



Trabalhos pré selecionados para o prêmio

XIV Encontro Nacional de Microbiologia Ambiental 2014

Evento Submissao: XIV Encontro Nacional de Microbiologia Ambiental 2014

AREA: Microbiologia Ambiental

SUB-AREA: Ecologia Microbiana Molecular

Análise filogenética do gene *nodY/K* revela coevolução e transferência horizontal entre *Bradyrhizobium* e leguminosas

Autores Delamuta, J.R.M. ^{1,2}, Menna, P. ³, Hungria, M. ^{2,1}

E-mail do primeiro autor: jake_renata@hotmail.com

Instituição ¹ UEL - Universidade Estadual de Londrina (Caixa Postal 10.011), ² Embrapa Soja - Embrapa (Caixa Postal 231), ³ Biagro do Brasil - Biagro do Brasil (Afonso Figueiró 214, Pq Industrial Jose G. Gimenes, 86.183-752, Cambé, PR)

Resumo:

Plantas da família Leguminosae (Fabaceae) ocupam uma ampla variedade de biomas terrestres, com algumas delas estabelecendo simbiose com um grupo de bactérias coletivamente chamadas de rizóbios, cuja característica mais importante é a capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico (N₂). No caso do Brasil, bactérias do gênero *Bradyrhizobium* representam a grande maioria dos isolados de leguminosas tropicais nativas, além de apresentarem relevância como simbiontes de culturas de importância econômica, como é o caso da soja. Estudos taxonômicos com essas bactérias têm demonstrado uma elevada diversidade genética entre as estirpes e, nos últimos anos, várias espécies já foram descritas. Contudo, quando a filogenia dos genes envolvidos no processo de nodulação e fixação do nitrogênio é analisada, essa diversidade é menos evidente. Com o objetivo de aportar conhecimento à filogenia dos genes de nodulação desses microrganismos, 45 estirpes de *Bradyrhizobium* isoladas de diferentes leguminosas foram estudadas. O papel do gene de nodulação *nodY/K* ainda não está completamente elucidado, sendo considerado como um provável gene relacionado à especificidade hospedeira na nodulação. Neste estudo, o gene *nodY/K* foi amplificado por PCR e, posteriormente, sequenciado. Para uma análise filogenética comparativa, o gene ribossomal (16S RNAr) também foi sequenciado. A árvore construída com o gene 16S RNAr dividiu as estirpes em dois grandes grupos, de "*B. japonicum*" e de "*B. elkanii*", mas também revelou diversidade genética elevada em um dos grupos. No entanto, o agrupamento das estirpes com base no gene *nodY/K* não foi congruente com aquele encontrado com o gene 16S RNAr. É bem relatado que os fatores Nod são os responsáveis pela especificidade entre planta e bactéria e os resultados deste estudo confirmam isso, uma vez que 39 estirpes isoladas de soja apresentaram a sequência do gene *nodY/K* idêntica às espécies que são simbiontes da cultura. Seis estirpes não foram isoladas de soja; dentre essas, apenas a SEMIA 6071, isolada de *Stylosanthes* sp., agrupou com as estirpes simbiontes do grupo *B. japonicum* e foi capaz de nodular a soja. As outras estirpes (SEMIAS 613, 621, 938, 6056 e 6391) que não nodulam soja, ocuparam posições isoladas na árvore e apresentaram sequências gênicas divergentes. Os resultados obtidos suportam a hipótese de coevolução entre simbiote e leguminosa, mas também indicam que esses genes podem sofrer transferência horizontal, aumentando assim, a diversidade simbiótica entre as espécies.

Palavras-chaves: Taxonomia de procariotos, filogenia de procariotos, fixação biológica do nitrogênio

Agência Fomento: CAPES

Evento Submissao: XIV Encontro Nacional de Microbiologia Ambiental 2014

AREA: Microbiologia Ambiental

SUB-AREA: Interação de microrganismos com plantas ou animais

Parâmetros agronômicos da cultura do trigo (*Triticum aestivum* L.) em função de diferentes concentrações de *Azospirillum brasilense* e métodos de inoculação

Autores Fukami, J.^{1,2}, Cerezini, P.^{1,3}, Nogueira, M. A.^{1,3}, Hungria, M.^{1,2}

E-mail do primeiro autor: josifukami@hotmail.com

Instituição ¹ EMBRAPA-Soja - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Lab. Biotecnologia do Solo, Cx. Postal 231, 86001-970, Londrina, PR, Brasil.), ² UEL - Universidade Estadual de Londrina (Depto de Bioquímica e Biotecnologia, Cx. Postal 6001, 86051-990, Londrina, PR.), ³ UEL - Universidade Estadual de Londrina (Depto de Agronomia/CCA, Cx. Postal 6001, 86051-990, Londrina, PR.)

Resumo:

O uso de inoculantes à base de *Azospirillum brasilense* vem crescendo no Brasil, como substituição parcial da adubação nitrogenada na cultura do trigo (*Triticum aestivum* L.). Contudo, a nova tecnologia pode ser afetada pela incompatibilidade com os agrotóxicos utilizados nos tratamentos de sementes. Visando verificar alternativas à aplicação tradicional de inoculantes via sementes, o objetivo deste estudo foi verificar o efeito de doses de inoculante com *A. brasilense* e métodos de inoculação. O ensaio foi conduzido em casa de vegetação na Embrapa Soja, em Londrina-PR, com trigo (cv. Gaivotas) recebendo 1 e 2,5 doses de inoculante (200 e 500 mL 50 kg⁻¹ sementes, respectivamente) e métodos de inoculação [via semente (IS), sulco (ISC), pulverização foliar (IPF) e solo (IPS)] com 75% da dose recomendada de N-mineral (60 kg N ha⁻¹), além de testemunhas sem inoculação e com 100% e 75% N. Foi avaliada a produção de biomassa de plantas (massa da parte aérea seca, MPAS e massa de raízes secas, MRS), N total acumulado na parte aérea (NTPA), teor de clorofila (TC), volume de raízes (VR) e número de perfilhos (NP). Os dados foram submetidos à ANAVA (Duncan, p≤0,05). Constatou-se diferença significativa de MRS no tratamento com IPF e 1 dose de inoculante, proporcionando um incremento de 62% em relação à testemunha não inoculada e com 100% N. Esse tratamento também resultou em aumento significativo no NP. Do mesmo modo, o tratamento com IPF com 2,5 doses resultou em aumento significativo de 22,9% no TC em relação à testemunha não inoculada com 75% N. Foi possível observar o efeito positivo de *A. brasilense* mesmo quando aplicado após a emergência das plântulas. Para o NTPA, o tratamento com IS e 1 dose foi estatisticamente superior em relação ao tratamento não inoculado e com 75% N. A MPAS e o VR não foram influenciados pelos tratamentos. Deste modo, a inoculação por pulverização foliar pode representar uma alternativa à inoculação tradicional nas sementes, podendo ser empregada em situações que haja incompatibilidade com produtos químicos usados no tratamento de sementes.

Palavras-chaves: *Azospirillum brasilense*, trigo, inoculantes

Agência Fomento: Capes

Evento Submissao: XIV Encontro Nacional de Microbiologia Ambiental 2014

AREA: Microbiologia Ambiental

SUB-AREA: Interação de microrganismos com plantas ou animais

Action of the fungus *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883, on the tick *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887)

Autores SILVA, G.M.H.¹, VASCONCELOS, U.¹, SOUSA, A.C.B.¹

E-mail do primeiro autor: geisimaria.jr@gmail.com

Instituição ¹ UFPB/CBiotec - Universidade Federal da Paraíba - Centro de Biotecnologia (Cid. Univ. - Cast. Branco JP-PB CEP:58051-900)

Resumo:

Metarhizium anisopliae is an entomopathogenic fungus that has proven action in biological control of various insects in agriculture and livestock. The cattle tick *Boophilus microplus* is a serious concern to the Brazilian cattle industry. It causes decreased meat and milk production, low alimentary conversion, damage to leather and transmission of pathogens. The use of entomopathogenic fungi as biological control agents for ticks has shown promising results. This study tests the *in vitro* effects of one *M. anisopliae* isolated on the tick *B. microplus*, in order to select for use in biological control of insects. We used an isolate of *M. anisopliae* collected soil of an agroforestry system in the forest zone of Pernambuco. For the microscopic analysis, we used the culture medium Sabouraud-dextrose-agar. The pathogenicity test was performed in 30 female *B. microplus*. The bioassay was composed of one treatment group (concentration: 108 conidia/mL and the control) with three repetitions. The ticks were treated by immersion for three minutes. The pathogenic fungal activity was demonstrated by the difference statistically significant, observed between the control and treatment. Averages were compared by Tukey test at a significance level of 5%. Microscopic observations showed the formation of vegetative and reproductive structures from the spore germination. Between 48 and 72 hours were observed mycelial differentiation, formed by hyphae hyaline, septate, uninucleate, appressoria, anastomosis, simple conidiophores, elongated and uninucleate conidia. Germination of conidia on the surface of the cuticle of the tick, occurred from 48 hours after infection. The most intense colonization was observed only after 96 hours. From this period, mummification and disruption of the cuticle of the tick was observed. *M. anisopliae* caused a mortality rate of 96%, 83% and 100% in three repetitions, respectively (mean 93%) compared with the control group (mean 3.0%). Based on statistical analysis, the mean of three repetitions did not differ significantly by Tukey test, but there was a significant difference in mortality in the control group. The cytological analysis showed characteristic structures of *M. anisopliae*. *In vitro* test, *M. anisopliae* showed effective control of *B. microplus*, suggesting high potential for their use as a microbial control agent of the *B. microplus* tick.

Palavras-chaves: biological control, patogenicity test, entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*

Agência Fomento: Cnpq e UFPB

Evento Submissao: XIV Encontro Nacional de Microbiologia Ambiental 2014

AREA: Microbiologia Ambiental

SUB-AREA: População e comunidades

Biodiversity of limestone-boring algae associated with coral reefs

Autores Marcelino, V.R. ¹, Schils, S. ², Verbruggen, H. ¹

E-mail do primeiro autor: v.marcelino@unimelb.edu.au

Instituição ¹ UoM - School of Botany, University of Melbourne (School of Botany, University of Melbourne – VIC 3010 – Australia), ² UoG - Marine Laboratory, University of Guam (Marine Laboratory, University of Guam, Mangilao GU 96923 – USA)

Resumo:

Microorganisms associated with corals regulate key processes in the holobiome, including energy acquisition, calcification, nutrient cycling and disease. Limestone-boring (endolithic) algae are commonly found living underneath stony corals living tissue, inside their calcium carbonate skeleton. The green algae genus *Ostreobium* (Chlorophyta, Ulvophyceae) is considered to be the most abundant one. These algae are among the main contributors of reef bioerosion, but have also been reported to facilitate coral survival during bleaching events. Despite their key role in reef ecosystems, limestone-boring communities are still poorly characterized in terms of taxonomic richness, phylogenetic diversity and ecological functioning. The goal of this study is to establish a baseline of the limestone-boring algae biodiversity in coral skeletons via high-throughput environmental sequencing. We use a combination of universal and protein-coding amplicons (16S, 18S, 23S and tufA) in order to obtain a wholesome microbial community characterization. We frame our analysis on the QIIME pipeline but use gene and taxon specific information to define taxonomic units and reconstruct their phylogenetic relationships. A pilot study using 10 coral skeletons samples allowed retrieving ca. 60 OTUs at genus level for each sample. With one of the universal markers (23S) we were able to recover representatives of many different algal divisions (including reds, greens and cyanobacteria) and several groups of algae not previously known to occur in boring communities. The protein-coding amplicon tufA allowed a more detailed characterization of the green algal diversity: a total of 230 OTUs at genus level were retrieved, 11 of which belonging to the *Ostreobiaceae* family. The results of this work will be compared to the habitat preferences of the main *Ostreobium* lineages in order to better understand the ecological diversity of the endolithic flora.

Palavras-chaves: Metabarcoding, Reef ecosystems, *Ostreobium*, Environmental sequencing

Agência Fomento: University of Melbourne, ARC, ABRS and the Holsworth Research Endowment

Evento Submissao: XIV Encontro Nacional de Microbiologia Ambiental 2014

AREA: Microbiologia Ambiental

SUB-AREA: Interações microbianas

Dynamics of Bacterial Communities Associated with Cultivated Cyanobacteria

Autores Andrade, P.A.M. ¹, Andreote, A.P.D ², Dias, A.C.F. ¹, Pereria, A.P.A ¹, Gumieire, T ¹, Durrer, A ¹, Fiori, M. F ², Andreote, F.D ¹

E-mail do primeiro autor: pedro890@hotmail.com

Instituição ¹ ESALQ-USP - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (Av. Pádua Dias 11 Piracicaba), ² CENA-USP - Centro de Energia Nuclear- USP (Av. Centenário, nº 303 Piracicaba)

Resumo:

The phylum Cyanobacteria belongs to the Bacteria domain, being widely distributed in a vast range of natural environments. These microorganisms occur in unicellular, filamentous or branched filamentous forms, usually surrounded by a mucilaginous matrix or sheath. These extracellular materials have been characterized as a nutritional source that favor the growth and establishment of mutualistic interaction with other organisms (mainly heterotrophic bacteria). However, the microbial community structure associated with diverse cultivated cyanobacteria in highly specific environmental conditions is almost unknown. Therefore, the aim of this study was to show the shifts in the structure and composition of bacterial community associated to several genera of cyanobacteria. In this context, thirty six strains from eight cyanobacterial genera, isolated from six different environments, were randomly selected from a cyanobacterial culture collection belonging to the Cellular and Molecular Biology Laboratory CENA/USP. The DNA of the microbial community associated to each strain was extracted from cells suspensions grown into liquid medium BG11. The bacterial community structure was further depicted by DGGE (Denaturing gradient gel electrophoresis). The results demonstrated a high diversity of bacterial assemblages associated to each individual cyanobacteria strain. A cluster analysis indicated that the bacterial community majorly differs due to the phylogenetic affiliation of cyanobacteria, as observed by the formation of separated clusters for isolates identified as *Microcystis aeruginosa*, or the formation of a specific clade of the bacterial community profiles associated to *Leptolyngbya* sp. In counterpart, no clustering profiles from isolates obtained from the same environments was observed, indicating that the environment has a minor role, when compared to cyanobacteria taxonomy, as a driver on the assemblage of associated bacterial communities. These results highlights some insights on the close relationship of the bacterial community associated with cyanobacteria, supporting the idea that cyanobacteria can structure microbial communities, what possibly indicate a role of such organisms in the cyanobacteria metabolism.

Palavras-chaves: Cyanobacteria, heterotrophic bacteria, Microbial interaction, DGGE

Agência Fomento: CNPQ

Evento Submissao: XIV Encontro Nacional de Microbiologia Ambiental 2014

AREA: Microbiologia Ambiental

SUB-AREA: Anaeróbios

DEGRADAÇÃO ANAERÓBIA DA MATÉRIA ORGÂNICA COM PRODUÇÃO CONCOMITANTE DE CH₄ E CO₂ POR DOIS AMBIENTES TROPICAIS ALAGADOS.

Autores Mello, R.C. ¹, Barbosa, L.R. ¹, Crapez, M.A.C. ³, Bernardes, M.C. ¹, Sabadini-Santos, E. ^{1,3}, Guerin, F. ²

E-mail do primeiro autor: raquel.mello@gmail.com

Instituição ¹ UFF - Departamento de Geoquímica, Universidade Federal Fluminense (Outeiro de São João Batista, s/n - Centro - Niterói - RJ - 24020-150 - Brasil), ² IRD - Institut de Recherche pour le développement (UR 234; GET; F-31400 Toulouse, France), ³ BIOMAR -UFF - Departamento de Biologia Marinha (Outeiro de São João Batista, s/n - Centro - Niterói - RJ - 24020-150 - Brasil)

Resumo:

Regiões alagadas e reservatórios de hidrelétricas localizados nos trópicos são considerados as principais fontes de metano para a atmosfera. Estas emissões estão relacionadas à degradação da matéria orgânica do solo e da biomassa vegetal inundada. O processo de degradação anaeróbio é mediado por microrganismos, que utilizam substratos orgânicos ou inorgânicos deste compartimento. Nosso objetivo foi comparar a composição da matéria orgânica sedimentar (carboidratos, lipídios e proteínas), o comportamento das formas nitrogenadas (NO₃⁻, NO₂⁻ e o NH₄⁺), o número de células bacterianas com a produção de gases (CH₄ e CO₂) de um lago e de um reservatório. O lago Pozo Hondo (Lago 4), situado no sistema de lagos de Yahuaraca, localiza-se na margem colombiana do Rio Amazonas, e sofre influência das águas pretas provenientes do desfiladeiro Yahuaraca. O reservatório do Funil está localizado no Rio Paraíba do Sul; é ambiente eutrofizado e recebe poluição oriunda das atividades antrópicas do vale do Paraíba Paulista. As incubações foram em atmosfera de N₂ a 25°C, sem agitação e os parâmetros foram quantificados semanalmente. Em ambas as áreas, a produção inicial de metano foi baixa, indicando que os processos oxidativos de degradação da matéria orgânica geraram CO₂. Após o 27º dia, houve uma substituição deste metabolismo oxidativo, passando a ocorrer a produção de metano. A degradação da matéria orgânica aminada produziu amônio, que foi oxidado em anaerobiose, com redução do ferro e produção de nitrito até o 196º dia de incubação. A partir desse momento, a oxidação anaeróbia do amônio produziu nitrato, dependente da produção de oxigênio pela enzima catalase. Portanto, observamos um aumento do NO₃⁻ a partir do 229º dia. A emissão de gases tende a diminuir com o decorrer do tempo devido ao consumo da matéria orgânica lábil. Ambas as áreas apresentaram esta tendência, porém o Lago 4 produziu gases em até duas ordens de grandeza a mais que o reservatório do Funil. Apesar de ser um ambiente eutrofizado, é questionável a labilidade desta matéria orgânica presente em grande quantidade. Portanto, é proposto um estudo mais aprofundado da composição da matéria orgânica para entender os processos que estão ocorrendo.

Palavras-chaves: degradação anaeróbia, lago Yahuaraca, metano, reservatório do Funil

Agência Fomento: Capes-PROEX

Evento Submissao: XIV Encontro Nacional de Microbiologia Ambiental 2014

AREA: Microbiologia Ambiental

SUB-AREA: Ecologia Microbiana Molecular

Isolation and characterization of potential plant growth promoting epiphytic diazotrophic bacteria from the Brazilian Atlantic Forest

Autores Cassetari, A.S.¹, Bozza, F.M.R.¹, Lambais, M.R.¹

E-mail do primeiro autor: alicecassetari@hotmail.com

Instituição ¹ ESALQ - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (Av Padua Dias, 11 Agronomia, Piracicaba, SP)

Resumo:

The Atlantic Forest is a major "hotspot" of biodiversity and may be an important source of new microbial species and bioproducts. Leaf surfaces (phyllospheres) have been shown to provide appropriate conditions for colonization by microorganisms including diazotrophic bacteria. These microorganisms may affect the growth and development of plants directly or indirectly. Previous studies on the microbial community in the Brazilian Atlantic Forest have shown a relatively high abundance of epiphytic bacteria on the phyllosphere and litter, with high N-fixation activity. In this study, we evaluated the possible mechanisms of plant growth promotion in diazotrophic bacteria isolated from leaf surfaces of the Atlantic Forest. Leaf samples were collected at the "Serra do Mar State Park" (São Paulo, Brazil) and free-living nitrogen fixing bacteria were isolated in nitrogen-free medium. Total nitrogenase activity was estimated using the acetylene reduction assay (ARA). The isolated strains that were positive for ARA, were further identified, based on their 16S rRNA gene sequences. A total of 120 isolates were obtained, being 50 from the phyllosphere and 70 from the litter. Forty-eight isolates showing nitrogenase activity, ranging from 5 to 41 nmol C₂H₄ h⁻¹ mg⁻¹ protein, were further analysed. 56% of these isolates showed indole acetic acid (IAA) production ranging from 1,74 to 51,77 µg mL⁻¹; 50% were able to solubilize inorganic phosphate and 17% were positive for siderophores. Phylogenetic affiliation of all the ARA positive isolates revealed the dominance of the class *Gammaproteobacteria* and the family *Enterobacteriaceae*, among them. Approximately 56% of the diazotrophic isolates were classified as *Klebsiella sp.*, 32% as *Ewingella*, and 3% as *Raoultella*, *Serratia*, *Rahnella* e *Enterobacter*. In conclusion, our study confirmed that the phyllosphere is an environment prone for the prospection of diazotrophics, which may be able to promote plant growth.

Palavras-chaves: Atlantic Forest, Phyllosphere, Nitrogen fixation, Plant growth-promoting bacteria, rRNA 16S

Agência Fomento: CNPq

Evento Submissao: XIV Encontro Nacional de Microbiologia Ambiental 2014

AREA: Microbiologia Ambiental

SUB-AREA: Ecologia Microbiana Molecular

Ecologia microbiana do solo e drenagem de mina de cobre

Autores Pereira, L.B. ¹, Castro, D.B.A. ¹, Ottoboni, L.B.M. ¹

E-mail do primeiro autor: pereira_leticia@hotmail.com

Instituição ¹ UNICAMP - Universidade Estadual de Campinas (Av. Cândido Rondon - Cidade Universitária, SP, 13083-875, CP 6010)

Resumo:

A drenagem de mina é uma solução aquosa, rica em metais pesados e enxofre e pobre em nutrientes a qual é liberada por oxidação a partir dos rejeitos da mineração. Apesar do efeito da drenagem ser preocupante quando presente no meio ambiente, o estudo da comunidade bacteriana ali presente pode proporcionar diversas aplicações industriais de interesse. A identificação de OTUs generalistas e especialistas em um determinado ambiente, por exemplo, pode revelar características importantes sobre a estrutura e o comportamento das comunidades bacterianas. A identificação da microbiota núcleo de um determinado ambiente, por sua vez, pode ser essencial para os estudos de ecologia, uma vez que a ocorrência dos mesmos microrganismos em todas as amostras sugere que eles desempenham um papel crucial na manutenção dessa comunidade. Assim sendo, o presente estudo tem como objetivo caracterizar comunidades microbianas de solo e drenagem de uma mina de cobre. O DNA de seis amostras de solo e seis de drenagem da mina do Sossego, PA, foi isolado e a região V3-V4 do gene rDNA 16S foi amplificada. As bibliotecas de amplicons foram submetidas ao pirosequenciamento na plataforma 454 (Roche). No ambiente de drenagem neutra foram encontradas cinco OTUs generalistas (*Meiothermus*, *Acidobacteria*, *Bacteroidetes* e duas *Gemmatimonas*) e nenhuma OTU especialista, sugerindo que esse ambiente deve ter poucos nichos a serem ocupados ou pouca competição interespecífica por recursos na comunidade. A microbiota núcleo da drenagem foi formada por 60 OTUs e é composta basicamente por bactérias resistentes a metais, com alguns grupos halófilos, possui potencial para degradação de diversos compostos xenobióticos e algumas das famílias presentes são pouco conhecidas. No ambiente de solo, foram encontradas três OTUs especialistas (*Bacteria*, *Acidobacteria* e *Rhodospirillales*) e duas OTUs generalistas (*Frankinae* e *Alphaproteobacteria*). A microbiota núcleo do solo foi composta por 17 OTUs e é formada basicamente por bactérias heterotróficas, com alguns grupos que apresentam resistência a metais pesados. O menor número de OTUs na microbiota núcleo do solo sugere que este ambiente é mais heterogêneo em termos de nichos a serem ocupados, quando comparado com a drenagem. O ambiente mais heterogêneo do solo também justifica o aparecimento de OTUs especialistas, pois essas bactérias podem estar ocupando nichos específicos e contribuindo para que a comunidade do solo se torne mais diversificada.

Palavras-chaves: bactéria, drenagem de mina, pirosequenciamento, solo

Agência Fomento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)

