mecanismos Genéticos

Estas leveduras se reproduzem em um padrão de germinação bipolar independente de ser haploide ou diploide, não sofrendo alteração de tipo de acasalamento como, por exemplo, em *Saccharomyces cerevisiae* (3). Ocorre a formação de ascos e ascósporos (células sexuais típicas aos fungos ascomicetos, responsáveis pela produção de esporos para propagação sexuada) (4). O metabolismo nutritivo de *Y. lipolytica* exige que a mesma tenha uma produção diferenciada de lipases, permitindo assim, metabolizar lipídeos e hidrocarbonetos e secretar diversos metabólitos em grande



quantidade como: ácidos orgânicos (ácido cítrico, isocítrico, pirúvico, alfa-cetoglutarico) proteínas extracelulares e várias enzimas, como proteases, lipases, esterases e fosfatases, todas de grande interesse biotecnológico (3,4). A gama de substratos utilizados por *Y. lipolytica* inclui alcanos, ácidos graxos, ácidos orgânicos, proteínas e alguns açúcares, principalmente, glicose e, mais raramente, sacarose, sendo



particularmente adaptada a substratos hidrofóbicos (3).

Figura 7 - Ciclo de vida dimórfico de *Y. lipolytica* (A) blastosporos; (B) tubos germinativos; (C) formação de hifas a partir do crescimento apical de tubos germinativos; (D) micélios; (E) blastosporos secundários separados dos filamentos. Fonte: (3).

Genoma

O genoma de *Yarrowia lipolytica* W29 é de aproximadamente 20,5 Mb, organizado em 6 cromossomos (2).

Tabela 1 - Genoma de *Yarrowia lipolytica* W29.

Genoma	Tamanho (Mb)	% CG	Nº de proteínas	Nº de genes	Ano seq.
Linear	20,2	49	6,665	7,144	2014

Fonte: (2).

Aplicações Biotecnológicas

A *Yarrowia lipolytica* é uma das leveduras oleaginosas mais estudadas, sendo uma espécie-modelo para engenharia metabólica

de gorduras (1). Além disso, é um hospedeiro para a produção de proteínas heterólogas farmacêuticas e industriais, como a toprina L utilizada para a formulação de rações animais e demais proteínas para nutrição humana, além de enzimas. Uma das mais importantes enzimas segregadas por este microrganismo são as lipases, que podem ser exploradas para várias aplicações na indústria (alimentícia, farmacêutica) e por apresentarem similaridade com as lipases, naturalmente, produzida em humanos, oferecem menores riscos de reações alérgicas. *Y. lipolytica* também é um hospedeiro para a produção biotecnológica de ácidos orgânicos como: ácido cítrico, compostos aromáticos (aplicados na indústria farmacêutica, alimentícia, cosmética e de perfumaria), compostos flavorizantes, carotenoides para aplicação em corantes e estabilizantes alimentícios naturais, alimentos probióticos e prebióticos, adoçantes como manitol e eritritol. Outra aplicação de *Y. lipolytica* é na produção de substâncias hidrofóbicas (óleo microbiano), que pode ter a sua composição modificada dependendo da formulação do meio, das condições de cultivo ou através de engenharia genética do microrganismo, obtendo-se assim, uma variedade de óleos que podem apresentar desde um perfil similar ao de sementes oleaginosas como a soja, sendo aplicável na síntese de biodiesel, até óleos altamente insaturados (ácidos graxos poli-insaturados PUFAs) como os ômega, para suplementação da alimentação humana. A *Y. lipolytica* apresenta também aplicação na biorremediação de solos ou águas contaminadas com hidrocarbonetos ou lipídeos (4, 5,6).

Referências

- LIU, L.; ALPER, H. S. Draft Genome Sequence of the Oleaginous Yeast *Yarrowia lipolytica* PO1f, a Commonly Used Metabolic Engineering Host. **Genome Announcements**, v. 2, n. 4, p. 00652-14, 2014. Disponível em:



Química, Universidade de São Paulo. São Paulo. 2014.

- <http://dx.doi.org/10.1128/genomea.00652-14>.
Acesso em: 28 nov. 2019.
- NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI). Genome. *Yarrowia lipolytica*. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Yarrowia+lipolytica>. Acesso em: 28 nov. 2019.
 - NUNES, Patrícia Martins Botelho. **Estudo do efeito do farnesol sobre a morfologia celular de *Yarrowia lipolytica***. 2011. 82 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2011.
 - OLIVEIRA, Pedro Henrique Santos. **Análise fisiológica e cinética do crescimento da levedura oleaginosa *Yarrowia lipolytica* IMUFRJ 50682 em diferentes fontes de carbono**. 2014. 123 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Departamento de Engenharia
 - PÉTER, G., NAGY, E. S., & DLAUCHY, D. (2019). Systematics, Diversity and Ecology of the Genus *Yarrowia* and the Methanol-Assimilating Yeasts. **Non-Conventional Yeasts: From Basic Research to Application**. [s.i], p. 297–339, 2019. DOI:10.1007/978-3-030-21110-3_9. Acesso em: 28 nov. 2019.
 - RAU, Mariana Ritter. **Desenvolvimento de estratégia de produção de óleo microbiano a partir de resíduos industriais e aplicação na síntese de biodiesel**. 2015. 72 f. TCC (Graduação em Biotecnologia) -Departamento de Biologia Molecular e Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2015.

ISBN 9786586105155