

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR  
MESTRADO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS**

**GEÓRGIA BARGUIL COLARES**

**DIVERSIDADE E ESTRUTURA DE COMUNIDADES MICROBIANAS  
ASSOCIADAS À RIZOSFERA DE *Rhizophora mangle* DO  
MANGUEZAL DO RIO PACOTI, ZONA LESTE DA COSTA  
CEARENSE**

**ORIENTADORA: PROFA. DRA. VÂNIA MARIA MACIEL MELO**

FORTALEZA - CE  
2010

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Geórgia Barguil Colares

**DIVERSIDADE E ESTRUTURA DE COMUNIDADES MICROBIANAS  
ASSOCIADAS À RIZOSFERA DE *RHIZOPHORA MANGLE* DO  
MANGUEZAL DO RIO PACOTI, ZONA LESTE DA COSTA  
CEARENSE**

Dissertação submetida à Coordenação do  
Curso de Pós-Graduação em Ciências  
Marinhas Tropicais do Instituto de Ciências  
do Mar da Universidade Federal do Ceará,  
como requisito parcial para obtenção do  
grau de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Vânia Maria  
Maciel Melo

FORTALEZA  
2010

**A meus pais, *Neila e Ítalo*,  
dedico com amor.**

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Vânia Melo, pela confiança, apoio, muitas valiosas sugestões, tanto para a minha vida profissional quanto pessoal, e pelo exemplo como professora, orientadora e pesquisadora.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Maggioni, por ter aceitado fazer parte da banca de avaliação deste trabalho e também pelas aulas muito proveitosas, apesar da minha constante ausência, da disciplina de Genética Molecular de Organismos Marinhos.

À Profa. Dra. Dulce Bezerra por ter aceitado fazer parte da banca de avaliação deste trabalho e por ter me ensinado a fazer minhas primeiras PCR's e eletroforeses. Sua contribuição na minha formação foi fundamental.

À Profa. Dra. Ana de Fátima Urano e à equipe do Laboratório de Bioprospecção de Recursos Regionais por disponibilizar o laboratório, reagentes e equipamentos sempre que foi preciso.

Ao Prof. Dr. Thalles Barbosa Grangeiro, do Laboratório de Citogenética e Genética Molecular, por ter permitido o uso do seu fotodocumentador para a captura de imagens dos géis.

Ao Prof. Dr. George Satander e à equipe do Laboratório de Geologia Marinha e Aplicada por ter disponibilizado o laboratório para a realização de algumas das análises granulométricas deste trabalho.

Aos meus amigos e companheiros de laboratório, aos antigos, aos novos, aos “agregados” e aos que foram seguir outros caminhos: Alysson Lira, Andréa Oliveira, Bárbara Soares, Caio Leão, Denise Hissa, Dulce Bezerra, Elis Alencar, Fernanda Paes, Glauber Melo, Júlio Ximenes, Kizeane Fajardo, Laís Feitosa, Lidianne Leal, Lilian Pâmela, Luína Benevides, Manu Rabelo, Natália Falcão, Natasha Wanderley, Raphaela Gomes, Tallita Tavares, Tecia Vieira, Vanessa Câmara, Vanessa Nogueira, Wal Melgaço e Yuri Sampaio. Incrível como cada um de vocês me ajudou em algum momento deste trabalho, seja na execução ou na simples força de um “vai dar certo, Geórgia!”. Muito obrigada!

Ao “seu” Valdenor de Oliveira pelo cuidado e zelo com o nosso tão querido bloco 909 e pela simpatia que sempre alegra meus dias.

À Lili Ribeiro pela ajuda sempre que precisei.

Aos amigos da turma de Ciências Biológicas 2003.1 e “agregados” pela

presença ainda constante em minha vida, pelas saídas e festinhas sempre muito animadas.

Aos meus colegas da turma de mestrado de 2008, em especial a Elthon Gois, Hortência Barroso e Tallita Tavares pela amizade neste período tão enriquecedor da minha vida.

A Paulo Thieres por ter me ajudado em todas as etapas deste trabalho e pelo constante apoio, carinho e compreensão, mesmo tendo que sacrificar nosso natal e ano-novo para que eu pudesse escrever este trabalho à tempo. Muito obrigada, meu amor!

Aos meus pais pelo incansável e incondicional apoio, mesmo sem muitas vezes entender as minhas escolhas e rumos. Amo vocês também incansável e incondicionalmente!

Ao Instituto de Ciências do Mar – Labomar, seus professores e funcionários, por esses preciosos 2 anos de mestrado.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP, pelo apoio financeiro.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, ajudaram na execução deste trabalho.

**“Sonho que se sonha só é só um  
sonho que se sonha só. Sonho que se  
sonha junto é realidade.”**

**Raul Seixas**

## RESUMO

Os manguezais são ecossistemas costeiros que ocorrem em regiões de clima tropical e subtropical, sujeitos a ação das marés. São regiões de extrema importância para a reprodução de espécies, atuam como aparadores da linha da costa e possuem espécies vegetais endêmicas, conhecidas como mangue. Os manguezais geralmente são áreas bastante populosas, estando sujeitos a diversos impactos antrópicos, como a descarga de esgotos não-tratados, o desmatamento das espécies vegetais e assoreamento dos rios. Esses impactos afetam as populações de animais, vegetais e de micro-organismos habitantes dessas áreas, acarretando uma perda de diversidade desses organismos. Os micro-organismos do solo dos manguezais representam uma considerável parcela das atividades de ciclagem de nutrientes e decomposição de detritos, tendo fundamental importância para o equilíbrio dos ecossistemas. Entretanto, estudos de diversidade e estrutura dessas comunidades de micro-organismos em solos de manguezais são ainda escassos pela dificuldade de cultivo desses seres em laboratório. Com o avanço da biologia molecular, suas técnicas de estudo de diversidade utilizando o gene do rRNA 16S, houve a oportunidade de se estudar comunidades microbianas que não seriam acessadas por métodos de cultivos tradicionais. Deste modo, este estudo visa investigar a estrutura e a diversidade das comunidades microbianas do solo da rizosfera de *Rhizophora mangle* do manguezal do Rio Pacoti, localizado na região metropolitana de Fortaleza, através da técnica de Eletroforese em Gel de Grau Desnaturante (DGGE), assim podendo obter perfis de diversidade e caracterizar as comunidades microbianas habitantes do manguezal, comparando os dados obtidos com as variáveis ambientais e características do solo. Os resultados mostraram que as comunidades microbianas de solos do manguezal são semelhantes em número de UTO's, mas diferem em composição. As variáveis físico-químicas e as características do solo são responsáveis pelas diferenças na composição e estrutura das comunidades microbianas, apesar de que o efeito rizosférico determina a ocorrência de muitas UTO's em comum entre os diferentes pontos de coleta. As análises de diversidade das comunidades mostraram que estas estão em equilíbrio por não haver dominância de UTO's e por apresentarem similaridades entre os pontos e períodos analisados. Em conclusão, os solos da rizosfera de *Rhizophora mangle* do manguezal do Rio Pacoti abrigam comunidades microbianas diversas, em equilíbrio, que diferem em estrutura e composição.

Palavras-chave: manguezal, Rio Pacoti, solo, diversidade microbiana, rDNA 16S, DGGE.



## ABSTRACT

Mangroves are coastal ecosystems which occur in tropical and subtropical regions, subjected to tidal action. These ecosystems are very important for species reproduction and act as shoreline protectors. Mangroves are usually highly populated areas and are subjected to various human impacts, such as the discharge of untreated sewage, deforestation and river silting. These impacts affect populations of animals, plants and microorganisms that inhabit these areas, causing a loss of diversity. The mangrove soil microorganisms represent a considerable portion of the activities of nutrient cycling and decomposition of waste with a fundamental importance for the ecosystem balance. However, studies focusing the diversity and structure of microorganism communities in mangroves soils are still limited by cultivation techniques. With the advance of the molecular biology techniques, using the gene encoding the 16S subunit of the ribosomal RNA, the study of microbial communities that would not be accessed by traditional methods of cultivation was enabled. Thus, this study aims to investigate the structure and diversity of soil microbial communities from the rhizosphere of *Rhizophora mangle* from the Pacoti River, located in the metropolitan region of Fortaleza, using Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE), obtaining diversity profiles and characterizing the mangrove microbial communities and to compare it to the data obtained from the environmental variables and soil characteristics. Results showed that the mangrove soils microbial communities are similar in number of OTU's, but differ in composition. The physical and chemical variables and soil characteristics are responsible for the differences in the microbial communities' composition and structure, although the rhizosphere effect determines the occurrence of various OTU's in common among the sampling sites. The communities' diversity analysis showed that they are in balance due to the fact that there is no dominance of OTU's and the communities present spatial and temporal similarities. In conclusion, the *Rhizophora mangle* rhizosphere soils of the Pacoti River mangrove harbor diverse microbial communities that are in balance and differ in structure and in composition.

Keywords: mangrove, Pacoti River, soil, microbial diversity, rDNA 16S, DGGE.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Desenho esquemático apontando como se organizam os componentes orgânicos e inorgânicos do solo .....	19
Figura 2.	Árvore filogenética dos três domínios <i>Bacteria</i> , <i>Archaea</i> e <i>Eucaryota</i> ....	21
Figura 3.	Esquema indicando as etapas de realização de estudos de comunidades microbianas do solo pela técnica de DGGE .....	25
Figura 4.	Impactos sofridos na área do Manguezal do rio Pacoti. A – Empreendimentos imobiliários às margens do rio, B –Assoreamento na foz do Rio Pacoti .....	27
Figura 5.	Procedimento de coleta do solo, mostrando a retirada do solo com o amostrador de PVC e acondicionamento das amostras em frascos estéreis .....	28
Figura 6.	Localização dos pontos de coleta no manguezal do Rio Pacoti – CE ....	29
Figura 7.	Agrupamento com base na matriz de distância euclidiana para fatores abióticos dos pontos (1, 2 e 3) e períodos (seco e chuvoso) de amostragem do solo do manguezal do Rio Pacoti – CE .....	34
Figura 8.	Agrupamentos hierárquicos com base nas distância de Jaccard e no algoritmo UPGMA e Escalonamento Multidimensional Não-Métrico (NMDS) definidos a partir dos padrões de bandas obtidos por DGGE para <i>Bacteria</i> (A) e <i>Archaea</i> (B) nos pontos e períodos amostrados .....	35
Figura 9.	Riqueza de Unidades Taxonômicas Operacionais (UTO's) detectadas com a técnica de DGGE e Diagramas de Venn baseado nas UTO's para os grupos <i>Bacteria</i> (A) e <i>Archaea</i> (B) .....	37
Figura 10.	Análise de Componentes Principais das comunidades de <i>Bacteria</i> (A) e <i>Archaea</i> (B) dos solos estudados .....	40

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Variáveis ambientais dos pontos e períodos de coleta e características gerais dos solos .....	33
Tabela 2.	Índices de diversidade para as comunidades de <i>Bacteria</i> de amostras de solos do manguezal do Rio Pacoti, CE ....	38
Tabela 3.	Índices de diversidade para as comunidades de <i>Archaea</i> de amostras de solos do manguezal do Rio Pacoti, CE ....	39

## LISTA DE ABREVIATURAS

APA	Área de Proteção Ambiental
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
DGGE	Eleforese em Gel de Gradiente Desnaturante
EDTA	Ácido Etileno Diamino Tetracético
LemBiotech	Laboratório de Ecologia Microbiana e Biotecnologia
M.O.	Matéria Orgânica
NMDS	Escalonamento Multidimensional não-métrico
RMF	Região Metropolitana de Fortaleza
rRNA	Ácido Ribonucléico Ribossomal
PCA	Análise de Componentes Principais
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
pH	Potencial Hidrogeniônico
PVC	Policloreto de Vinila
TAE	Tris Acetato EDTA
TBE	Tris Borato EDTA
T-RFLP	Polimorfismo do Comprimento de Restrição Terminal
Tris	Tris (hidroximetil) aminometano
UFC	Universidade Federal do Ceará
UPGMA	Associação Média Não Ponderada
UTO	Unidade Taxonômica Operacional

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	14
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	16
2.1.	Manguezais: aspectos gerais .....	16
2.2.	Micro-organismos e solo .....	19
2.3.	Diversidade de micro-organismos .....	21
2.4.	Métodos de estudo de micro-organismos .....	22
3.	OBJETIVOS .....	26
3.1.	Objetivo Geral .....	26
3.2.	Objetivos Específicos .....	26
4.	MATERIAL E MÉTODOS .....	27
4.1.	Área de Estudo .....	27
4.2.	Coleta .....	28
4.3.	Análises granulométricas .....	29
4.4.	Teor de matéria orgânica .....	30
4.5.	Extração de DNA .....	30
4.6.	PCR – DGGE .....	31
4.7.	Análise dos dados .....	32
5.	RESULTADOS .....	33
5.1.	Variáveis ambientais e características do solo .....	33
5.2.	Análise dos padrões de bandas gerados por DGGE .....	35
5.3.	Índices de diversidade de Unidades Taxonômicas Operacionais .....	37
5.4.	Relação das comunidades microbianas com as variáveis ambientais e características do solo .....	39
6.	DISCUSSÃO .....	41
7.	CONCLUSÃO .....	49
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	50

## 1. INTRODUÇÃO

O manguezal é um ecossistema costeiro de transição entre os ambientes terrestre e marinho, característico de regiões tropicais e subtropicais e sujeito ao regime das marés. Ocorre em regiões litorâneas abrigadas como estuários, baías e lagunas, e apresenta condições propícias para alimentação, proteção e reprodução para muitas espécies animais, sendo considerado importante transformador de nutrientes em matéria orgânica e gerador de bens e serviços (SCHAEFFER-NOVELLI, 1995).

Assentamentos urbanos e o desenvolvimento de atividades industriais, portuárias, pesqueiras, de exploração mineral, turísticas, entre outras, sem planejamento adequado, vem colocando em risco os atributos básicos dos estuários brasileiros e ecossistemas associados, resultando na diminuição da qualidade de vida da população local (SCHAEFFER-NOVELLI, 1989a). Os micro-organismos encontrados em manguezais, que possuem papel fundamental nas transformações bioquímicas de nutrientes e são essenciais para degradação da matéria orgânica e poluentes (URAKAWA *et al.*, 2000), são especialmente afetados por esses impactos, provocando alterações no equilíbrio e saúde do ecossistema.

Embora os micro-organismos desempenhem papéis cruciais na manutenção dos ecossistemas, como componentes fundamentais de cadeias alimentares e ciclos biogeoquímicos, pouco se sabe sobre a diversidade e estrutura das comunidades microbianas de manguezais (GOMES *et al.*, 2008).

Na realidade, estima-se que se conheça menos de 1% dos micro-organismos existentes no planeta (HUGENHOLTZ; GOEBEL; PACE, 1998). Isso se deve as limitações impostas pelos métodos tradicionais de estudo, dependentes de cultivo. A metagenoma, uma abordagem molecular que faz uso do isolamento e caracterização do DNA total de uma amostra, sem necessidade de cultivá-la, tem possibilitado conhecer a real diversidade dos micro-organismos na natureza (HANDELSMAN, 2004).

Uma das técnicas moleculares utilizada para estudos de metagenômica vem a ser a de Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante (DGGE) que é baseada na separação de produtos de PCR de mesmo tamanho, porém com composição nucleotídica diferente. Com esta técnica é possível obter perfis de comunidades microbianas e identificar diferenças espaciais e temporais em comunidades microbianas, tornando também possível conhecer a sua diversidade e estrutura (NAKATSU, 2007).

Deste modo, o objetivo deste trabalho foi de explorar a diversidade estrutural das comunidades microbianas habitantes do solo superficial da rizosfera de *Rhizophora mangle* do manguezal do Rio Pacoti, CE, realizar comparações espaciais e temporais e compreender as interações ecológicas entre os micro-organismos e os fatores ambientais que determinam sua riqueza e abundância

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Manguezais: aspectos gerais

Os manguezais são ecossistemas costeiros encontrados em regiões tropicais e subtropicais do planeta, cobrindo uma área 18.107.700 ha dos quais 18,7% estão nas Américas (SPALDING; BLASCO; FIELD, 1997).

No Brasil está a segunda maior área de manguezal do mundo e a maior do continente, distribuídos ao longo de aproximadamente 6.800 km de costa (KJERFVE; LACERDA, 1993), desde o rio Oiapoque, na divisa do Amapá com a Guiana Francesa (04°30'N), até a praia do Sonho, em Santa Catarina (28°53'S) (SCHAEFFER-NOVELLI, 1989b) totalizando quase 1.300.000 ha de manguezal (SPALDING; BLASCO; FIELD 1997).

Os manguezais estão tipicamente localizados em zonas de transição entre os ecossistemas terrestres, marinhos e dulcícolas. A zona costeira tropical é uma das regiões mais ativas na biosfera em termos de biogeoquímica, representando um importante depósito de fontes de carbono. Florestas de manguezais são interfaces importantes na troca de sedimentos, matéria orgânica e gases entre o ecossistema terrestre, a atmosfera e os oceanos (ALONGI *et al.*, 2004)

Segundo Schaeffer-Novelli e Cintrón (1990) os manguezais apresentam uma zonação em relação à duração da imersão e a salinidade de água. A camada externa do manguezal é formada em sua maior parte por *Rhizophora mangle* (mangue vermelho), em menor proporção encontra-se a *Avicennia schaueriana* (mangue preto ou siriúba) e *Languncularia racemosa* (mangue branco). A vegetação de transição com a terra firme é formada por *Conocarpus erectus* (mangue botão).

O termo “mangue” é usado geralmente para designar espécies vegetais que crescem em planícies costeiras inundadas pela ação das marés. Uma dessas espécies, a *Rhizophora mangle*, prefere solos com a salinidade próxima a do mar e está restrita a ambientes costeiros, particularmente aqueles com baixa energia, protegidos, localizados em áreas entremarés e com altas concentrações de silte. (STERN; VOIGT 1959, MORROW; NICKERSON, 1973). A característica mais marcante dessa espécie vegetal são as estruturas que saem do caule e formam grandes galhos para a fixação da planta no substrato inconsolidado do manguezal. Essas estruturas de sustentação fazem trocas gasosas (por lenticelas) para o sistema de raízes no subsolo (GILL; TOMLINSON, 1972).

Hipóteses a respeito dos fatores ambientais que controlam o padrão de distribuição



das espécies de mangue postulam que diferentes espécies são capazes de se estabilizar e crescer bem somente sob condições ambientais restritas. Por exemplo, a adaptação fisiológica de uma espécie à frequência e à duração da inundação pela maré é comumente citada como o principal mecanismo que controla o padrão espacial da vegetação do manguezal. O padrão de distribuição também tem sido correlacionado com a salinidade da água que perclora o solo. (MACNAE, 1968; CLARKE; HANNON, 1970; LOPEZ-PORTILLO; EZCURRA, 1989), potencial redox do solo (MCKEE, 1993), concentração de sulfido da água (NICKERSON; THIBODEAU, 1985; MCKEE, 1993), textura do solo (CLARKE; ALLAWAY, 1993), e disponibilidade de nutrientes no solo (BOTO; WELLINGTON, 1984).

Árvores de manguezal dominam o fluxo de carbono e nitrogênio, estando entre as espécies vegetais mais produtivas (ALONGI, 2002). Apesar dessa alta produtividade, a maior parte do carbono fixado parece ficar retida no próprio ecossistema (TWILLEY, 1988). O nitrogênio também parece ser assimilado e retido devido possivelmente à evolução de vários mecanismos de conservação. As árvores e consórcios microbianos constituem um elo energético juntamente com os caranguejos, que como uma espécie fundamental, bioturba os sedimentos, tornando-o um abrigo para o crescimento microbiano e melhora a condição do solo para o crescimento das espécies vegetais. (KRISTENSEN *et al.*, 1995; ALONGI *et al.*, 2002).

Acima da linha d'água as árvores de manguezal fornecem habitat para uma grande diversidade de espécies, nas quais estão incluídas aves, insetos, mamíferos e répteis. Abaixo da água, as raízes de mangue são colonizadas por epibiontes tais como tunicados, esponjas, algas e bivalves. O substrato incolidado do manguezal torna-se habitat para várias espécies epi e infaunais, enquanto o espaço entre as raízes fornece abrigo e alimento para a fauna móvel como siris, caranguejos e peixes (SASEKUMAR, 1974).

A vegetação de mangue contribui para a complexidade deste habitat e de sua fauna associada (HUTCHINGS; SAENGER, 1987; LEE, 1998). A macrofauna dominante em termos de abundância e diversidade é representada por crustáceos e moluscos (SASEKUMAR, 1974; JONES, 1984). Essa macrofauna forma um importante elo entre os detritos que formam a base da teia alimentar do manguezal e dos consumidores em níveis tróficos mais altos, que incluem aves e espécies comerciais de peixes (MACINTOSH, 1984). A macrofauna também é responsável por modificar a estrutura física e da vegetação do manguezal pela atividade de escavação (SMITH *et al.*, 1991) e por se alimentarem de propágulos, folhas e madeira (BERRY, 1972; SMITH, 1987). De modo geral, crustáceos e moluscos desempenham importante papel no funcionamento dos ecossistemas de manguezais (LEE, 1999).

Apesar da baixa diversidade de espécies de plantas e estrutura relativamente

simples, o ecossistema manguezal contribui para funções ecológicas complexas como proteção da costa, berçário e local de alimentação de muitas espécies da fauna. (ODUM; HEALD, 1972; BURNS, 1977; RODRIGUEZ, 1987; ROBERTSON; DUKE, 1987). Deste modo, a produtividade e a biodiversidade de ecossistemas adjacentes dependem, de alguma forma, da integridade das florestas de manguezais.

Frequentemente localizadas em áreas urbanas, as florestas de mangue são importantes habitats especialmente em países em desenvolvimento e têm importante papel na subsistência humana, sendo explorado principalmente pela pesca e coleta de crustáceos e moluscos (ALONGI, 2002), também sendo tradicionalmente muito usadas para extração de madeira, combustível e medicamentos (SAENGER, 2002). Por este fato, estão sujeitas a impactos antrópicos constantes que são responsáveis por ser a principal causa de deterioração desses ecossistemas e, de acordo com Duke e colaboradores (2007), os manguezais estão em processo de desaparecimento em todo o mundo.

Nos últimos 50 anos, um terço das florestas de manguezais do mundo foi perdida para o desenvolvimento de áreas urbanas na costa (ALONGI, 2002). Como exemplo, estima-se que a Malásia chegou a perder 17% da sua área de manguezal entre 1965 e 1985, na Índia 50% entre 1963 e 1977, e nas Filipinas 70% entre 1920 e 1990 (WORLD RESOURCES INSTITUTE, 1996). Muitos outros países na Ásia, América Latina e África perderam de 30 a 70% nos últimos 40 anos (WORLD RESOURCES INSTITUTE, 1996; SPALDING; BLASCO; FIELD, 1997).

No Brasil, os manguezais são considerados pela legislação federal como áreas de preservação permanente (CONAMA, 2002). Apesar disso, o ecossistema está constantemente ameaçado por uma série de atividades humanas que são desenvolvidas tanto ao longo da costa como no interior e são distribuídas pelas bacias hidrográficas dos rios. As áreas de manguezal no Brasil vêm sofrendo mudanças ocasionadas, direta e indiretamente, por atividades antropogênicas associadas à expansão urbana como a construção de portos, turismo e a agricultura, especialmente na costa do nordeste e sudeste (VANNUCCI, 2002) onde também alguns processos de erosão podem ser observados em algumas áreas. (SOUZA FILHO; MARTINS; COSTA, 2006).

Mais especificamente na costa do nordeste brasileiro, a qual se caracteriza por ser um setor semi-árido do litoral do país, políticas para amenizar os efeitos da seca têm resultado em mudanças ambientais intensas. As construções de barragens para irrigação e usos na agricultura resultaram no decréscimo de água doce disponível para a zona costeira. Mais recentemente o desenvolvimento acelerado do turismo e da carcinicultura também tem

contribuído para as mudanças significativas na linha da costa. Erosão, aumento na entrada de água salgada e crescimento na formação de bancos de areia levados pelo vento, resultaram em mudanças significativas na cobertura do mangue pela costa nordeste do Brasil (LACERDA; MARINS, 2002).

Os impactos severos nos manguezais, ocasionados pelo crescimento contínuo das áreas urbanas, modificam seus regimes hidrológicos e sedimentológicos como também a dinâmica de nutrientes e poluentes químicos (LEE *et al.*, 2006). O constante impacto ao qual os manguezais estão submetidos afeta, em particular, as comunidades microbianas presentes nos solos de manguezal, as quais são cruciais para a saúde e balanço desse ecossistema (HOLGUIN; VAZQUEZ; BASHAN, 2001).

## 2.2. Micro-organismos e solo

Os solos são sistemas complexos de componentes vivos e não-vivos. Os componentes vivos abrangem raízes de plantas, bem como populações de micro-organismos e animais. A porção não-viva do solo inclui água, matéria orgânica, fragmentos de rocha de tamanhos variados, desde as partículas grandes as areias que tem grandes poros que acumulam ar, mas poucos nutrientes e água, até as menores, as argilas, que tem pouco ar, mas muitos nutrientes e água (Fig. 1) (VORONEY, 2007).

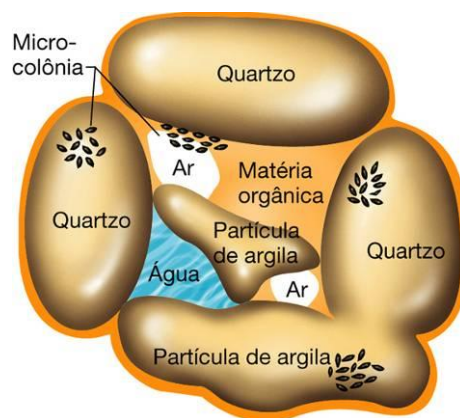


Figura 1: Desenho esquemático apontando como se organizam os componentes orgânicos e inorgânicos do solo (adaptado de PURVES *et al.*, 2002)

A estrutura dos solos modifica-se com a profundidade, revelando um perfil de solo. Três horizontes principais (A, B e C) são reconhecidos em um perfil de solo típico. O horizonte A é a camada superior do solo de onde podem ser retirados nutrientes minerais por lixiviação. A maior parte da matéria orgânica do solo localiza-se no horizonte A, onde está a

maioria dos organismos vivos. O horizonte B ou subsolo é a zona de infiltração e de acumulação dos materiais provenientes do horizonte superior, o horizonte C é a rocha mãe original, da qual deriva o solo (VORONEY, 2007). Nos manguezais não há um perfil de solo típico, podendo apresentar perfis diversos (ALONGI, 2009).

Chuvas, temperaturas extremas e atividades de plantas e animais e atividades humanas, como a agricultura, interagem de modo a causar constantes mudanças no solo. Esses fatores, juntamente com as características inerentes de determinados espaços geográficos com condições ambientais similares e comunidades de plantas características evoluíram tornando-se os atuais biomas terrestres e seus solos associados (VORONEY, 2007).

A microbiota do solo desempenha funções centrais para processos de decomposição e ciclagem de nutrientes. Os solos são considerados depósitos de atividade microbiana, apesar de o espaço ocupado por micro-organismos vivos ser estimado em menos de 5% do espaço total. Portanto, a predominância de atividade microbiana é encontrada em “*hot spots*”, como por exemplo, agregados com matéria orgânica acumulada e a rizosfera. (LYNCH, 1990; PINTON; VARANINI; NANNIPIERI, 2001)

Ecologistas microbianos têm estudado a composição da comunidade microbiana por esta controlar vários processos que ocorrem no solo (CAVIGELLI; ROBERTSON, 2000; BAKKER *et al.*, 2002). A diversidade e a estrutura de microrganismos na rizosfera são influenciadas pelo tipo de planta e de solo (LATOURET *et al.*, 1996).

Micro-organismos de solo e os processos associados a eles estão integralmente envolvidos no funcionamento dos ecossistemas terrestres (OGUNSEITAN, 2005). Entender os fatores cruciais envolvidos na distribuição e função das espécies microbianas é de grande importância. O tipo de solo parece ser o fator primário em determinar a composição das espécies microbianas e/ou sua função (BOSSIO *et al.*, 1998; BUYER; ROBERTS; RUSSEK-COHEN, 1999; GELSOMINO *et al.*, 1999; GIRVAN *et al.*, 2003; RASCHE *et al.*, 2006). A variação de fatores físico-químicos e ambientais entre diferentes tipos de solo vai interagir de um modo complexo para influenciar a diversidade microbiana e sua função.

Há ampla evidência para propor uma íntima relação entre microrganismos - nutriente - planta que funciona como um mecanismo para reciclar e conservar nutrientes nesse ecossistema. A comunidade microbiana diversa e altamente produtiva vivendo em manguezais tropicais transforma continuamente nutrientes de vegetação morta em fontes de nitrogênio, fósforo e outros nutrientes que podem ser usados pelas plantas. Em troca, exudatos de raízes servem com fonte de nutrientes para os micro-organismos (HOLGUIN; VAZQUEZ; BASHAN, 2001).

Bactérias colonizadoras de rizosfera possuem um eficiente metabolismo para assimilar os compostos orgânicos presentes em exudatos das raízes (BARRAQUIO, 2000). Deste modo, a importância do estudo desses grupos de micro-organismos habitantes da rizosfera é a elucidação de diversos processos que ocorrem em ambientes naturais.

### 2.3. Diversidade de micro-organismos

Essencialmente com base na comparação de sequências de RNA ribossômico, Woese e colaboradores (1990) concluíram que os procariontes não eram um grupo coeso do ponto de vista evolutivo, mas composto por dois subgrupos principais, diferindo entre si e dos eucariontes. Esta diversidade evolutiva reflete-se no genoma e, por sua vez, na bioquímica e na ecologia.

Assim, propuseram a substituição da divisão do mundo vivo em dois grandes domínios (procariontes e eucariontes) por uma subdivisão em três domínios (Fig. 2): mantiveram os tradicionais eucariontes como o domínio *Eucaryota*, mas em vez dos tradicionais procariontes surgem os domínios *Archaea* e *Bacteria*, ao mesmo nível que os *Eucaryota*. A sua classificação tem por base a ideia de que a árvore da Vida tem três e não apenas dois ramos, sendo o ramo mais basal o que conduz ao domínio *Bacteria*, sendo posterior a ramificação dos dois restantes grupos, o que os torna mais relacionados entre si do que cada um deles com as bactérias (WOESE; KANDLER; WHEELIS, 1990).

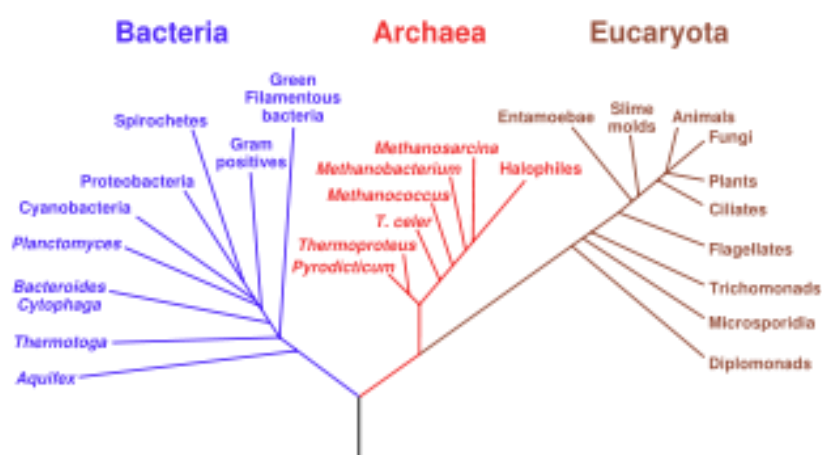


Figura 2: Árvore filogenética dos três domínios *Bacteria*, *Archaea* e *Eucaryota*. (WOESE, 1977)

O domínio *Bacteria* contém muitos ramos exibindo propriedades fisiológicas diversas (BALOWS *et al.*, 1992). Uma bactéria ancestral deu origem às demais bactérias atuais que evoluíram com a capacidade de utilizar vastas e diversas fontes de energia disponíveis. Algumas fazem fotossíntese, convertendo a energia luminosa em energia celular, outras são quimioautotróficas que usam compostos inorgânicos como fontes de energia, e, ainda, as quimiorganotróficas que obtêm energia de compostos orgânicos (ATLAS; BARTHA, 1998).

As arqueias se diferenciam de outros organismos vivos, representando claramente um grupo evolucionário distinto dos domínios *Bacteria* e *Eucarya* (WOESE, 1993). As arqueias possuem propriedades fisiológicas distintas, muitas das quais parecem se relacionar com a história evolutiva quando a Terra era quente e anaeróbica (HEATHCOCK *et al.*, 1985; ZILLIG, 1991). Entre essas propriedades, as arqueias possuem membranas citoplasmáticas que são quimicamente distintas, possuindo hidrocarbonetos ramificados e ligações éter, comparadas com as membranas lipídicas com ligações éster encontradas em todos os outros seres vivos, algumas formam tetraedros e possuem membranas em monocamadas em vez da típica camada bilipídica. Em vez do peptídeoglicano, típico de bactérias, a parede celular das arqueias consiste de proteínas e glicoproteínas, algumas contêm pseudomureína (ATLAS; BARTHA, 1998).

O domínio *Archaea* se subdivide em arqueias metanogênicas (produtoras de metano), halofílicas (afinidade com ambientes salinos) e termoacidofílicas (afinidade com ácidos e calor). Ocorrem também em lamas e solos deplecionados de oxigênio (anóxidos), ou lugares similares: fontes quentes, ambientes geotermiais (fundo oceânico com alta temperatura, liberação de gases e ausência de oxigênio), mares salgados, lamas ferventes e cinza vulcânica (ATLAS; BARTHA, 1998).

As bactérias e arqueias são os organismos mais disseminados pela Terra, vivem praticamente em todos os ambientes e sobrevivem numa extraordinária abrangência de habitats hostis aos seres eucarióticos (ATLAS; BARTHA, 1998).

## **2.4. Métodos de estudo de micro-organismos**

Durante muitas décadas, microbiologistas viam-se intrigados pela observação de que a maioria dos micro-organismos em ambientes naturais não é acessada pelo cultivo em laboratório. De fato, em solos pelo mundo, normalmente menos de 1% das células observadas por contagem direta é recuperado por métodos de cultivo tradicionais. Uma das razões para explicar essa diferença pode ser atribuída à interdependência de diferentes organismos com outros, outra razão é certamente a falta de conhecimento das condições

reais as quais a maioria dos micro-organismos está crescendo em seus ambientes naturais (SCHMIDT, 2006).

A grande maioria dos micro-organismos de ambientes naturais era inacessível à investigação científica até o advento da análise filogenética molecular, um método que utiliza a heterogeneidade dentro da sequência do rRNA 16S para inferir relações evolutivas (LILES *et al.*, 2003).

Os RNAs ribossômicos estão entre as macromoléculas mais conservadas em todos os sistemas vivos. Grandes porções de genes do rRNA possuem sequências conservadas que podem ser utilizadas para medir a distância evolutiva entre até os organismos mais distantemente relacionados. De fato, diferenças na sequência de nucleotídeos do rRNA são índices de mudanças evolutivas. Particularmente em bactérias e arqueias, o rRNA 16S é usado para determinar as relações filogenéticas (ATLAS; BARTHA, 1998).

Woese e colaboradores (1990), ao estudarem o rRNA 16S, argumentaram que este é um excelente cronômetro molecular pelo fato de que é encontrado em todos os organismos, possui longas regiões altamente conservadas ao mesmo tempo que tem regiões suficientemente variáveis para determinar relações filogenéticas próximas e não estão sujeitas a sofrer mudanças rápidas de sequência pela sua função central na expressão de genes.

Devido principalmente a pesquisas com o gene que codifica o rRNA 16S, os estudos das relações filogenéticas e a biogeografia de micro-organismos do ambiente estão emergindo e trazendo novos conhecimentos de ecossistemas planctônicos (VIEIRA *et al.*, 2007). Esses estudos contribuíram para desmitificar o conceito de que populações bacterianas são homogêneas em escalas temporal e espacial (CRUMP *et al.*, 2004; FUHRMAN *et al.*, 2006). Pelo contrário, dados sugerem que comunidades bacterianas são heterogêneas em abundância (ANDRADE *et al.*, 2003), atividades fisiológicas (SERVAIS *et al.*, 2003) e diversidade de filotipos (HEWSON; FUHRMAN, 2004) em gradientes tróficos.

A diversidade de micro-organismos está relacionada com o tempo de residência da água, taxa de crescimento microbiano e características ambientais. Estudos filogenéticos evidenciaram que populações de bactérias e arqueias são complexas, cosmopolitas e geralmente consistem em membros não-cultiváveis ou não identificados (PACE, 1997).

Com o advento das técnicas de metagenômica, o estudo de comunidades microbianas não-cultiváveis tornou-se possível e contribuiu significativamente para um melhor entendimento da ecologia microbiana em diversos ecossistemas (PACE *et al.*, 1986). A aplicação dessas técnicas em estudos de ecologia microbiana tornou-se um novo ramo de

estudo: ecologia microbiana molecular (AKKERMANS; VAN ELSAS; DE BRUIJN, 1995).

Ao contrário da genômica, que tem como foco o sequenciamento do DNA de um organismo, a metagenômica envolve o acesso à sequência de uma comunidade de organismos que habitam um determinado ambiente, como também qualquer tipo de análise de DNA obtido diretamente do ambiente. A metagenômica vem se tornando uma tecnologia básica usada para estudos de ecologia e evolução de micro-organismos (HUGENHOLTZ; TYSON, 2008).

A biogeografia de assembleias microbianas em ecossistemas estuarinos tropicais ainda não foi bem estudada (BALDWIN *et al.*, 2005). Propriedades físico-químicas e microbiológicas podem ser muito diferentes no ambiente estuarino. Uma variedade de métodos é capaz de extrapolar informações de frequências de unidades taxonômicas operacionais (UTO's) ou curvas de abundância de espécies para prever o número de diferentes táxons microbianos presentes em amostra de um local (SCHLOSS; HANDELSMAN, 2005).

Um desses métodos vem a ser a técnica de PCR-DGGE que se tornou um meio rápido de se comparar e estudar a estrutura de comunidade sem o uso de metodologias de cultivo (TORSVIK; ØVREÅS, 2002). Pesquisadores vêm utilizando o PCR-DGGE para investigar aspectos básicos de comunidades de solo, tais como diferenças ou modificações na estrutura da comunidade em resposta ao ambiente, ao espaço, ao tempo e a perturbações sofridas na comunidade. (NAKATSU, 2004).

A técnica de DGGE consiste na eletroforese de fragmentos do 16S rDNA amplificados por PCR, onde qual um dos iniciadores apresenta uma região rica em G+C (grampo G-C) que visa impedir a total desnaturação da dupla fita do DNA durante a eletroforese, em gel de poliacrilamida contendo um crescente gradiente de desnaturantes (uréia e formamida) que rompe as pontes de hidrogênio entre os nucleotídeos, possibilitando a separação de fragmentos do mesmo tamanho mas com composição nucleotídica diferente. A separação no DGGE é baseada na mobilidade eletroforética da molécula de DNA parcialmente desnaturada no gel de poliacrilamida. As variações nas sequências dos diferentes fragmentos de DNA de uma amostra irão parar de migrar no gel em posições diferentes, gerando um padrão de bandas característico de cada comunidade estudada (Fig. 3) (MUYZER; DE WAAL; UITTERLINDEN, 1993).



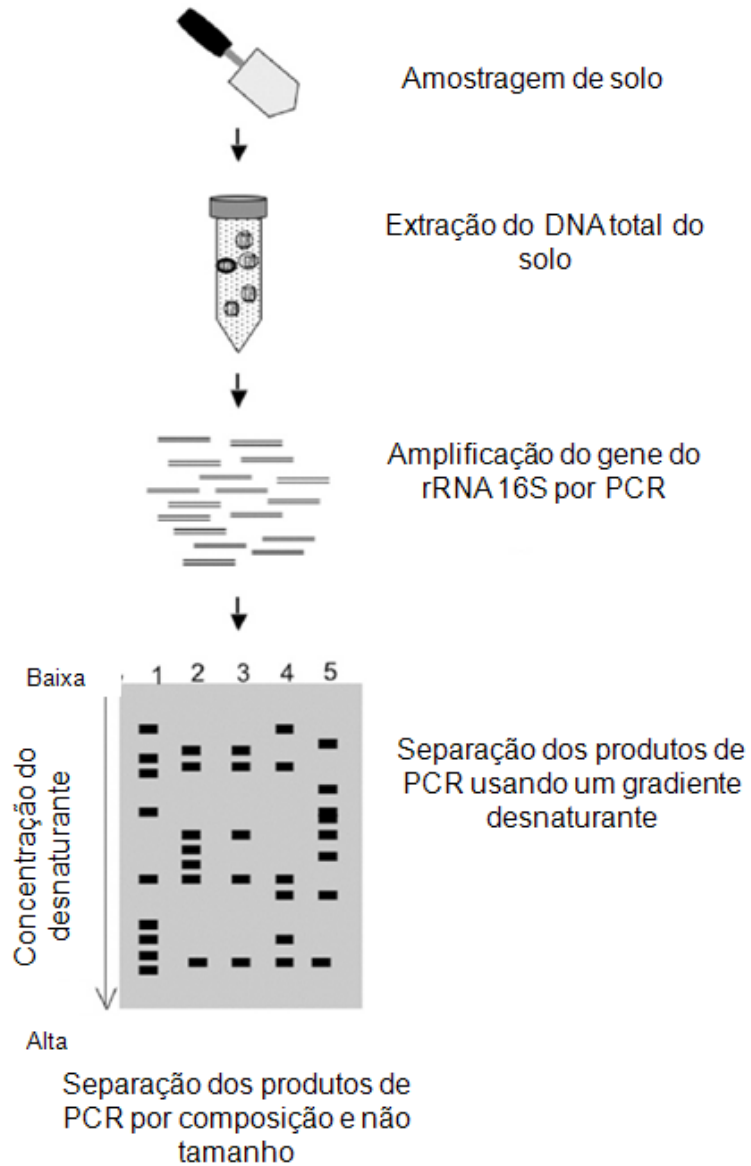


Figura 3: Esquema indicando as etapas de realização de estudos de comunidades microbianas do solo pela técnica de DGGE (adpatado de NAKATSU,2007).

### **3. OBJETIVOS**

**Material protegido para publicação. Obrigada pela compreensão.**

#### **4. MATERIAL E MÉTODOS**

**Material protegido para publicação. Obrigada pela compreensão.**

## **5. RESULTADOS**

**Material protegido para publicação. Obrigada pela compreensão.**

## **6. DISCUSSÃO**

**Material protegido para publicação. Obrigada pela compreensão.**

## **7. CONCLUSÃO**

**Material protegido para publicação. Obrigada pela compreensão.**

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLER, J. Y; KEMP, P. F. Are Archaea inherently less diverse than Bacteria in the same environments? **FEMS Microbiology Ecology**, v. 65, p. 74–87, 2008.
- ANDRADE, L. *et al.* Flow cytometry assessment of bacterioplankton in tropical marine environments. **Journal of Microbiological Methods**, v. 55, p. 841–850, 2003.
- AKKERMANS, D. L.; VAN ELSAS, J. D.; DE BRUIJN, F. J. **Molecular Microbial Ecology Manual**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 1995.
- ALEXANDER, M. **Microbial ecology**. Wiley, Nova Iorque, 1971.
- ALONGI, D. M. Present state and future of the world's mangrove forests. **Environmental Conservation**, v. 29, p. 331–349, 2002.
- \_\_\_\_\_. **The Energetics of Mangrove Forests**. Springer, 2009
- ALONGI, D. M. *et al.* Below-ground nitrogen cycling in relation to net canopy production in mangrove forests of southern Thailand. **Marine Biology**, v. 140, p. 855–864, 2002.
- ALONGI, D. M. *et al.* Sediment accumulation and organic material flux in a managed mangrove ecosystem: estimates of land–ocean–atmosphere exchange in peninsular Malaysia. **Marine Geology**, v. 208, p. 383–402, 2004.
- ATLAS, R. M. Diversity of microbial communities. In: Marshall K.C. (ed) **Advances in Microbial Ecology**, Plenum Press, Nova Iorque, v. 7, p. 1–47, 1984.
- ATLAS, R. M.; BARTHA R., **Microbial ecology: fundamentals and applications**. Cummings Science Publishing, 694 p., 1998.
- BAKKER, P. A. H. M. *et al.* Effects of *Pseudomonas putida* modified to produce phenazine-1-carboxylic acid and 2,4-diacetylphloroglucinol on the microflora of field grown wheat. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 81, p. 617–624, 2002.
- BALDWIN, A. J. *et al.* Biogeography of aquatic microbes. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 41 p. 39–48, 2005.
- BALOWS, A. *et al.* **The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria – Ecophysiology, Isolation, Identifications, Applications**, Springer - Verlag, Nova Iorque, 2. ed., 1992.
- BARRAQUIO, W. L. **In The Quest for Nitrogen Fixation in Rice**, IRRI, Los Banos, Philippines, p. 93–118, 2000.
- BERRY, A. J. The Natural History of West Malaysian Mangrove Faunas. **Malayan Nature Journal**, v. 25, p. 135–162, 1972.
- BOSSIO, D. A. *et al.* Determinants of soil microbial communities: effects agricultural

COLARES, G. B. - Diversidade e Estrutura de Comunidades Microbianas...

management, season, and soil type on phospholipid fatty acid profiles. **Microbial Ecology**, v. 36, p. 1–12, 1998.

BOTO, K. G.; WELLINGTON J. T. Soil characteristics and nutrient status in a northern Australian mangrove forest. **Estuaries**, v. 1, p. 61–69, 1984.

BRIMECOMBE, M. J.; DE LEIJ, F. A.; LYNCH, J. M. The effect of root exudates on rhizosphere microbial populations. **The Rhizosphere – Biochemistry and Organic Substances at Soil - Plant Interface** (Pinton R, Varanini Z & Nannipieri P, eds), Marcel Dekker, Nova Iorque, p. 41–94, 2001.

BROCK, T. D.; MADIGAN, M. T. *Biology of Microorganisms*, Prentice Hall International Inc, Londres, 5. ed., 1988

BURNS, L. A. Mangrove swamps. in J. R. Clark, editor. **Coastal ecosystem management**. Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons, Nova Iorque, p. 660-665, 1977.

BUYER, J. S., ROBERTS, D. P., RUSSEK-COHEN, E. Microbial community structure and function in the spermosphere as affected by soil and seed type. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 45, p. 138–144, 1999.

CAMPOS, A. A. *et al.* **Zona costeira do Ceará: Diagnóstico para a gestão integrada**, Fortaleza: AQUASIS, 293 p., 2003.

CAVIGELLI, M. A.; ROBERTSON, G. P., The functional significance of denitrifier community composition in a terrestrial ecosystem. **Microbial Ecology**, v. 81, p. 1402–1414, 2000.

CILIA, V.; LAFAY, B.; CHRISTEN, R. Sequence heterogeneities among 16S ribosomal RNA sequences, and their effect on phylogenetic analyses at the species level. **Molecular Biology and Evolution**, v. 13, p. 451-461, 1996.

CINTRON, G.; SCHAEFFER-NOVELLI, Y. Factores abioticos. In: **Introducción a la ecologia del manglar**. Unesco-Rostlac, p. 19-29, 1983.

CLARKE L. D., HANNON, N.J. The mangrove and salt marsh communities of the Sydney district. III. Plant growth in relation to salinity and waterlogging. **Journal of Ecology**, v. 58, p. 351 – 369, 1970.

CLARKE, P. J., ALLAWAY, A. J. The regeneration niche of the gray mangrove (*Avicennia marina*): effects of salinity, light and sediment factors on establishment, growth and survival in the field. **Oecologia**, v. 93, p. 548 - 556, 1993

CONAMA. Resolução do Conselho Nacional de Meio Ambiente n. 312, de 10 de outubro de 2002. **Diário Oficial da União**, 2002.

COSTA, G. A. Análise das condições geoambientais do rio Pacoti-CE, In: I Congresso Intercontinental de Geociências. Fortaleza: **Anais do I Congresso Intercontinental de Geociências**, Eixo B, 8 p. 1 CD-ROM, 2004.



COLARES, G. B. - Diversidade e Estrutura de Comunidades Microbianas...

COSTA, R. *et al.* Effects of site and plant species on rhizosphere community structure as revealed by molecular analysis of microbial guilds. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 56, p. 236–249, 2006.

CRUMP, C. B. *et al.* Microbial biogeography along an estuarine salinity gradient: combined influence of bacterial growth and residence time. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 1494–1505, 2004.

CURY, J. C. **Atividade microbiana e diversidades metabólica e genética em solo de mangue contaminado com petróleo.** Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 84 p., 2002.

CUZZUOL, G. R. F.; CAMPOS A. Aspectos nutricionais na vegetação de manguezal do estuário do Rio Mucuri, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 2, p. 227-234, 2001.

DUKE, N. C. *et al.* A world without mangroves? **Science**, v. 317, p. 41–42, 2007.

EICHNER, C. A. *et al.* Thermal gradient gel electrophoresis analysis of bioprotection from pollutant shocks in the activated sludge microbial community. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, p. 102-109, 1999.

FOLK, R. L.; WARD, W. C. Brazos River Bay: Study of the significance of grain size parameters. **Journal of Sedimentary Petrology**, v. 27, p. 3-27, 1957.

FUHRMAN, J.A. *et al.* Annually reoccurring bacterial communities are predictable from ocean conditions. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, p. 13104–13109, 2006.

GANS, J.; WOLINSKY, M.; DUNBAR, J. Computational improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil. **Science**, v. 309, p. 1387–1390, 2005.

GARBEVA, P., VAN VEEN, J. A.; VAN ELSAS, J. Assessment of the diversity, and antagonism towards *Rhizoctonia solani* AG3, of *Pseudomonas* species in soil from different agricultural regimes. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 47, p. 51–64, 2004.

GELSOMINO, A. *et al.* Assessment of bacterial community structure in soil by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis. **Journal of Microbiological Methods**, v. 38, p. 1–15, 1999.

GILL, A. M.; TOMLINSON, P. B. Studies on the growth of red mangrove (*Rhizophora mangle* L.). 2. Growth and differentiation of aerial roots. **Biotropica**, v. 3, p. 63–77, 1972.

GIRVAN, M. S. *et al.* Soil type is the primary determinant of the composition of the total and active bacterial communities in arable soils. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, p. 1800–1809, 2003.

GOMES, N. C. M. *et al.* Exploring the diversity of bacterial communities in sediments of urban mangrove forests. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 66, p. 96–109, 2008.

COLARES, G. B. - Diversidade e Estrutura de Comunidades Microbianas...

HANDELSMAN, J. Metagenomics: Application of Genomics to Uncultured Microorganisms **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 68, n. 4, p. 669–685, 2004.

HEATHCOCK, C. H. *et al.* Stereostucture of the Archaeobacterial C<sub>40</sub> Diol. **Science**, v. 229, p. 862-864, 1985.

HEWSON, I.; FUHRMAN, J. A. Richness and diversity of bacterioplankton species along an estuarine gradient in Moreton Bay, Australia. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 3425–3433, 2004.

HOLGUIN, G.; VAZQUEZ, P.; BASHAN, Y. The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of mangrove ecosystems: an overview. **Biology and Fertility of Soils**, v. 33, p. 265–278, 2001.

HORWATH, W. R.; ELLIOTT, L. F.; LYNCH, J. M. Influence of soil quality on the function of inhibitory rhizobacteria. **Letters in Applied Microbiology**, v. 26, p. 87–92, 1998.

HUGENHOLTZ, P.; GOEBEL, B. M.; PACE, N. R. Impact of Culture-Independent Studies on the Emerging Phylogenetic View of Bacterial Diversity. **Journal of Bacteriology**, v. 180, n. 18, p. 4765–4774, 1998.

HUGENHOLTZ, P.; TYSON, G. W. Metagenomics. **Nature**, v.455, p. 481-483, 2008.

HUTCHINGS, P.; SAENGER, P. **Ecology of Mangroves**. University of Queensland Press, St. Lucia, Austrália, 388 p., 1987.

JAEGER, C. H. *et al.* Mapping of sugar and amino acid availability in soil around roots with bacterial sensors of sucrose and tryptophan. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, p. 2685–2690, 1999.

JONES, D. A. Crabs of the mangal ecosystem. In **Hydrobiology of the Mangal** (Por, F. D.; Dor, I., eds). Dr. W. Junk Publishers, The Hague, p. 89–109, 1984.

KENNEDY, A. C.; SMITH, K. L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. **Plant Soil**, v. 170, p. 75-86, 1995.

KJERFVE, B.; LACERDA, L. D. Mangroves of Brazil. In: Lacerda, L. D. (Ed.). **Conservation and sustainable utilization of mangrove forest in Latin America and Africa regions**. Okinawa: ITTO/ISME, cap 1, 272 p., 1993.

KRISTENSEN, E. *et al.* Carbon, nitrogen and sulfur cycling in sediments of the Ao Nam Bor mangrove forest, Phuket, Thailand: a review. **Phuket Marine Biological Center Research Bulletin**. v. 60, p. 37–64, 1995.

LACERDA, L. D.; MARINS, R. V. River damming and changes in mangrove distribution. **ISME /Glomis Electronic Journal**, v. 2, p. 1-4. 2002.

LATOUR X. *et al.* The establishment of an introduced community of fluorescent pseudomonads in the soil and in the rhizosphere is affected by the soil type. **FEMS**

**Microbiology Ecology**, v. 30, p.163–170, 1996.

LEE, S. Y. The ecological role of grapsid crabs in mangrove ecosystems: implications for conservation. **Marine and Freshwater Research**, v. 49, p. 335–343, 1998.

\_\_\_\_\_. Tropical mangrove ecology: Physical and biotic factors influencing ecosystem structure and function. **Australian Journal of Ecology**, v. 24, p. 355–366, 1999.

LEE S. Y. *et al.* Impact of urbanization on coastal wetland structure and function. **Austral Ecology**, v. 31, p. 149 – 163, 2006.

LILES, M. R. *et al.* A Census of rRNA Genes and Linked Genomic Sequences within a Soil Metagenomic Library. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 5, p. 2684–2691, 2003.

LUPWAYI, N. Z.; RICE, W. A.; CLAYTON, G. W. Soil microbial diversity and community structure under wheat as influenced by tillage and crop rotation. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 30, p.1733–1741, 1998.

LOPEZ-PORTILLO, J; EZCURRA, E. Response of three mangroves to salinity in two geofoms. **Functional Ecology**, v. 3, p. 355–361, 1989.

LYNCH, J. M. **Introduction: some consequences of microbial competence for plant and soil.** In **The Rhizosphere** (ed. Lynch, J. M.), John Wiley & Sons, Chichester, Reino Unido, p. 1–10, 1990.

MACINTOSH, D. J. Ecology and productivity of Malaysian mangrove crab populations (Decapoda: Brachyura). In **Proceedings of the Asian Symposium on Mangrove Environment, Research and Management** (Soepadmo, E., Rao, A. N. & Macintosh, D. J., eds). University of Malaya e UNESCO, 1984.

MACNAE, W. A general account of the flora and fauna of mangrove swamps in the Indo-Pacific region. **Advances in Marine Biology**. v. 6, p. 73 – 270, 1968.

MARSCHNER, P. *et al.* Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 33, p. 1437–1445, 2001.

MCKEE, K. L. Soil physicochemical patterns and mangrove species distribution - reciprocal effects? **Journal of Ecology**, v. 81, p. 477-487, 1993.

MENDES, L. W. **Análise molecular das estruturas e diversidade de comunidades microbianas em solo de manguezal preservado da Ilha do Cardoso-SP.** Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 141 p., 2009.

MORROW, L.; NICKERSON, N. H. Salt concentrations in ground waters beneath *Rhizophora mangle* and *Avicennia germinans*. **Rhodora**, v. 75, p. 102–106, 1973.

MURRAY, A. E.; HOLLIBAUGH, J. T.; ORREGO C. Phylogenetic compositions of bacterioplankton from two California estuaries compared by denaturing gradient gel

COLARES, G. B. - Diversidade e Estrutura de Comunidades Microbianas...

electrophoresis of 16S rDNA fragments. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, p. 2676–2680, 1996.

MUYZER, G., DE WAAL, E. C., UITTERLINDEN, A. G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, p. 695–700, 1993.

NAKATSU, C. H. Microbial community analysis. In D. Hillel et al. (ed.) **Encyclopedia of soils in the environment**. Elsevier, Oxford, Reino Unido, p. 455–463, 2004.

\_\_\_\_\_. Soil Microbial Community Analysis Using Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. **Soil Science Society of America Journal**, v. 71, n. 2, p. 562–571, 2007.

NAKATSU, C. H.; TORSVIK, V.; ØVREÅS, L. Soil community analysis using DGGE of 16S rDNA polymerase chain reaction products. **Soil Science Society of America Journal**, v. 64, p. 1382–1388, 2000.

NICKERSON, N. H., THIBODEAU F. R. Association between pore water sulfide concentrations and the distribution of mangroves. **Biogeochemistry**, v. 1, p. 183–192, 1985.

NOGUEIRA, V. L. R. *et al.* Análise da Diversidade Bacteriana de Manguezal da Costa Cearense por Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante (DGGE). **Anais do 25º Congresso Brasileiro de Microbiologia**, 2009.

NÜBEL, U., *et al.* Sequence heterogeneities of genes encoding 16S rRNAs in *Paenibacillus polymyxa* detected by temperature gradient gel electrophoresis. *Journal of Bacteriology*, v. 178, p. 5636–5643, 1996.

NUNES, G. L. **Diversidade e estrutura de comunidades de Bacteria e Archaea em solo de mangue contaminado com hidrocarbonetos de petróleo**. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 84 p., 2006.

ODUM, W. E.; HEALD, E. J. Trophic analysis of an estuarian mangrove community. **Bulletin of Marine Science**, v. 22, p. 671–738, 1972

OGUNSEITAN, O. **Microbial Diversity**. Blackwell Science Ltd., Oxford, Reino Unido, 292 p., 2005.

ØVREÅS L.; TORSVIK V. Microbial Diversity and Community Structure in Two Different Agricultural Soil Communities. **Microbial Ecology**, v. 36, p. 303–315, 1998.

ØVREÅS, L. *et al.* Distribution of Bacterioplankton in Meromictic Lake Sælenvannet, as Determined by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis of PCR-Amplified Gene Fragments Coding for 16S rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, n. 9, p. 3367–3373 1997.

PACE, N. R. A molecular view of microbial diversity and the biosphere. **Science**, v. 276, p. 734–740, 1997.

COLARES, G. B. - Diversidade e Estrutura de Comunidades Microbianas...

PACE, N. R. *et al.* The analysis of natural microbial populations by ribosomal RNA sequences. **Advances in Microbial Ecology**, v. 9, p. 1–55, 1986.

PINTON, R.; VARANINI, Z.; NANNIPIERI, P. **The Rhizosphere: Biodiversity and Organic Substances at the Soil–Plant Interface**, Marcel Dekker, Nova Iorque, 2001.

PURVES, W. K. *et al.* Vida A Ciência da Biologia, Artmed, Rio Grande do Sul, 6. ed., 2002.

RAINEY, F. A. *et al.* *Clostridium paradoxum* DSM 7308(T) contains multiple 16S rRNA genes with heterogeneous intervening sequences. **Microbiology**, v. 142, p. 2087-2095, 1996.

RASCHE, F. *et al.* Rhizosphere bacteria affected by transgenic potatoes with antibacterial activities compared to the effects of soil, wild-type potatoes, vegetation stage and pathogen exposure. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 56, p.219–235, 2006.

ROBERTSON, A.; DUKE, N. C. Mangroves as nursery sites: comparisons of the abundance and species composition of fish and crustaceans in mangroves and other nearshore habitats in tropical Australia. **Marine Biology**, v. 96, p. 193–205, 1987.

ROCHA, L. L. **Estudo de Comunidades Bacterianas de Solos do Manguezal da Barra Grande, Icapui-CE e Seleção de Cepas com Potencial para Degradar Hidrocarbonetos**. Dissertação de mestrado – Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, 87 p., 2008.

RODRIGUEZ, G. Structure and production in neotropical mangroves. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 2, p. 264–267, 1987.

SAENGER, P. Mangrove Ecology. **Silviculture and Conservation**. Kluwer, Dordrecht, 2002.

SALLES, J. F.; VAN VEEN, J. A.; VAN ELSAS, J. D. Multivariate analyses of *Burkholderia* species in soil: effect of crop and land use history. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 4012–4020, 2004.

SASEKUMAR, A. The distribution of macrofauna on a Malayan mangrove shore. **Journal of Animal Ecology**. v. 43, p. 51–69, 1974.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. Manguezais brasileiros: região sudeste-sul. In: Simpósio sobre Ecossistemas da Costa Sul e Sudeste: Síntese dos Conhecimentos, São Paulo. **Anais do Simpósio sobre Ecossistemas da Costa Sul e Sudeste: Síntese dos Conhecimentos**, p. 78, 1989a.

\_\_\_\_\_. Perfil dos Sistemas Litorâneos Brasileiros, com Especial Ênfase Sobre o Ecossistema Manguezal. **Publicação Especial do Instituto de Oceanografia de São Paulo**, v. 7, p.1-16, 1989b.

\_\_\_\_\_. Manguezal: ecossistema entre a terra e o mar. São Paulo, **Caribbean Ecological Research**, p. 7, 1995.

SCHAEFFER-NOVELLI Y.; CINTRON, G. Status of mangrove research in Latin America

COLARES, G. B. - Diversidade e Estrutura de Comunidades Microbianas...

and the Caribbean. **Boletim do Instituto de Oceanografia**, São Paulo, v. 38, n. 1, p. 93-97, 1990.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y.; LIMA-MESQUITA, H. S.; CINTRON-MOLERO, G. The Cananea lagoon estuarine system, SP. Brazil. **Estuaries**, v. 13, n. 2, p.193-203, 1990.

SCHMIDT, T. M. The Maturing of Microbial Ecology. **International Microbiology**, v. 9, p. 217-223, 2006.

SCHLOSS, P. D.; HANDELSMAN, J. Introducing DOTUR, a computer program for defining operational taxonomic units and estimating species richness. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, p. 1501–1506, 2005.

SCHÖNFELD, J. *et al.* Effects of compost addition and simulated solarisation on the fate of *Ralstonia solanacearum* biovar 2 and indigenous bacteria in soil. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 40, p. 29–37, 2002.

SCHULTE, E. E.; HOPKINS, B. G. Estimation of soil organic matter by weight loss-on-ignition. In: MAGDOFF, F. R.; TABATABAI, M.A.; HANLON Jr., E. A. **Soil organic matter: Analysis and interpretation**. Madison, p. 21-31, 1996.

SERVAIS, P., *et al.* Activity and diversity of bacterial cells with high and low nucleic acid content. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 33, p. 41–51, 2003.

SESSITSCH, A. *et al.* Microbial population structures in soil particle size fractions of a long-term fertilizer field experiment. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, p. 4215–4224, 2001.

SMITH, T. J. Seed predation in relation to tree dominance and distribution in mangrove forests. **Ecology**, v. 68, p. 266–273, 1987.

SMITH, T. J. *et al.* Keystone species and mangrove forest dynamics: the influence of burrowing by crabs on soil nutrient status and forest productivity. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 33, p. 19–32, 1991.

SPALDING, M.; BLASCO, F.; FIELD, C. World mangrove atlas. Okinawa: **International Society for Mangrove Ecosystems**, 178 p., 1997.

SOTO, R.; JIMÉNEZ, J. A. Análisis fisionómico estructural del manglar de Puerto Soley, La Cruz, Guanacaste, Costa Rica. **Revista de Biología Tropical**, v. 30, p. 161-168, 1982.

SOUZA FILHO P. W .M.; MARTINS, E. S. F.; COSTA F. R. Using mangroves as geological indicator of coastal changes in the Bragança macrotidal flat, Brazilian Amazon: an approach from remote sensing data and GIS. **Ocean and coastal management**, v. 49, p. 462–475, 2006.

STERN, W. L.; VOIGT G. K. Effect of salt concentration on growth of red mangrove in culture. **Botanical Gazette**, v. 121, p. 36–39, 1959.

TAKIZAQA, M.; COLWELL, R. R.; HILL, R. T. Isolation and diversity of actinomycetes in

COLARES, G. B. - Diversidade e Estrutura de Comunidades Microbianas...

the Chesapeake Bay. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, p. 997-1002, 1993.

TOMLINSON, P. B. **The botany of mangroves**. Cambridge University Press, Cambridge, 1986.

TORSVIK, V.; SORHEIM R.; GOKSOYR, J. Total bacterial diversity in soil and sediment communities: A review. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 17, p. 170–178, 1996.

TORSVIK, V. *et al.*, Novel techniques for analysing microbial diversity in natural and perturbed environments. **Journal of Biotechnology**, v. 64, p. 53–62, 1998.

TORSVIK, V.; ØVREÅS L. Microbial diversity and function in soil: From genes to ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, v. 5, p. 240–245, 2002.

TWILLEY, R. R. Coupling of mangroves to the productivity of estuarine and coastal waters. In: Jansson, B.O. (Ed.), Coastal – Offshore Interactions, **Lecture Notes on Coastal and Estuarine Studies**, Springer, Berlin, v. 22., p. 155–180, 1988.

URAKAWA, H. *et al.* Characterization of depth-related population variation in microbial communities of a coastal marine sediment using 16S rDNA-based approaches and quinone profiling. **Environmental Microbiology**, v. 2, n. 5, p. 542-554, 2000.

VALLAEYS, T. *et al.* Evaluation of denaturing gradient gel electrophoresis in the detection of 16S rDNA sequence variation in rhizobia and methanotrophs. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 24, p. 279-285, 1997.

VANNUCCI M. **Os manguezais e nós**, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2. ed., 244 p., 2002.

VIEIRA, R.P. *et al.* Archaeal communities in a tropical estuarine ecosystem: Guanabara Bay, Brazil. **Microbial Ecology**, v. 54, n. 3, p. 460 – 468, 2007.

VORONEY, R. P. The Soil Habitat. In: **Soil Microbiology and Biochemistry**. Paul E. A. (Ed.), Elsevier, Oxford, Reino Unido, 3. ed., p. 25-49, 2007.

WALSH, D. A.; PAPKE, R. T.; DOOLITTLE, W. F. Archaeal diversity along a soil salinity gradient prone to disturbance. **Environmental Microbiology**, v. 7, n. 10, p. 1655–1666, 2005.

WANG, Y.; HONG, K. Effects of soil factors on microbe distributions in mangrove soil. **Chinese Journal of Tropical Crops**, v. 26, n. 3, p. 109-114, 2005.

WAWER, C. *et al.* A simple and rapid electrophoresis method to detect sequence variation in PCR-amplified DNA fragments. **Nucleic Acids Research**, v. 23, p.4928–4929, 1995.

WENTWORTH, C. K. A scale of grade and class term for clastic sediments. **Journal of Geology**, v. 30, p. 377-392, 1922.

WOESE, C. R. The *Archaea*: Their History and Significance. In Kates, M.; Kushner D. J.;

COLARES, G. B. - Diversidade e Estrutura de Comunidades Microbianas...

Matherson (Eds.) **The Biochemistry of Archaea (Archaeobacteria)**. Elsevier, Amsterdam, p. 7-29, 1993.

WOESE, C. R.; FOX, G. 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.

WOESE, C. R.; KANDLER O.; WHEELIS, M. L. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains *Archaea*, *Bacteria*, and *Eucarya*, **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 87, n. 12, p. 4576-4579, 1990.

WORLD RESOURCES INSTITUTE. **World Resources 1996-7**. WRI, UNEP, UNDP, World Bank, 1996.

WU, R.W. Studies in the microbial flora of the Tansui River Mangrove forest. **Inst. Bot., Acad. Sinia Monograph Ser.**, v. 13, p. 303-317, 1993.

ZHANG, Y. *et al.* Bacterial community structure of mangrove sediments in relation to environmental variables accessed by 16S rRNA gene-denaturing gradient gel electrophoresis fingerprinting. **Scientia Marina**, v. 73, n. 3, p. 487-498, 2009.

ZILLIG, W. Comparative Biochemistry of *Archaea* and *Bacteria*. **Current Opinion in Genetics and Development**, v. 1, p. 544-551, 1991.



# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)