



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Centro de Ciências Matemáticas e da Natureza
Observatório do Valongo



Estudando a capacidade de sobrevivência de
microrganismos em ambientes análogos às superfícies de
exoplanetas potencialmente habitáveis

Paola Ferreira Lima da Cunha

Rio de Janeiro
Dezembro de 2023

Estudando a capacidade de sobrevivência de
microrganismos em ambientes análogos às superfícies de
exoplanetas potencialmente habitáveis

Paola Ferreira Lima da Cunha

Projeto de Conclusão de Curso submetido ao Observatório do Valongo, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito necessário para a obtenção do título de Astrônomo.

Orientador: Luan Ghezzi Ferreira Pinho

Rio de Janeiro
Dezembro de 2023

CIP - Catalogação na Publicação

C972e Cunha, Paola Ferreira Lima da
Estudando a capacidade de sobrevivência de
microrganismos em ambientes análogos às superfícies
de exoplanetas potencialmente habitáveis / Paola
Ferreira Lima da Cunha. -- Rio de Janeiro, 2023.
56 f.

Orientador: Luan Ghezzi Ferreira Pinho.
Trabalho de conclusão de curso (graduação) -
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Observatório
do Valongo, Bacharel em Astronomia, 2023.

1. Estrelas: parâmetros fundamentais. 2.
Estrelas: atividade, planetas. 3. Satélites:
atmosferas, habitabilidade, extremófilos.. I. Pinho,
Luan Ghezzi Ferreira , orient. II. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Miguel Romeu Amorim Neto - CRB-7/6283.



PROJETO FINAL

RELATÓRIO DA COMISSÃO JULGADORA

ALUNA: Paola Ferreira Lima da Cunha (DRE 118023194)

TÍTULO DO TRABALHO: “ESTUDANDO A CAPACIDADE DE SOBREVIVÊNCIA DE MICRORGANISMOS EM AMBIENTES ANÁLOGOS ÀS SUPERFÍCIES DE EXOPLANETAS POTENCIALMENTE HABITÁVEIS”

DATA DA DEFESA: 20 de julho de 2023 às 14:00 h

MEMBROS DA COMISSÃO JULGADORA:

Luan Ghezzi F. Pinho

Prof. Luan Ghezzi – Orientador/Presidente - (OV/UFRJ)

Diana Paula Andrade

Profa. Diana Paula Andrade – Titular - (OV/UFRJ)

Ana Maria Mazzoto de Almeida

Profa. Ana Maria Mazzoto de Almeida – Titular - (IMPG/UFRJ)

Prof. Gustavo Porto de Mello – Suplente - (OV/UFRJ)

CANDIDATA: *Paola Ferreira Lima da Cunha*
Paola Ferreira Lima da Cunha

Rio de Janeiro, 20 de julho de 2023

Carlos Roberto Rabaça
Prof. Carlos Roberto Rabaça
Coord. de Grad. do Curso de Astronomia

Agradecimentos

Gostaria de expressar minha profunda gratidão à minha família, especialmente à minha mãe, por todo o apoio e incentivo que recebi. Também gostaria de agradecer ao meu melhor amigo, Jason, pela amizade duradoura e por estar sempre ao meu lado, oferecendo apoio e encorajamento. Agradeço aos presentes que a universidade me deu: Natan, Yasmin, Raquel, Sharon, Caroline e Débora, pela força e apoio nos momentos mais desafiadores da graduação.

Sou extremamente grata aos colaboradores do meu trabalho, Douglas Galante, Evandro da Silva, Ana Carolina Carvalho, Fabio Rodrigues, Amanda Bendia, Alexandre Rosado e Júnia Schultz, que contribuíram imensamente para o meu aprendizado e meu projeto. Também gostaria de expressar minha gratidão ao grupo de astrobiologia da USP e ao meu grupo de pesquisa SEA, que proporcionaram um ambiente colaborativo e enriquecedor para o desenvolvimento da minha pesquisa e momentos de descontração. Não posso deixar de agradecer profundamente ao meu orientador, cujo apoio e orientação foram fundamentais nos momentos mais desafiadores, principalmente diante de todas as limitações que encontramos no caminho.

Agradeço aos financiamentos que recebi do Sigma Xi, da UFRJ e da FAPERJ, pois sem esse suporte financeiro, minha pesquisa e realizações não teriam sido possíveis. Por fim, quero agradecer aos funcionários do Observatório do Valongo por contribuírem para deixar o ambiente cada vez mais agradável e inclusivo.

“O importante não é você ser a primeira, o importante é você abrir caminhos”

— Conceição Evaristo

Resumo

Estudando a capacidade de sobrevivência de microrganismos em ambientes análogos às superfícies de exoplanetas potencialmente habitáveis

Paola Ferreira Lima da Cunha

Orientador: Luan Ghezzi Ferreira Pinho

Anãs M correspondem a cerca de 75% das estrelas da Via Láctea e também abrigam grande parte dos exoplanetas já descobertos em zonas habitáveis. Entretanto, são desafiadoras no contexto biológico devido aos elevados níveis de atividade estelar, apresentando flares frequentes e intensos com alta intensidade de radiação ultravioleta (UV). Esta radiação é muito importante para os sistemas biológicos, porém uma exposição excessiva pode causar estresse oxidativo nas células e, até mesmo, danos aos ácidos nucleicos. Dessa forma, este trabalho tem como objetivo verificar se a vida conseguiria suportar as condições ambientais de planetas orbitando anãs M. Para o nosso estudo, escolhemos Proxima Centauri b, um exoplaneta descoberto em 2016 pelo método de velocidade radial e confirmado recentemente. Ele tem 1,17 vezes a massa da Terra e encontra-se na zona habitável do sistema, características interessantes para a vida como conhecemos. Para obtermos os resultados, realizamos 3 experimentos de irradiação no ultravioleta com a levedura *Rhodotorula* (D23) coletada em Diamantina, Minas Gerais. O primeiro experimento foi realizado com uma lâmpada tubular que abrange somente a região do UVC. O segundo experimento foi feito com uma lâmpada de espectro contínuo que abrange toda a faixa do UV. O último experimento foi conduzido na Câmara de Simulação Espacial e Planetária (AstroCam) para simular condições hipotéticas na superfície de Proxima b. Simulamos atmosferas com 100% CO₂ e da Terra primitiva (80% CO₂ e 20% N₂), com pressão de 1000 mbar e com a lâmpada de espectro contínuo acoplada à AstroCam. Amostras não irradiadas foram utilizadas como controle nos três experimentos. Amostras irradiadas e não irradiadas foram comparadas para estimar a taxa de sobrevivência dos microrganismos. Os resultados mostraram que as irradiações com a lâmpada de espectro contínuo foram muito mais letais do que a lâmpada tubular. As faixas do UVA, UVB e UVC causam danos diferentes nas células e lidar simultaneamente com esses estresses poderia dificultar a sobrevivência delas. Além disso, observamos que as células conseguiram resistir a uma dose de 60000 J/m² para a lâmpada de UVC. Para os flares típicos que atingem Proxima b (7 W/m²), essa dose seria atingida em cerca de 2,38h. Nossos resultados fornecem dados importantes para orientar estudos de buscas por bioassinaturas em exoplanetas utilizando telescópios em operação ou planejados para o futuro.

palavras chave: *estrelas: parâmetros fundamentais, estrelas: atividade, planetas e satélites: atmosferas, habitabilidade, extremófilos.*

Rio de Janeiro
Dezembro de 2023

Abstract

Studying the survival capability of microorganisms in environments analogous to the surfaces of potentially habitable exoplanets

Paola Ferreira Lima da Cunha

Advisor: Luan Ghezzi Ferreira Pinho

M-dwarfs comprise 75% of the stars in the Milky Way and also host a large fraction of the potentially habitable exoplanets. However, the high levels of stellar activity are a challenge in a biological context. They exhibit frequent and intense flares, exposing their planets to high levels of ultraviolet (UV) radiation. This radiation is crucial for biological systems, but excessive exposure can cause oxidative stress in cells and even damage nucleic acids. Thus, the aim of this work is to investigate whether life could withstand the environmental conditions of planets orbiting M-dwarfs. For our analysis, we choose, Proxima Centauri b, an exoplanet discovered in 2016 by the radial velocity method and recently confirmed. It has 1.17 times the mass of Earth and is located in the habitable zone of the system, which is a favorable characteristic for life as we know it. To obtain the results, we performed 3 UV irradiation experiments with the yeast *Rhodotorula* (D23) collected in Diamantina, Minas Gerais. The first experiment was performed with a tubular lamp that covers only the UVC region. The second experiment was conducted with a continuous spectrum lamp that covers the entire UV range. The last experiment was carried out in the Space and Planetary Simulation Chamber (AstroCam) to simulate hypothetical conditions on the surface of Proxima b. We simulated atmospheres of 100% CO₂ and primitive Earth (80% CO₂ and 20% N₂), with a pressure of 1000 mbar, and the continuous spectrum lamp coupled to AstroCam. Non-irradiated samples were used as controls in all three experiments. We compared irradiated and non-irradiated samples to estimate the survival rate of microorganisms. The results showed that irradiations using the continuous spectrum lamp are more lethal than the tubular lamp. UVA, UVB, and UVC cause different damages to cells, and dealing with these stresses simultaneously could make survival more difficult. Additionally, we observed that cells were able to resist a dose of 60000 J/m² for the UVC lamp. Assuming an average flux value for the flares on Proxima b (7 W/m²), this dose would be reached in about 2.38 hours. Our results provide important data to guide studies searching for biosignatures on exoplanets using current or future telescopes.

keywords: *stars: fundamental parameters, stars: activity, planets and satellites: atmospheres, habitability, Extremophiles*

Rio de Janeiro
March 2023

Lista de Figuras

1.1	Método de detecção de velocidade radial.	17
1.2	Método de detecção de trânsito.	18
1.3	Lista de exoplanetas potencialmente habitáveis	19
1.4	Foto da Lagoa Vermelha, em Araruama e de Diamantina, Minas Gerais	22
2.1	Foto dos componentes do YPD (esquerda) e ágar (direita).	26
2.2	Foto da cultura em meio líquido.	26
2.3	Foto da D23 plaqueada em YPD.	27
2.4	Foto da Autoclave.	27
2.5	Foto da cabine de fluxo laminar	28
2.6	Exemplo de placa de Petri com YPD contaminada.	28
2.7	Foto do shaker.	29
2.8	Curva de crescimento bacteriano.	30
2.9	Foto da centrífuga	31
2.10	Foto da comparação da cultura antes e depois da centrífuga.	31
2.11	Foto do material dessecado.	32
2.12	Imagem da irradiação de amostra com a lâmpada UVC.	34
2.13	Foto do radiômetro.	34
2.14	Exemplo de um procedimento de diluições seriadas.	35
2.15	Foto das Unidades Formadoras de Colônias vistas pelo microscópio.	35
2.16	Foto do esquema do experimento com o Simulador Solar Espacial e a placa com solução salina e a cultura.	37
2.17	Espectro do Simulador Solar Espacial e da lâmpada de UVC.	38
2.18	Foto da AstroCam.	39
2.19	Foto do porta amostras da AstroCam.	39
3.1	Experimento com a D23, em solução salina, irradiada com a lâmpada de UVC	41
3.2	Experimento com a D23 dessecada irradiada com a lâmpada de UVC	42
3.3	Experimento com a D23 em solução salina irradiadas com a lâmpada de espectro contínuo	43
3.4	Experimento com a D23 dessecada irradiada com o Simulador Solar Espacial	45
3.5	Ligações das bases nitrogenadas	45
3.6	Dímeros de pirimidina	46
3.7	Experimento com a AstroCam para a composição gasosa de 100% CO ₂ e Terra Primitiva (80% CO ₂ e 20% N ₂)	48

Lista de Tabelas

1.1	Tipos de Extremófilos	23
3.1	Luminosidade NUV	50

Abreviações

6-4PPs	6-4 Pirimidina-Pirimidona
CPD	cis-syn-Cyclobutane Pyrimidine Dimers
DL_k	Dose Letal para matar k[%] da população
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
ESA	European Space Agency
NASA	National Aeronautics and Space Administration
NAP/Astrobio	Núcleo de Apoio à Pesquisa em Astrobiologia
SBAstrobio	Sociedade Brasileira de Astrobiologia
SEA	Stars Exoplanets e Astrobiology
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
USP	Universidade de São Paulo
UV	Ultravioleta
YPD	Yeast Extract Peptone Dextrose

Constantes Físicas

Luminosidade Solar	L_{\odot}	=	$3,839 \times 10^{26}$	W
Raio Solar	R_{\odot}	=	$6,963 \times 10^{10}$	cm
Massa da Terra	M_{\oplus}	=	$5,973 \times 10^{27}$	g
Massa de Júpiter	M_{J}	=	$1,898 \times 10^{30}$	g
Massa Solar	M_{\odot}	=	$1,988 \times 10^{33}$	g
Unidade Astronômica	UA	=	$1,495978707 \times 10^{13}$	cm

Sumário

1	Introdução	15
1.1	Astrobiologia	15
1.2	Exoplanetas	16
1.3	Anãs M	19
1.4	Extremófilos	21
1.5	Leveduras	22
1.6	Objetivos	24
2	Materiais e Métodos	25
2.1	Preparo da amostra	25
2.1.1	Cultivo do Microrganismo	25
2.1.2	Desidratação do material biológico	30
2.2	Ensaio de resistência de <i>Rhodotorula dairenensis</i> D23	30
2.2.1	Ensaio de resistência à radiação UVC	33
2.2.1.1	Resistência da cepa D23 em condições osmoticamente favoráveis	33
2.2.1.2	Resistência da cepa D23 dessecada	34
2.2.2	Ensaio de resistência em Simulador Solar Espacial	36
2.2.2.1	Resistência da cepa D23 em condições osmoticamente favoráveis	36
2.2.2.2	Resistência da cepa D23 dessecada	36
2.2.3	Ensaio de resistência em AstroCam	36
3	Resultados e discussões	40
3.1	Ensaio de resistência à radiação UVC	40
3.1.1	Resistência da cepa D23 em condições osmoticamente favoráveis	40
3.1.2	Resistência da cepa D23 dessecada	42
3.2	Ensaio de resistência em Simulador Solar Espacial	43
3.2.1	Resistência da cepa D23 em condições osmoticamente favoráveis	43
3.2.2	Resistência da cepa D23 dessecada	43
3.3	Ensaio de resistência em AstroCam	47
3.4	Tempo de resistência aos <i>flares</i>	47
4	Conclusões e Perspectivas Futuras	51
	Referências Bibliográficas	53

Capítulo 1

Introdução

1.1 Astrobiologia

A astrobiologia é o estudo da origem, evolução e futuro da vida no Universo, bem como sua distribuição atual. É uma ciência multidisciplinar que abrange áreas do conhecimento como astronomia, biologia, geologia, química, entre outras. A astrobiologia é uma área considerada atual no mundo. No Brasil, temos uma Sociedade Brasileira de Astrobiologia (SBAstrobio), criada em 2017. Também existem grupos de pesquisa em astrobiologia distribuídos pelo país. Um exemplo é o Núcleo de Apoio à Pesquisa em Astrobiologia (NAP/Astrobio), que obteve aprovação da Universidade de São Paulo (USP) em 2010 (Cerini 2018). Temos também o grupo SEA (*Stars, Exoplanets e Astrobiology*) na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), criado em 2019.

A busca por vida tem sido marcada pela procura por planetas habitáveis e bioassinaturas em suas atmosferas. A bioassinatura é uma substância (átomo ou molécula) que fornece evidências da existência atual ou passada de vida (Des Marais et al. 2003). Ela é detectada através de linhas nos espectros de transmissão dos planetas. Esse método é uma das formas para buscarmos sinais de vida, uma vez que ainda não temos tecnologia para enviar, em escalas de tempo razoáveis, sondas até outros sistemas planetários. Assim, quando estudamos a possível existência de vida em exoplanetas, buscamos por bioassinaturas. Muitos estudos têm focado em melhorar as técnicas de detecção e caracterização de exoplanetas e também em entender o papel das estrelas nas condições ambientais em suas superfícies e como elas afetam a vida.

1.2 Exoplanetas

Exoplanetas são planetas que orbitam estrelas diferentes do Sol e possuem até 13 M_J (massas de Júpiter; esse valor representa o valor mínimo para a fusão termonuclear de deutério nos núcleos de objetos com metalicidade solar)¹. A primeira descoberta de um exoplaneta ao redor de uma estrela tipo solar ocorreu em 1995 por Mayor & Queloz (1995), pelo método de velocidade radial. Esse exoplaneta, chamado 51 Pegasi b, orbita uma estrela semelhante ao Sol ($1,07 M_{\odot}$) e tem uma massa semelhante à de Júpiter ($0,46 M_J$). No entanto, ele orbita a uma distância de apenas 0,052 UA da estrela², o que o classifica como um Júpiter quente devido à sua proximidade e massa. Essa descoberta foi de grande importância, pois na época acreditava-se que planetas desse tipo só poderiam existir na parte mais externa e fria do sistema planetário, essa região é localizada após a linha de gelo. Essa parte externa de um sistema planetário possui temperaturas mais baixas, o que proporciona uma maior quantidade de elementos voláteis condensados para formar planetas. A existência desse exoplaneta desafiou essa concepção, demonstrando que planetas gasosos como Júpiter podem ser encontrados antes da linha de gelo. Esse conhecimento pode sugerir que o nosso Sistema Solar e o planeta Terra não são tão comuns quanto imaginávamos. Dessa forma, é essencial aperfeiçoar as técnicas de detecção e caracterização de exoplanetas a fim de compreender essa questão e também buscar por formas de vida semelhantes a que conhecemos.

Uma das formas de detecção mais utilizadas é o método da velocidade radial, que consiste em observar a estrela enquanto ela orbita em torno do centro de massa do sistema planetário por conta da presença de um ou mais planetas. Isso não seria observado caso a estrela se encontrasse isolada, o centro de massa do sistema coincidiria com o da própria estrela. Esse movimento orbital resulta em um desvio nos comprimentos de onda das linhas no espectro que observamos da estrela, conhecido como efeito Doppler. Conforme pode ser observado na Figura 1.1, ocorre um desvio para o vermelho dos comprimentos de onda das linhas espectrais da estrela à medida que ela se afasta de nós. Da mesma forma, quando a estrela se aproxima de nós, ocorre um deslocamento para comprimentos de onda mais azuis. A variação na velocidade radial da estrela é mais fácil de detectar para planetas mais massudos. Pois, quanto menor a diferença de massa entre

¹Essa é uma definição de 2003 do *Working Group on Extrasolar Planets* da União Astronômica Internacional. Disponível em: <http://www.astro.iag.usp.br/~dinamica/WGEP.html>

²Parâmetros da estrela e do planeta obtidos de: <https://exoplanetarchive.ipac.caltech.edu/overview/51%20Pegasi>

a estrela e o planeta, maior será influência gravitacional do planeta na estrela e maior o deslocamento das linhas espectrais. Também, para planetas mais próximos à estrela, mais variações conseguimos medir (pois têm um período orbital menor) e maiores serão suas amplitudes devido à força gravitacional que diminui com o quadrado da distância (Fischer et al. 2014). A partir desse método, é possível determinar a massa mínima ($m \text{ sen } i$) do planeta. Isso ocorre porque não sabemos o ângulo da órbita do planeta, assim o ângulo é uma variável em aberto, onde $0 \leq \text{sen } i \leq 1$. Com isso, a massa verdadeira m é maior ou igual a $m \text{ sen } i$.

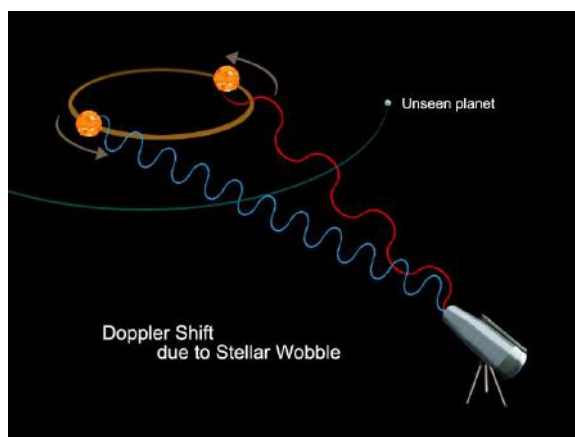


FIGURA 1.1. Método de detecção de velocidade radial. Há um desvio dos comprimentos de onda das linhas no espectro da estrela conforme ela vai se afastando (os comprimentos ficam mais vermelhos) ou se aproximando de nós (comprimentos de onda mais azuis). (Fonte: NASA).

No método de trânsito (Figura 1.2), observamos uma queda no brilho estelar quando o planeta passa em frente da estrela na linha de visada do observador. Esse método permite a medição do raio do planeta. Um dos exemplos mais bem sucedidos da utilização do método de trânsito na busca por exoplanetas foi a missão Kepler da NASA (*National Aeronautics and Space Administration*). O principal objetivo da missão foi buscar por planetas parecidos com a Terra e na zona habitável (Borucki et al. 2010; Koch et al. 2010). Os resultados dessa missão mostraram que os planetas pequenos (com tamanhos entre os da Terra e de Netuno) são mais comuns (Fressin et al. 2013; Dressing et al. 2015 ; Ricker et al. 2015) e apresentam diversos tipos de composições e configurações orbitais (Ricker et al. 2015). Já a missão TESS (*Transiting Exoplanet Survey Satellite*), lançada em 2018, também da NASA, tem como objetivo detectar, em todo o céu, exoplanetas em trânsito orbitando estrelas mais próximas e mais brilhantes, principalmente os menores que Netuno. A proximidade e o brilho das estrelas facilitam a obtenção de dados como a massa, através de medidas complementares de velocidade radial, e composição atmosférica, através de espectros de transmissão (Ricker et al. 2014).

Isso fornece informações essenciais para estudar bioassinaturas ou outras características interessantes num contexto astrobiológico.

Observando por esse método e o anterior conseguimos estimar a massa verdadeira do planeta, pois o trânsito implica num ângulo de $\sim 90^\circ$ para a inclinação do plano orbital do planeta (Fischer et al. 2014). Com as medidas de raio e massa, conseguimos estimar a densidade do planeta. Velocidade radial e trânsito constituem os principais métodos de detecção, juntos foram utilizados para a detecção de 95% dos exoplanetas conhecidos³. Existem outros, como o método da microlente gravitacional, imageamento direto e astrometria, que foram responsáveis pela descoberta de cerca de 5% dos exoplanetas (devido a limitações técnicas e instrumentais), porém não os abordaremos nesse trabalho.

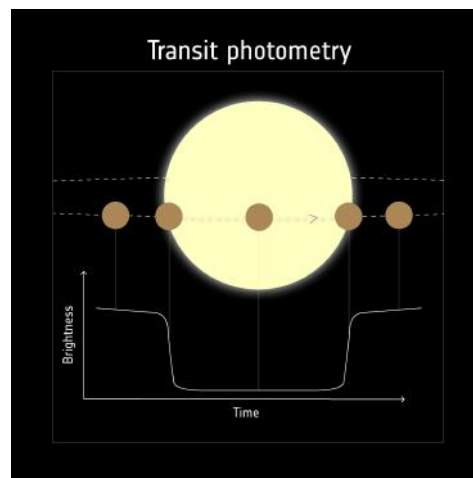


FIGURA 1.2. Método de detecção de trânsito. A figura mostra uma diminuição no brilho da estrela em relação ao tempo no exato momento que o planeta passa em frente à estrela. (Fonte: ESA).

Atualmente, 5470 exoplanetas já foram confirmados⁴. Essas detecções são importantes para compreendermos a distribuição e características dos exoplanetas. Essas informações também são fundamentais para o estudo de exoplanetas com perfis semelhantes aos da Terra, já que este é o único lugar habitado que conhecemos. Na Figura 1.3, é possível ver planetas potencialmente habitáveis que são estudados no campo da astrobiologia devido às suas características. Primeiro, esses exoplanetas provavelmente são rochosos. Segundo, estão na zona habitável de suas estrelas, ou seja, na região ideal de um sistema planetário, que possibilita ao planeta ter água líquida em sua superfície.

³Números disponíveis em: https://exoplanetarchive.ipac.caltech.edu/docs/counts_detail.html

⁴Dado disponível em: <https://exoplanetarchive.ipac.caltech.edu/index.html>. Consultado em 13/07/2023.

O primeiro exoplaneta da lista, Proxima b, orbita a estrela mais próxima do nosso sistema solar, Proxima Centauri que é uma anã M com temperatura efetiva de 2900 K e $0,141 R_{\odot}$ ⁵. Esse exoplaneta foi descoberto por Anglada-Escudé et al. (2016) através do método de velocidade radial. Esse exoplaneta possui massa de $1,17 M_{\oplus}$ (ver também Faria et al. 2022) e período orbital de cerca de 11 dias (Mascareño et al. 2020), características que o tornam muito interessante para a busca por vida. A maior parte dos exoplanetas da lista foram detectados ao redor de anãs M (exceto Kepler-62 f e Kepler-442 b), porque elas são menos massudas e por conta da proximidade com a estrela, o que facilita a detecção de planetas terrestres.

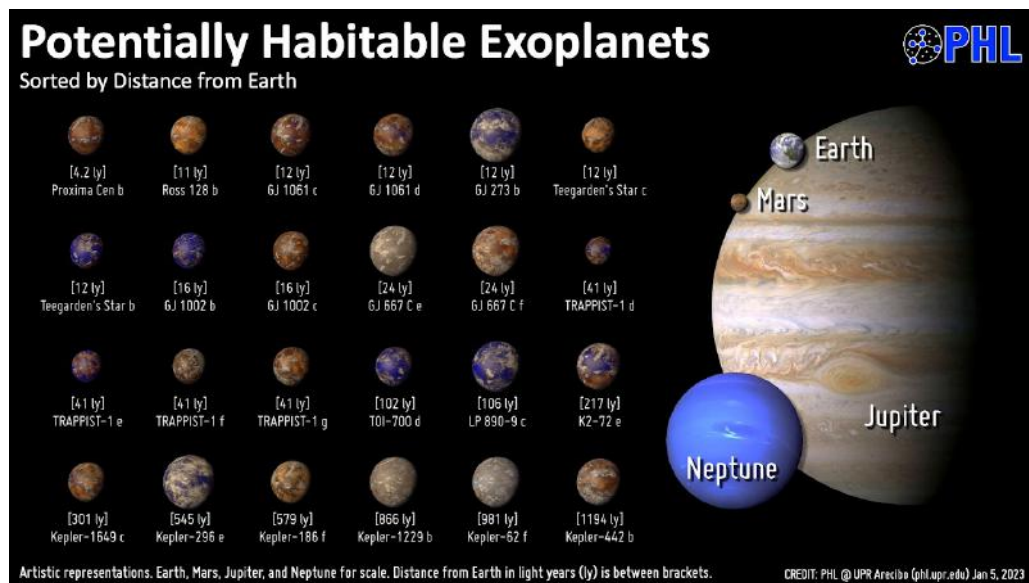


FIGURA 1.3. Lista de exoplanetas potencialmente habitáveis por ordem de distância até a Terra (em ano-luz). Os exoplanetas mostrados têm maior probabilidade de possuir composição rochosa e estão na zona habitável de suas estrelas. Todos os planetas mostrados estão em escala de tamanho para fins de comparação. (Fonte: Planetary Habitability Laboratory/University of Puerto Rico).

1.3 Anãs M

As condições ambientais de exoplanetas (nível de radiação, atmosfera, temperatura, entre outros) dependem, também, da sua estrela hospedeira. Dessa forma, conhecer mais sobre parâmetros estelares é fundamental para busca de vida em exoplanetas. Como abordado na seção anterior, muitos exoplanetas potencialmente habitáveis foram descobertos orbitando anãs M, assim existe uma importância em estudar a sua influência na vida e nos exoplanetas. Anãs M são estrelas com massas variando entre

⁵Parâmetros disponíveis em: <https://exoplanetarchive.ipac.caltech.edu/>

0.08 a $0.6 M_{\odot}$, sendo consideradas estrelas de baixa massa e que estão na fase de fusão de hidrogênio em hélio no núcleo, chamada de sequência principal. Elas são muito abundantes na Galáxia, representando cerca de 70% das estrelas (Shields et al. 2016 e outras referências ali contidas).

As anãs M possuem tempo de vida maior se comparadas a outras estrelas mais massudas, devido ao processo mais lento de fusão de elementos (Cifuentes et al. 2020). Esse longo tempo de vida pode ser benéfico por fornecer mais tempo para o surgimento e evolução da vida. Por exemplo, uma estrela de $0,8 M_{\odot}$ leva bilhões de anos para sair da fase de sequência principal, escala de tempo para a evolução da vida na Terra. Já uma estrela de $40 M_{\odot}$, permanece milhões de anos nessa fase (Maeder 2009), o que pode ser pouco tempo para a vida que conhecemos. Assim, isso torna as anãs M interessantes no campo da astrobiologia. No entanto, essas estrelas também podem passar um maior tempo em fases mais ativas que podem ser desafiadoras para a vida tal qual conhecemos, devido à ocorrência de fenômenos como as fulgurações.

Flares ou fulgurações envolvem a liberação de grande quantidade de energia em um curto período de tempo (podem durar de segundos até algumas horas). Durante esses eventos, ocorre a emissão de radiação em diversos comprimentos de onda, incluindo raios X, ultravioleta (UV) e na região do visível. É um fenômeno que ainda precisa ser mais compreendido, porém é conhecido que sua origem provém de atividade magnética da estrela. Anãs M podem emitir *flares* numa frequência até 1000 vezes maior que o Sol (Valio 2022) e essa frequência pode ser um problema para a manutenção de atmosferas planetárias.

Johnstone et al. (2018, 2019), por exemplo, discutem sobre a dificuldade de planetas semelhantes à Terra em manterem ou formarem uma atmosfera rica em N_2 na zona habitável de um Sol jovem. Esse tipo de atmosfera seria varrida pela atividade estelar. Porém, níveis suficientes de CO_2 poderiam proteger a atmosfera do escape térmico, resfriando-a por emitir no infravermelho. Essa dificuldade poderia se estender a anãs M, uma vez que elas possuem períodos de atividade mais longos do que estrelas do tipo solar, conforme discutido anteriormente.

Também é importante considerar o efeito da radiação ultravioleta (UV) emitida durante os *flares* para a vida. A região do UV pode ser dividida em UVA (400-315 nm), UVB (315-280 nm) e UVC (280-100 nm), sendo essa última totalmente bloqueada pela

atmosfera terrestre. A radiação UV pode ser benéfica, por exemplo, para a produção de vitamina D no corpo humano pela exposição ao UVB (Juzeniene & Moan 2012). Porém, exposição excessiva pode gerar danos ao DNA (conforme será discutido ao longo do trabalho). Nesse contexto, os *flares* também podem ser desafiadores para a vida, principalmente no caso das anãs M, pois a zona habitável é mais próxima da estrela devido a sua baixa luminosidade (Kay et al. 2016), assim os planetas podem receber altos valores de radiação, como UV. Portanto, o estudo dessas fulgurações e seus efeitos sobre os exoplanetas é de grande importância para entender a possibilidade de vida em outros sistemas estelares.

1.4 Extremófilos

Nesse contexto de radiação extrema, é importante buscar organismos capazes de suportar essas condições. Por isso, o estudo de extremófilos tem ganhado destaque. Extremófilos são organismos capazes de sobreviver e se reproduzir em ambientes que podem apresentar condições extremas de temperatura, radiação, pressão, salinidade, pH, entre outras (Rothschild & Mancinelli 2001; Lage et al. 2012). A Tabela 1.1 resume os tipos de extremófilos e os ambientes nos quais podem ser encontrados, incluindo exemplos de espécies. Esses seres têm sido amplamente estudados na literatura, dada sua relevância em diversas áreas, desde a biotecnologia até a astrobiologia. O estudo de extremófilos ajuda a compreender melhor os limites da vida e como ela se adapta a condições extremas, bem como a explorar a habitabilidade em outros planetas e a expandir o conceito de zona de habitabilidade.

Nesse sentido, diversos ambientes são estudados como análogos a ambientes extraterrestres, com o objetivo de encontrar extremófilos. Um exemplo disso é o deserto do Atacama, no Chile. Esse ambiente é hiperárido, com alta exposição à radiação UV, baixa disponibilidade de água e amplitude térmica elevada (Pulschen et al. 2015; Navarro-González et al. 2003). Tais condições tornam esse lugar um excelente análogo a Marte (Navarro-González et al. 2003). Afinal, Marte se caracteriza também pela escassez de água líquida, alta incidência de radiação solar e solo com óxidos de ferro e sais como sulfatos e percloratos (Hecht et al. 2009).

No Brasil, também encontramos ambientes com algumas características análogas a Marte, como a Lagoa Vermelha de Araruama (Figura 1.4, esquerda), caracterizada por sua alta salinidade e pH básico (Juliace 2015). Diamantina, em Minas Gerais (Figura 1.4, direita), está localizada numa região com grandes quantidades de óxido de ferro no solo, alta incidência de radiação solar e áreas pobres em matéria orgânica (Figueiredo et al. 2006). Apesar de serem ambientes relativamente amenos, algumas características são análogas à Marte, tornando-os interessantes para estudos sobre extremófilos.



FIGURA 1.4. Foto da Lagoa Vermelha, em Araruama (esquerda) e de Diamantina, Minas Gerais (direita). (Fonte: Obtida pela autora e pelo grupo, respectivamente).

Existem vários mecanismos que os extremófilos utilizam para sobreviver em ambientes extremos. Por exemplo, os extremófilos resistentes à radiação UV utilizam uma variedade de estratégias, as quais incluem a produção de antioxidantes, que ajudam a neutralizar os radicais livres gerados pela radiação UV, e mecanismos eficientes de reparo do DNA danificado (Rothschild & Mancinelli 2001). Além disso, biofilmes também são apontados como uma forma de proteção. Biofilmes são aglomerados de microrganismos aderidos a uma superfície envolvidos em uma matriz adesiva de polissacarídeos (Madigan et al. 2016). Essa matriz parece formar um escudo, onde apenas uma fração da radiação é transmitida (Yin et al. 2019).

1.5 Leveduras

As leveduras são um tipo de fungo unicelular que representam cerca de 1% de todas as espécies de fungos conhecidas. São organismos eucarióticos, ou seja, têm um núcleo onde o material genético é envolvido por uma membrana. As leveduras são amplamente distribuídas na natureza, podendo ser encontradas em solos, cascas de árvores, ambientes aquáticos, grãos armazenados e até na pele humana.

TABELA 1.1. Tipos de Extremófilos

Ambiente	Nomenclatura	Extremófilo
Temperatura	Hipertermófilos (>80 °C)	<i>Pyrolobus fumarii</i>
	Termófilos (60-80 °C)	<i>Synechococcus lividis</i> , <i>Hydrogenophilus thermoluteolus</i>
	Psicrófilos (<15 °C)	<i>Psychrobacter</i> , <i>Pseudoalteromonas haloplanktis</i>
Radiação	Radio-tolerante, foto-tolerante	<i>Deinococcus radiodurans</i> , <i>Rubrobacter radiotolerance</i> , <i>Hymenobacter xinjiangensis</i>
Salinidade	Halófilos (>10% NaCl)	<i>Dunaliella salina</i> , <i>Natrialba magadii</i> , <i>Haloferax volcanii</i>
pH	Alcalófilos (pH >9)	<i>Natronobacterium</i> , <i>Bacillus firmus</i> OF4, <i>Bacillus alcalophilus</i> , <i>Spirulina spp.</i>
	Acidófilos (pH <5)	<i>Cyanidium caldarium</i> , <i>Ferroplasma sp</i> , <i>Picrophilus torridus</i> .

Fonte: adaptado de Schleper et al. (1995), Rothschild & Mancinelli (2001), Gabani & Singh (2012), Galante et al. (2016) e Coker (2019) pela autora.

As leveduras têm aplicações em diversas áreas, como bioenergia, medicina, indústria alimentícia, entre outras. Entre as diversas aplicações comerciais, podemos citar a produção de fermento biológico, bebidas alcoólicas, rações para animais, álcool combustível, complementos nutricionais e etc.

Uma das espécies de leveduras mais estudadas na literatura é a *Saccharomyces cerevisiae*, que pode ser utilizada para a biorremediação (degradação de substâncias tóxicas por microrganismos) de poluentes (Soares et al. 2011). Essa espécie também tem grande importância econômica na produção de bebidas alcoólicas através da fermentação. Nesse processo, as leveduras oxidam açúcares e o transformam em CO₂ e álcool etílico e subprodutos que variam conforme a espécie da levedura (Corrêa 2020).

Outras leveduras que também podemos destacar são as do gênero *Rhodotorula*. Autores como Ioannou et al. (2019) e Alves (2019) discutem sobre infecções que essas leveduras podem causar em humanos. Outros autores abordam sobre sua importância para a produção comercial de biomoléculas. Por exemplo, Mussagy et al. (2022) cita esse gênero para a produção de biocatalizadores e óleos essenciais por meio de lipídios. Existem autores também que exploram a resistência de *Rhodotorula spp.* à radiação UV relacionando com a produção de pigmentos. Por exemplo, Zhao et al. (2019) e Garcia

et al. (2021) citam uso do UV para incrementar a produção comercial de carotenoides (pigmentos fotossintéticos) para a produção de pigmentos naturais. Além disso, Moliné et al. (2010) também mostraram que carotenoides podem ajudar na resistência ao UVB para essas leveduras. Essa característica de resistência torna *Rhodotorula spp.* interessantes de serem estudadas também num contexto astrobiológico envolvendo extremófilos e, por esta razão, ela será estudada neste trabalho.

1.6 Objetivos

Este trabalho tem como objetivo verificar a sobrevivência de extremófilos em ambientes análogos aos que esperamos encontrar nas superfícies de exoplanetas simulados em laboratórios. Através dos resultados obtidos, pretendemos contribuir para a análise de possíveis bioassinaturas que possam ser encontradas nas atmosferas de exoplanetas. Além disso, buscamos ampliar as discussões sobre a existência de vida fora da Terra e as condições necessárias para sua sobrevivência em ambientes extremos.

Para alcançar esse objetivo, analisamos os efeitos da radiação, bem como a influência da composição gasosa, na sobrevivência de microrganismos resistentes à radiação, em particular, a *Rhodotorula dairenensis*. Comparamos especificamente a resposta dos extremófilos à faixa do UVA, UVB e UVC em uma atmosfera com 100% de CO₂ e da Terra primitiva. Além disso, também realizamos uma avaliação das diferenças entre a irradiação dos extremófilos em solução salina e em um estado dessecado.

Esse estudo contribuirá para uma melhor compreensão da adaptabilidade dos extremófilos brasileiros em ambientes com condições extremas, como alta radiação e diferentes composições atmosféricas. Essas descobertas podem contribuir para a busca por vida em outros planetas e a compreensão da diversidade da vida em ambientes hostis.

No Capítulo 2, descrevemos os materiais utilizados nos experimentos de simulação e a metodologia empregada. No Capítulo 3, apresentamos as curvas de sobrevivência para as leveduras e discutimos os resultados obtidos para cada tipo de experimento. Por fim, no Capítulo 4, apresentamos nossas conclusões e planos futuros para a pesquisa.

Capítulo 2

Materiais e Métodos

Com o objetivo de estudar extremófilos, o grupo Quimiosfera da Universidade de São Paulo (USP), através de financiamento do Serrapilheira, coletou microrganismos em Diamantina, Minas Gerais. Essa região foi escolhida por ter características análogas a Marte (Seção 1.4). Os isolados halófilos e radiotolerantes foram selecionados para explorar seu potencial em ambientes extraterrestres num contexto astrobiológico.

2.1 Preparo da amostra

As leveduras foram coletadas na região da Serra dos Cristais em Diamantina, Minas Gerais - Brasil (latitude: -18.21408, longitude: -43.58771), nos dias 1 e 2 de maio de 2018 pelo grupo. As características da área são: platô e ravina com areia branca, com uma altitude de 1398 m. As leveduras foram identificadas como *Rhodotorula dairenensis* e nomeadas como D23 (Diamantina - ponto de coleta 23) pela colaboradora Ana Carolina Carvalho.

2.1.1 Cultivo do Microrganismo

O meio de cultura usado nos experimentos foi o YPD (*Yeast Extract-Peptone-Dextrose*), um meio rico em nutrientes que geralmente é utilizado no cultivo de leveduras. Ele é composto por extrato de levedura (*yeast extract*), peptona (*peptone*) e dextrose (*dextrose*), que fornecem nutrientes essenciais aos microrganismos (Figura 2.1).

O primeiro ingrediente, o extrato de levedura, é obtido através de leveduras e é uma fonte de vitaminas, aminoácidos e outros fatores de crescimento. Já a peptona é um hidrolisado proteico, contendo peptídeos e aminoácidos. Por fim, a dextrose (glicose) é uma fonte de carboidrato para as células. Pode ser acrescentado ainda, o ágar, um solidificante para meios de cultura proveniente de algas.



FIGURA 2.1. Foto dos componentes do YPD. (Fonte: obtida pela autora).



FIGURA 2.2. Foto da cultura em meio líquido. Na esquerda, temos o tubo de ensaio com a *Rhodotorula dairenensis* e, na direita, apenas YPD líquido. (Fonte: obtida pela autora).

Para os nossos experimentos, utilizamos meio líquido para o crescimento das leveduras antes do experimentos (Figura 2.2). Após os experimentos, utilizamos meio sólido para análises de sobrevivência. O meio foi preparado com 10 g/L de extrato de levedura, 20 g/L de peptona e 20 g/L de dextrose. Para meios sólidos, adicionamos 15 g/L de



FIGURA 2.3. Foto da D23 (*Rhodotorula dairenensis*) plaqueada com diferentes diluições. (Fonte: Obtida pela autora).



FIGURA 2.4. Foto da Autoclave. (Fonte: obtida pela autora).

ágar na mistura líquida de YPD (Figura 2.3). O meio foi esterilizado utilizando uma autoclave (Figura 2.4) durante 15 minutos a uma temperatura de 121°C e posteriormente despejado dentro de placas e tubos de ensaio. Todo o preparo e os experimentos foram conduzidos dentro de uma cabine de fluxo laminar (Figura 2.5) com o objetivo de garantir um ambiente estéril e reduzir o risco de contaminação por outros microrganismos

nos materiais dos experimentos. Apesar disso, observamos essa contaminação em alguns casos e o material foi descartado. Na Figura 2.6, é possível observar a contaminação, onde diferentes microrganismos crescem em uma mesma placa.



FIGURA 2.5. Foto da cabine de fluxo laminar. (Fonte: Obtida pela autora).

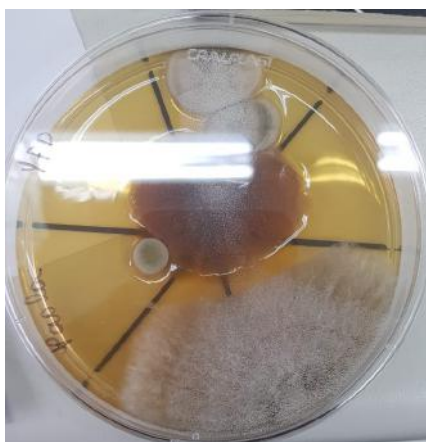


FIGURA 2.6. Exemplo de placa de Petri com YPD contaminada. A cada etapa, observamos se nosso material tinha contaminação por outros microrganismos e descartamos quando isso ocorria. (Fonte: obtida pela autora).

Para obter uma cultura pura da levedura, foi realizado o pré-inóculo, uma etapa essencial na qual os microrganismos foram selecionados antes de serem transferidos para o meio de cultura principal. Nesse procedimento, uma porção do inóculo é depositada em uma placa de Petri com YPD. Em seguida, são incubadas a 30°C até crescerem.

Com o auxílio de uma alça, uma parte da cultura foi retirada do pré-inóculo e depositada em um tubo de ensaio contendo 2 mL de YPD. Para o repique, utilizamos 100 μ L de cultura e 2 mL de YPD, posteriormente, as leveduras cresceram com agitação

de 150 rpm a 30°C no shaker, mostrado na Figura 2.7. As leveduras foram usadas depois de 2 dias de crescimento, pois é o momento que as células atingiram a fase estacionária. Na Figura 2.8, é possível ver as diferentes fases de crescimento de uma população microbiana. A fase *lag* ocorre quando a população é inoculada em um meio e essa não apresenta crescimento. A fase exponencial caracteriza-se pelo crescimento da população¹ ditado pela disponibilidade de recursos e boas condições de crescimento. Já na fase estacionária, a taxa de crescimento da população é zero por conta da escassez de nutrientes ou excesso de produtos de excreção. Nessa fase, as células estão menos suscetíveis aos danos do estresse, pois a taxa de divisão celular é reduzida (ou seja, o número de nascimentos é igual ao de mortes), momento ideal para realizar as irradiações. Por fim, temos a fase de morte, onde a taxa de morte é maior que a taxa de divisão e há uma perda de células viáveis.



FIGURA 2.7. Foto do shaker. (Fonte: obtida pela autora).

¹Nessa situação, população celular duplica-se em intervalos de tempo regulares.

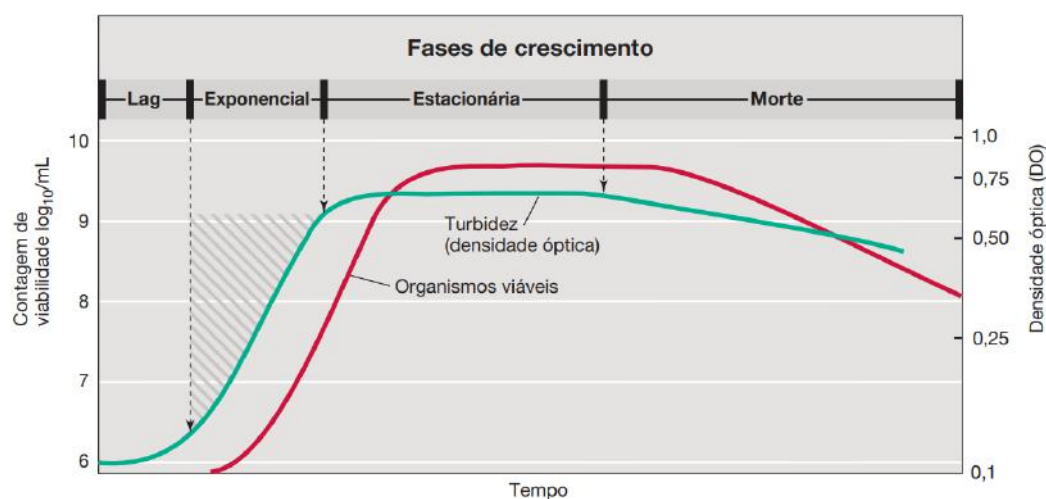


FIGURA 2.8. Curva de crescimento bacteriano. No eixo y, observamos a contagem de células viáveis (esquerda) e a densidade óptica que mede a dispersão da luz pela cultura em meio líquido (direita). No eixo x, pode ser observado o tempo para cada fase de crescimento da levedura. A curva vermelha representa o eixo y da esquerda e a curva verde o da direita. (Fonte: Madigan et al. 2016).

2.1.2 Desidratação do material biológico

As leveduras no meio ambiente também podem ser encontradas na forma dessecada (não estão na presença de água), dessa forma, conduzimos experimentos com a levedura nesse estado para comparar com os experimentos de irradiação em solução salina. Para o material dessecado, utilizamos as leveduras em YPD líquido após 2 dias de crescimento. Lavamos as células com água destilada estéril duas vezes, utilizando uma centrífuga (Figura 2.9) a 5000 rpm durante 3 minutos para separar o pellet (células concentradas) do sobrenadante (parte líquida com o restante não sedimentado) (Figura 2.10, esquerda e direita). Depositamos 3 gotas do pellet (de 10 μ L cada) em retângulos de Teflon (politetrafluoretileno) e esperamos secar. O Teflon tem a vantagem de ser antiaderente, facilitando a retirada das células após os experimentos. Em seguida, colocamos os retângulos em placas de Petri, conforme a Figura 2.11.

2.2 Ensaios de resistência de *Rhodotorula dairenensis* D23

Para testar a resistência das leveduras a um ambiente análogo ao que pode existir na superfície de Proxima b, conduzimos experimentos de irradiação seguindo a metodologia descrita por Pulschen et al. (2015). Nesse artigo, os autores realizaram experimentos de irradiação com leveduras do Atacama usando uma lâmpada UVC e uma lâmpada de



FIGURA 2.9. Foto da centrífuga. (Fonte: obtida pela autora).

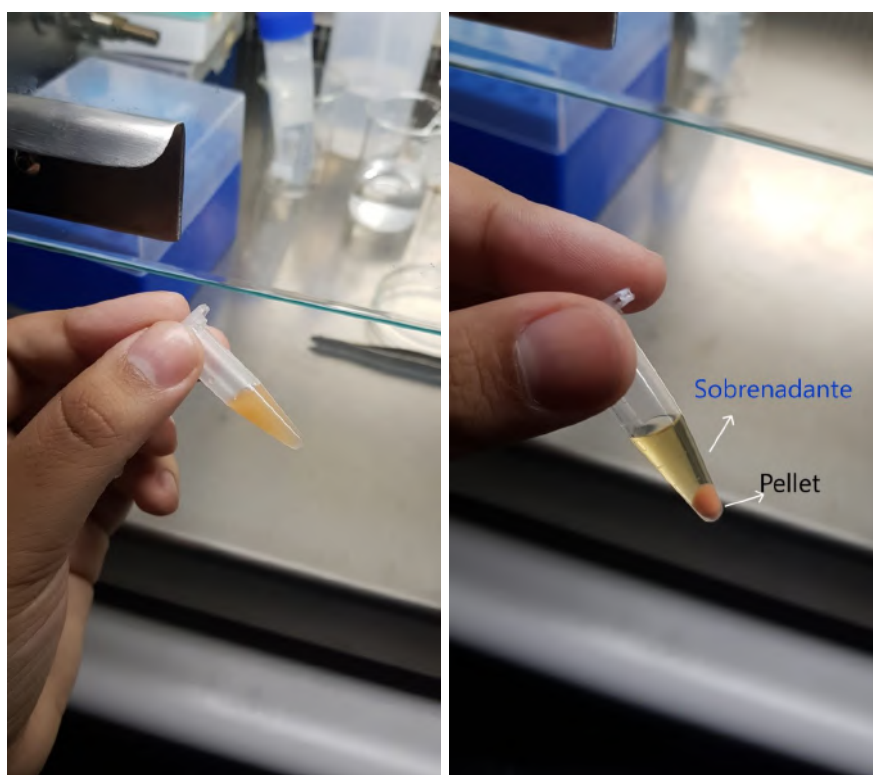


FIGURA 2.10. Foto da comparação da cultura antes e depois da centrifuga. Foto do microtubo com a cultura em YPD após 2 dias de crescimento (esquerda) e foto do mesmo microtubo após a centrifuga (direita). Na direita, é possível ver as células que estão sedimentadas no fundo do microtubo. Utilizamos somente o pellet para o material dessecado, pois é onde temos as células concentradas. O sobrenadante é substituído por água destilada esterilizada (Fonte: Obtida pela autora).

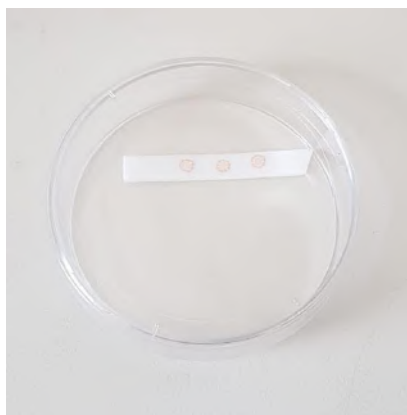


FIGURA 2.11. Foto do material dessecado. Na figura, os três pontos são as leveduras dessecadas. Utilizamos 3 pontos para cada fita de teflon para fazermos uma média depois (Fonte: Obtida pela autora).

UVA e UVB. Conduzimos o experimento em solução salina e com a levedura dessecada. Os microrganismos foram irradiados nessas condições e, posteriormente, diluídos e plaqueados para a contagem de células viáveis, com o objetivo de analisar a sobrevivência das leveduras.

Em nosso trabalho, primeiramente realizamos experimentos com uma lâmpada tubular UVC (254 nm) para avaliar os efeitos desse comprimento de onda nas células. Em seguida, irradiamos outra amostra da D23 usando uma lâmpada que abrange toda a região do UV (Simulador Solar Espacial), tornando-a mais semelhante ao espectro de uma estrela. Todos os experimentos foram conduzidos com a levedura dessecada e em solução salina, com o objetivo de comparar a taxa de sobrevivência das duas formas.

Após estas etapas, foi possível traçar as doses de irradiação que as leveduras conseguem tolerar e, com isso, realizamos experimentos com a levedura dessecada em uma câmara de simulação espacial utilizando gases para simular possíveis perfis atmosféricos para Próxima b. Escolhemos um perfil de atmosfera mais realista para um planeta do tamanho da Terra dentro da zona habitável de uma anã M, conforme discutido na Seção 1.3. Por isso, utilizamos atmosferas ricas em CO₂ como a da Terra Primitiva (80% CO₂ e 20% N₂) e de 100% de CO₂, um caso extremo e semelhante à atmosfera de Marte (95% CO₂ e 5% N₂). Essas duas atmosferas são importantes na astrobiologia, já que a Terra Primitiva corresponde ao período de surgimento da vida e Marte é alvo de missões para a procura de vida.

Esses resultados e a escolha dos experimentos são importantes também para contribuir com estudos da literatura, por exemplo, o de Abrevaya et al. (2020). Nesse

trabalho, foram realizados experimentos de irradiação apenas com a lâmpada UVC e considerando as condições de Proxima b. Com os nossos experimentos, buscamos simular mais parâmetros (utilizar mais faixas do UV e diferentes composições gasosas) e avaliar se isso afetaria a sobrevivência em comparação com experimentos que utilizam apenas a lâmpada UVC.

2.2.1 Ensaios de resistência à radiação UVC

2.2.1.1 Resistência da cepa D23 em condições osmoticamente favoráveis

Após o crescimento de 2 dias da D23 em YPD líquido (tempo para as células atingirem o final da fase estacionária), adicionamos 80 μL de cultura e 7920 μL de solução salina estéril numa placa de Petri. Essa proporção de cultura e solução salina é para garantir que a densidade de células não seja muito alta, atenuando as doses durante a irradiação. Já a solução salina tem o objetivo de manter a pressão osmótica das células durante a irradiação, evitando que absorvam água em excesso. Irradiamos essa única placa usando uma lâmpada UVC (OSRAM JBN-T815W) com valores de 200 J m^{-2} , 400 J m^{-2} , 600 J m^{-2} , 800 J m^{-2} , 1000 J m^{-2} , 1200 J m^{-2} , onde coletamos as leveduras após atingir cada dose. Além disso, também avaliamos uma amostra de controle não irradiada, retirada da placa antes de ser irradiada. O valor dessas doses foi medido durante toda a irradiação usando um radiômetro calibrado e irradiamos numa caixa preta fechada com a lâmpada UVC (Figuras 2.12 e 2.13). Durante toda a irradiação, a placa com a cultura foi agitada usando um agitador orbital com o objetivo de garantir uma irradiação homogênea. Após cada dose, coletamos 200 μL de cultura irradiada.

Depois das irradiações, realizamos a diluição das células numa proporção de 50 μL de cultura para 450 μL de solução salina. Essa diluição é necessária para ter a quantidade correta de colônias nas placas para a contagem. As diluições usadas foram de 10^{-1} (ou seja, 1 parte de cultura e 9 partes de solução) a 10^{-6} (6 diluições decimais sucessivas). Na Figura 2.14, é possível ver um exemplo de diluição. A placa de Petri com YPD foi dividida em 6 partes (cada parte para uma diluição), onde cada uma continha 3 gotas de 10 μL de cada diluição. As leveduras foram incubadas na estufa a 30°C e contamos as unidades formadoras de colônias (UFC) após 1 dia de crescimento usando as diluições com o número apropriado de colônias, como mostrado na Figura 2.15. Esse

tipo de contagem envolve células viáveis, definidas como as que são capazes de gerar células-filhas.



FIGURA 2.12. Imagem da irradiação de amostra com a lâmpada UVC. No esquema, é possível observar a caixa de irradiação UVC, o agitador orbital (abaixo da placa de Petri), a placa contendo solução salina e o medidor do radiômetro (ao lado da placa).(Fonte: obtida pela autora).



FIGURA 2.13. Foto do radiômetro. (Fonte: obtida pela autora).

2.2.1.2 Resistência da cepa D23 dessecada

Como, pela literatura, as células dessecadas suportam mais estresse, esse experimento foi conduzido com doses maiores de radiação. Para esse experimento, utilizamos as doses de 400 J m^{-2} , 800 J m^{-2} , 2000 J m^{-2} , 5000 J m^{-2} , 10000 J m^{-2} , 20000 J m^{-2} , 40000 J m^{-2} , 60000 J m^{-2} , além da amostra de controle não irradiada. Cada placa com 3 gotas de pellet foi irradiada por vez. No final das irradiações, retiramos as células do teflon e transferidos para microtubos com $270 \mu\text{L}$ de solução salina estéril para depois

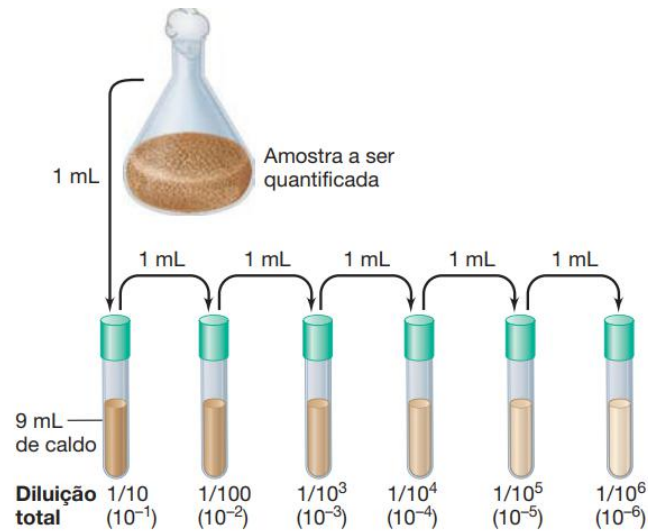


FIGURA 2.14. Procedimento de diluições seriadas. Na imagem, é possível ver diluições sucessivas de uma cultura para, posteriormente, ser plaqueada para a contagem de células. Também é possível ver como cada diluição pode ser representada. (Fonte: Madigan et al. 2016).

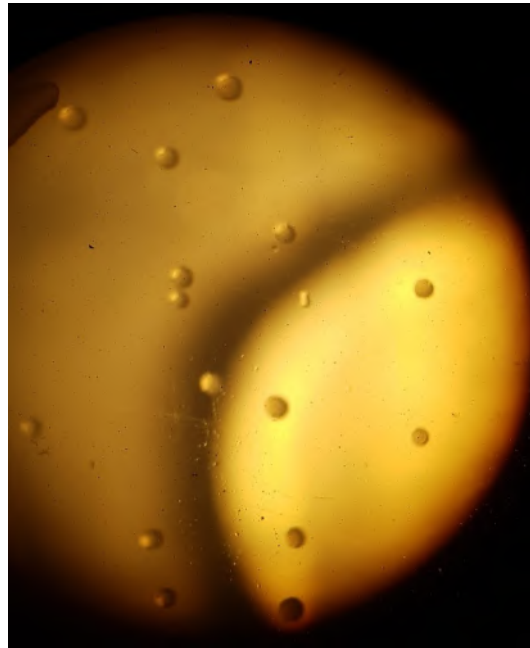


FIGURA 2.15. Foto das Unidades Formadoras de Colônias vistas pelo microscópio estroboscópico. Cada gota no microscópio é uma UFC, que representa as células aptas a crescerem e a se multiplicarem. Obs: foto da ocular do microscópio (Fonte: Obtida pela autora).

realizar o procedimento de diluição seriada e plaqueamento (o mesmo que foi descrito na seção 2.2.1.1).

2.2.2 Ensaios de resistência em Simulador Solar Espacial

2.2.2.1 Resistência da cepa D23 em condições osmoticamente favoráveis

O Simulador Solar Espacial é uma lâmpada de Xenônio de alta-pressão (*Oriel Full Spectrum 1000W*) da marca Newport, mostrado na Figura 2.16. Ele produz um espectro contínuo que abrange a região do UV (painel superior da Figura 2.17), diferente do espectro da lâmpada de UVC que apresenta apenas um pico na região de 254 nm (painel inferior da Figura 2.17). Os outros picos fora da região de 254 nm aparecem devido a limitações instrumentais, porém não afetam os resultados de nossos experimentos. Nos experimentos, utilizamos um difusor com o intuito de promover uma distribuição mais uniforme da irradiância na amostra. Durante os experimentos de irradiação, não notamos variações de temperatura na amostra. Preparamos placas de Petri com 80 μL de cultura e 7920 μL de solução salina e as doses escolhidas foram de 200 J m^{-2} , 400 J m^{-2} , 600 J m^{-2} , 800 J m^{-2} , 1000 J m^{-2} e 1200 J m^{-2} , além de uma amostra de controle não irradiada. Posteriormente, realizamos o tratamento das amostras como descrito anteriormente.

2.2.2.2 Resistência da cepa D23 dessecada

O mesmo procedimento descrito na Seção 2.2.1.2 foi utilizado nesse experimento, porém com as doses de 400 J m^{-2} , 800 J m^{-2} , 2000 J m^{-2} , 5000 J m^{-2} , 10000 J m^{-2} . Esse tipo de irradiação que abrange todo o UV gera mais estresse nas células e elas não suportam doses tão altas como no experimento com UVC.

2.2.3 Ensaios de resistência em AstroCam

A Câmara de Simulação de Ambientes Espaciais e Planetários (AstroCam, Figuras 2.18 e 2.19) foi construída pelo Dr. Douglas Galante e constitui um dos instrumentos de pesquisa do AstroLab no Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP). A câmara tem o objetivo de simular os parâmetros ambientais (temperatura, pressão, composição gasosa, diferentes fontes e fluxos de radiação e vácuo) de cometas, asteroides, meio interestelar e planetas. Isso permite simular ambientes análogos à superfície de exoplanetas.



FIGURA 2.16. Foto do esquema do experimento com o Simulador Solar Espacial (na bancada de mármore) e a placa com solução salina e a cultura (acima do banco). Durante as irradiações, a placa foi mantida aberta para evitar atenuação da radiação. (Fonte: obtida pela autora).

Nesse experimento, utilizamos o Simulador Solar Espacial como fonte de radiação com doses de 400 J m^{-2} e 800 J m^{-2} . Além disso, utilizamos cilindros de gás para encher a câmara, com as misturas de gases de 100% CO_2 e Terra primitiva (80% CO_2 e 20% N_2) até a câmara atingir pressão de 1000 mbar. Conduzimos todos os experimentos com as amostras dessecadas no teflon. Posteriormente, realizamos os mesmos procedimentos de diluição e plaqueamento, como descrito na Seção 2.2.1.1.

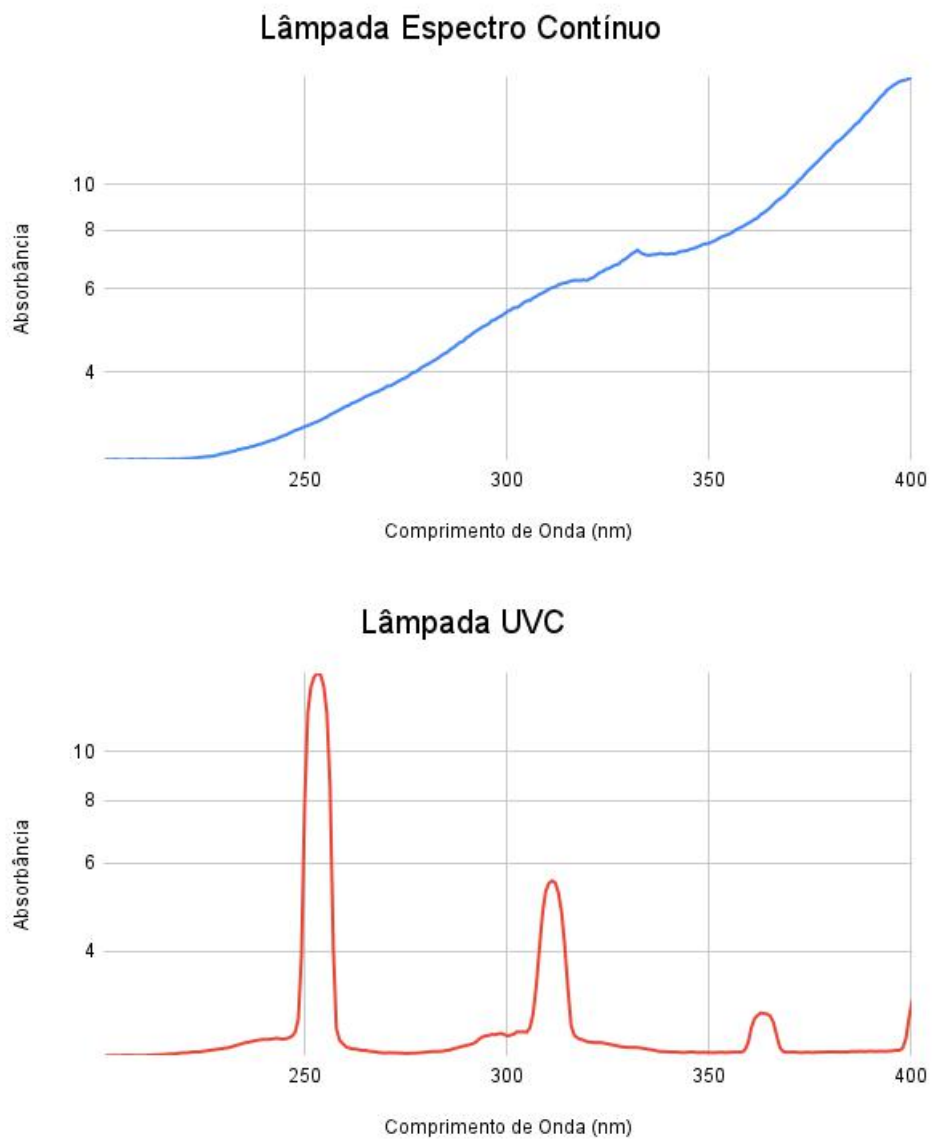


FIGURA 2.17. Espectro do Simulador Solar Espacial (imagem superior) e da lâmpada de UVC (imagem inferior). O espectro da lâmpada de UVC apresenta pequenos picos em outros comprimentos de onda (limitação do equipamento), porém são valores de irradiância irrelevantes para o experimento. Observação: os espectros não foram medidos na mesma distância para as duas lâmpadas. Espectros obtidos através do espectrofotômetro UV-Vis de fibra óptica da marca Ocean Optics. (Fonte: Obtida pelo grupo).

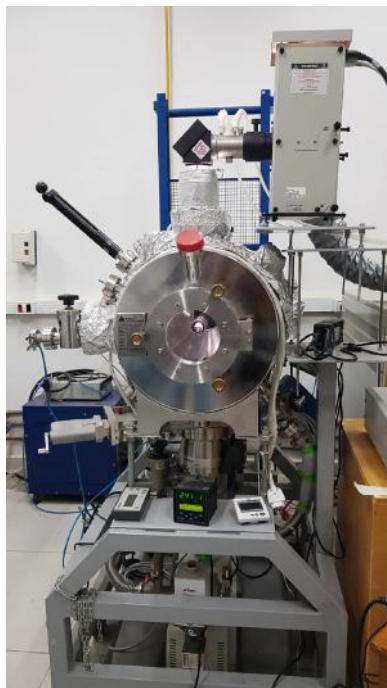


FIGURA 2.18. Foto da AstroCam. (Fonte: Obtida pela autora).

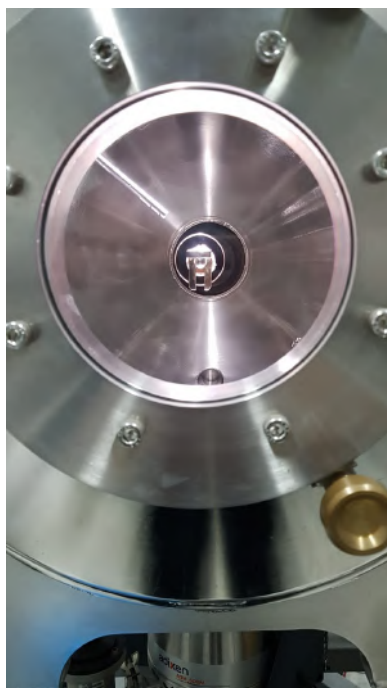


FIGURA 2.19. Foto do porta amostras da AstroCam. (Fonte: obtida pela autora).

Capítulo 3

Resultados e discussões

3.1 Ensaios de resistência à radiação UVC

Os experimentos dessa seção foram conduzidos como uma irradiância de $6,67 \text{ W m}^{-2}$ de UVC. Não detectamos valores significativos para as faixas do UVA e UVB através das medições com o radiômetro.

3.1.1 Resistência da cepa D23 em condições osmoticamente favoráveis

Após os experimentos, foram construídas curvas de sobrevivência para as leveduras (Figura 3.1). No eixo y, apresentamos a razão entre a contagem (N) para a levedura irradiada e a contagem do controle (N_0). No eixo x, temos as diferentes doses de irradiação e o valor zero representa a amostra de controle que não foi irradiada (por isso, $N/N_0 = 1$). Para as barras de erro de cada ponto em cada experimento, usamos a propagação de erro:

$$\left(\frac{\sigma_{N/N_0}}{N/N_0}\right)^2 \approx \left(\frac{\sigma_N}{N}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_{N_0}}{N_0}\right)^2 - 2\frac{\sigma_N\sigma_{N_0}}{NN_0}\rho_{NN_0} \quad (3.1)$$

Como nossas variáveis não se correlacionam, o coeficiente de correlação ρ_{NN_0} é zero. Como o crescimento das células em placas de Petri segue uma distribuição de Poisson, temos que $\sigma_N = \sqrt{N}$ e $\sigma_{N_0} = \sqrt{N_0}$, onde N e N_0 são valores médios, uma vez

que os experimentos foram realizados em triplicata. Os pontos na Figura 3.1 mostram esses valores médios e as barras de erro também correspondem à média das incertezas para os 3 experimentos.

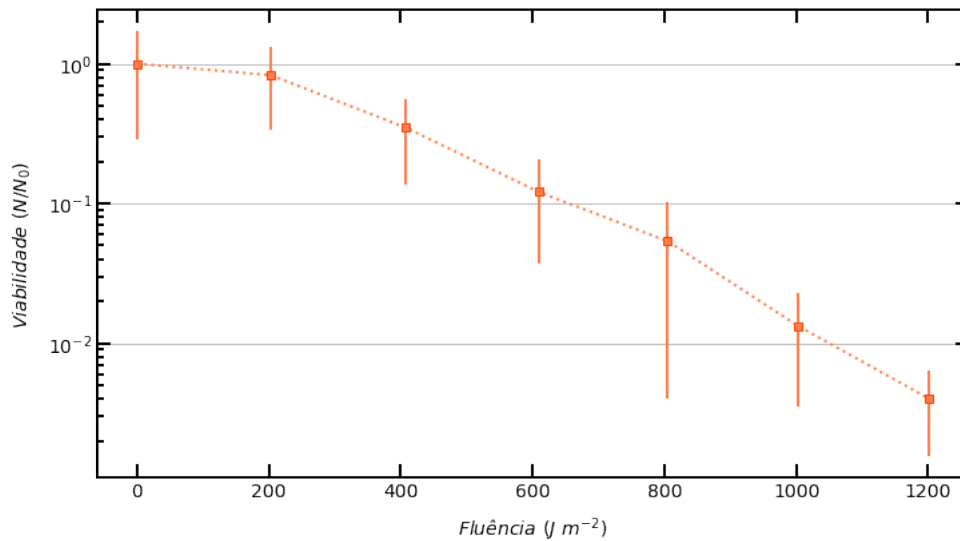


FIGURA 3.1. Experimento com a D23 (*Rhodotorula dairenensis*), em solução salina, irradiada com a lâmpada de UVC. Experimento realizado em triplicata.

Experimentos envolvendo radiação são contextualizados por uma dose aguda letal (DL_k), onde k representa a porcentagem da população original que sobrevive após a irradiação. Normalmente, 10% e 50% são utilizados para estudos toxicológicos. Valores maiores que esses estão sujeitos a maiores erros de estimativas, pois há uma dificuldade em ajustar os dados às equações (Paris Junior 2018 e referências ali contidas). Em nosso trabalho, adotamos o valor de 10% porque ainda permite que a população volte a se reproduzir e crescer, de maneira a garantir sua sobrevivência, mesmo após a incidência de elevadas doses de radiação.

Na Figura 3.1, mostramos a curva de sobrevivência para os experimentos em solução salina com a lâmpada de UVC. Podemos observar que há uma queda de quase uma ordem de grandeza na fluência de $600 J m^{-2}$. Esse valor é próximo de $627 J m^{-2}$ (a DL_{10}) da *Deinococcus radiodurans*¹ (em experimentos em solução salina e irradiada por UVC realizados por Paulino-Lima et al. 2016), considerado um modelo de extremófilo resistente à radiação. Não encontramos um valor na literatura para classificar microrganismos foto-tolerantes. No entanto, é importante ressaltar que a nossa

¹Apesar de ser uma bactéria, optamos por citar o valor como referência, pois é um dos microrganismos mais resistentes à radiação conhecidos.

levedura consegue suportar doses consideráveis de UVC, uma faixa de comprimentos de onda que não atinge a superfície terrestre.

3.1.2 Resistência da cepa D23 dessecada

A Figura 3.2 apresenta o resultado dos experimentos com a lâmpada UVC e a levedura dessecada. Observa-se que a viabilidade da D23 se mantém constante para os primeiros valores de fluência, dentro das barras de erro, havendo uma perda de mais de 70% em relação à amostra de controle no ponto em 20000 J m^{-2} . Já no ponto em 40000 J m^{-2} , temos uma queda de mais de 2 ordens de grandeza na viabilidade em relação à amostra de controle. É importante destacar que essa diferença em relação aos resultados da Seção 3.1.1 pode ser explicada pelo fato de que, nessa condição dessecada, a levedura está com sua atividade metabólica reduzida, o que lhe confere uma maior capacidade de tolerar níveis mais elevados de estresse. Nesse estado, não ocorrem processos como replicação do DNA e síntese de proteínas, assim danos da radiação UV são reduzidos. No meio ambiente, as leveduras geralmente se encontram em estado de inatividade, reproduzindo-se apenas quando encontram água e algum carboidrato disponível.

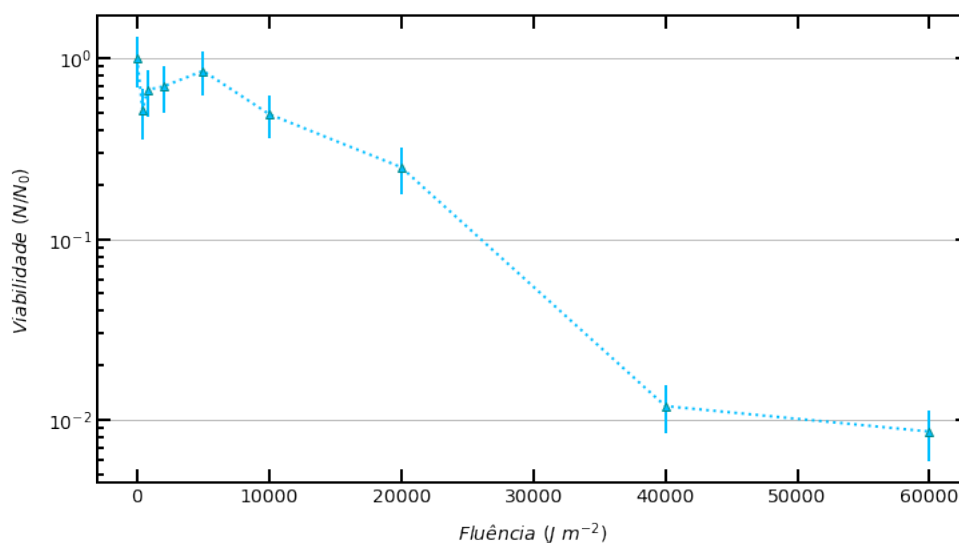


FIGURA 3.2. Experimento com a D23 (*Rhodotorula dairenensis*) dessecada irradiada com a lâmpada de UVC. Experimento realizado em triplicata.

3.2 Ensaios de resistência em Simulador Solar Espacial

3.2.1 Resistência da cepa D23 em condições osmoticamente favoráveis

Para os experimentos com solução salina, a irradiância da lâmpada foi de $0,86 \text{ W m}^{-2}$ para o UVC, $4,44 \text{ W m}^{-2}$ para o UVB e $3,50 \text{ W m}^{-2}$ para o UVA. Mostramos os resultados obtidos no experimento com a lâmpada de espectro contínuo em solução salina na Figura 3.3. Em 200 J m^{-2} , as células apresentam perda de 1 ordem de grandeza de viabilidade. Nesse experimento, observamos a contagem das colônias até 400 J m^{-2} , o que difere da Figura 3.1, onde há contagem para doses maiores, pois não restaram leveduras sobreviventes para doses maiores.

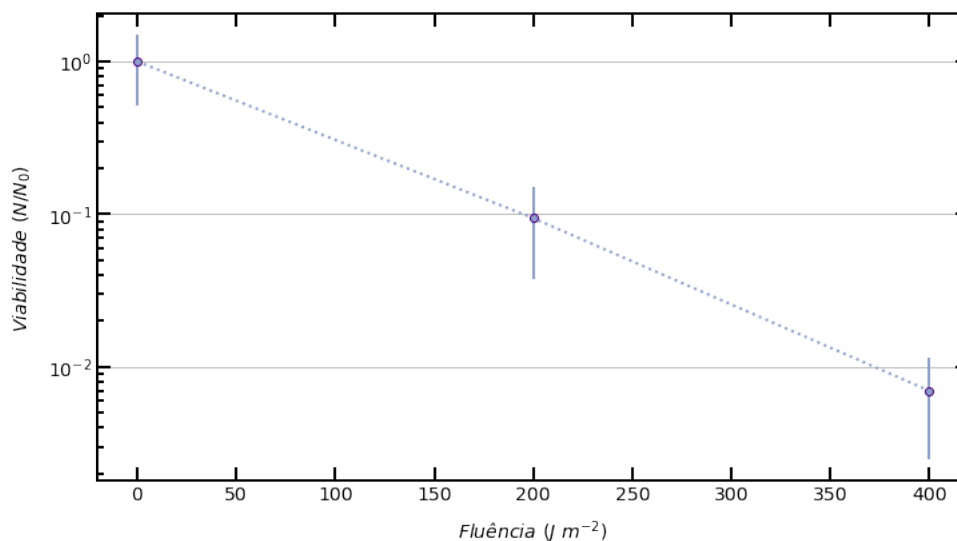


FIGURA 3.3. Experimento com a D23 (*Rhodotorula dairenensis*) em solução salina irradiadas com o Simulador Solar Espacial. Experimento realizado em triplicata.

3.2.2 Resistência da cepa D23 dessecada

Nos experimentos com a levedura dessecada, medimos $4,73 \text{ W m}^{-2}$ para o UVC, $35,60 \text{ W m}^{-2}$ para o UVB e $27,42 \text{ W m}^{-2}$ para o UVA. A Figura 3.4 apresenta a curva de sobrevivência do experimento com a D23 dessecada. Observamos uma queda de mais de uma ordem de grandeza para a dose de 5000 J m^{-2} . O ponto em 800 J m^{-2} mostra uma viabilidade maior do que o controle, o que pode ser atribuído a possíveis erros experimentais, como contaminação durante a diluição (entre diluições de diferentes

concentrações) ou plaqueamento. No entanto, esse ponto está dentro das barras de erro dos pontos anteriores, e a viabilidade parece ser constante para os primeiros pontos. Para esses experimentos, não notamos nenhum material contaminado por microrganismos de outras espécies (um exemplo de material contaminado pode ser visto na Figura 2.6). Também descartamos a possibilidade de hormese (crescimento demasiado da população por situações de estresse), uma vez que esse padrão de sobrevivência maior que o controle foi apresentado em apenas um dos experimentos da triplicata².

Assim como os resultados da Seção 3.1.2, as células dessecadas mostraram maior resistência à radiação do que as células em solução salina também para o experimento com o Simulador Solar Espacial. A D23 não sobreviveu para valores maiores que 400 J m^{-2} para o experimento em solução salina. O experimento dessecado para esse mesmo valor tem $N/N_0 = 1$, dentro das barras de erro, uma grande diferença na sobrevivência. As mesmas discussões da seção anterior podem ser aplicadas para esses resultados. Constatamos, também, que as irradiações com o Simulador Solar Espacial foram mais letais em comparação com a lâmpada de UVC. O UVA, UVB e UVC afetam as células de maneiras diferentes e lidar com o estresse das três faixas simultaneamente pode ser um fator crítico para a sobrevivência celular.

A faixa do UV gera fotoprodutos como dímeros de pirimidina. Os dímeros de pirimidina ocorrem quando pirimidinas (que compõem o DNA) adjacentes absorvem o UV e se ligam entre si (e não as suas respectivas purinas). As bases nitrogenadas do DNA são as pirimidinas (adenina e guanina) e purinas (citosina e timina). Na Figura 3.5, podemos ver os pareamentos padrões dessas bases. Os dímeros de pirimidina mais comuns são pirimidina ciclobutano ('Cis-Syn-ciclobutano' - CPDs) e 6-4 pirimidina-pirimidona (6-4PPs). Os CPDs são formados por ligações covalentes entre pirimidinas da mesma cadeia de DNA, formando um anel de ciclobutano entre as pirimidinas nos carbonos nas posições 5 e 6 do anel (painel superior da Figura 3.6). Já nos 6-4PPs, não há a formação de anel, e sim uma ligação covalente entre pirimidinas adjacentes nas posições C4 e C6 (painel inferior da Figura 3.6) (Neves 2014). Essas distorções no DNA podem interferir na replicação e levar a mutações genéticas.

A radiação UV também pode levar à formação de espécies reativas de oxigênio (EROs). As EROs são moléculas em que os elétrons não estão emparelhados e são

²Os nossos valores de N/N_0 para as triplicatas do ponto de 800 J m^{-2} foram: 0,39; 0,60 e 2,8. O último valor aumenta a média da triplicata para uma sobrevivência maior que o controle.

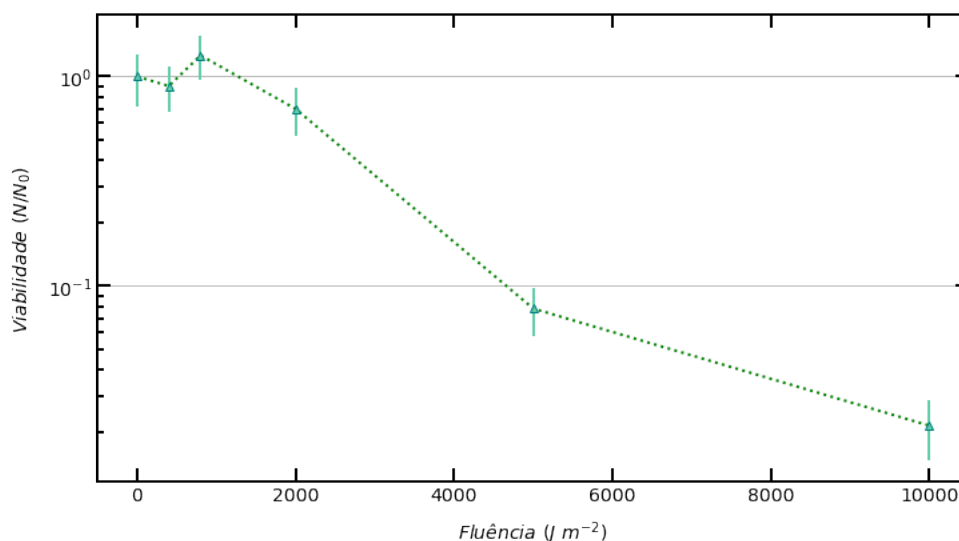


FIGURA 3.4. Experimento com a D23 (*Rhodotorula dairenensis*) dessecada irradiada com o Simulador Solar Espacial. Experimento realizado em triplicata.

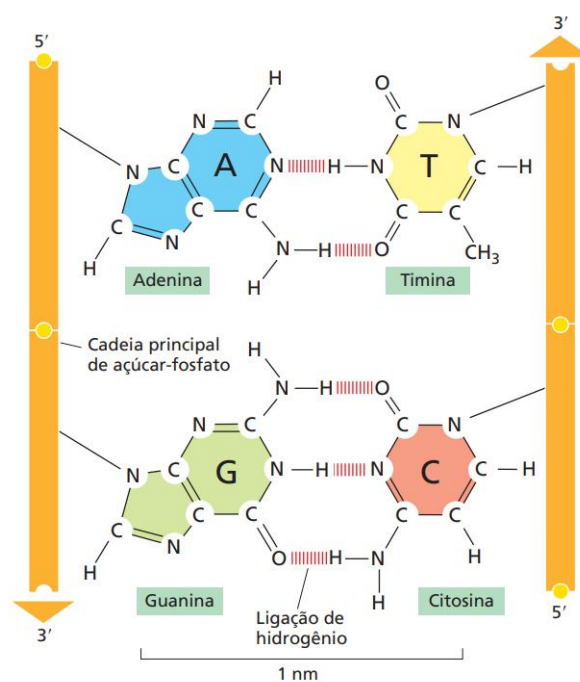


FIGURA 3.5. Ligações das bases nitrogenadas. Podemos observar as ligações entre as bases A-T e G-C, porque é como os átomos conseguem fazer as ligações de hidrogênio. As bases também estão ligadas na estrutura principal, cadeia de açúcar fosfato, que também é uma unidade fundamental do DNA (Fonte: Alberts et al. 2017).

altamente reativas e instáveis. A radiação UV é absorvida por cromóforos³ celulares, que, quando energizados, podem interagir com moléculas de oxigênio, levando à formação de EROs. Essas podem gerar danos a componentes importantes da célula como DNA,

³São moléculas capazes de absorver luz.

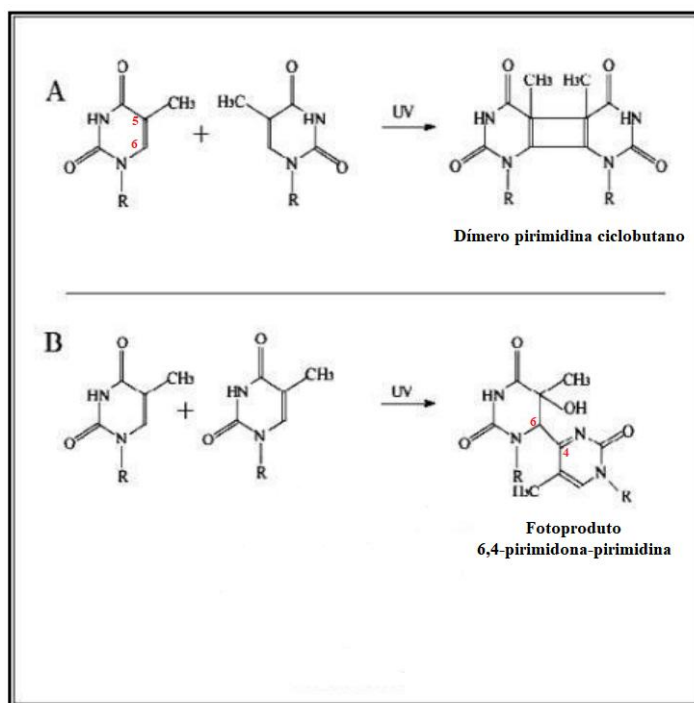


FIGURA 3.6. Imagem superior: dímero pirimidina ciclobutano. Imagem inferior: 6-4 pirimidina-pirimidona. (Fonte: adaptado de Neves 2014).

RNA, proteína e lipídios. As células produzem antioxidantes para neutralizar os efeitos dos EROs, porém, quando há um desequilíbrio, temos o estresse oxidativo. Algumas enzimas desintoxicantes que reduzem os níveis das EROs são: superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase (D'Orazio et al. 2013).

Nesse contexto, podemos pontuar os danos de cada faixa. A radiação UVC é mais eficiente na formação de fotoprodutos (dímeros de pirimidina) do que a UVB, enquanto a radiação UVB é mais eficiente na geração de EROs. Além disso, a UVA também pode gerar fotoprodutos, mas seu principal dano é a geração de EROs (Pulschen et al. 2015 e referências ali mencionadas). Dessa forma, esses resultados são interessantes, pois a lâmpada UV abrange uma faixa maior do espectro, proporcionando um ambiente mais realista em termos da radiação recebida por um planeta de sua estrela em comparação com a lâmpada de UVC.

Além disso, nossa levedura apresenta uma coloração alaranjada, o que pode indicar a presença de carotenoides. Conforme mencionado na Seção 1.5, leveduras desse gênero são conhecidas por possuírem esses pigmentos. Os carotenoides são amplamente estudados na literatura devido às suas propriedades antioxidantes, que desempenham um papel crucial na neutralização dos EROs gerados pela radiação UV e poderiam contribuir para

a resistência da D23 à radiação. Portanto, é importante uma análise mais aprofundada para confirmar a presença de carotenoides, utilizando técnicas como espectroscopia Raman, uma abordagem não destrutiva que permite a identificação de moléculas com base em seus modos vibracionais. Os carotenoides podem ser considerados bioassinaturas de interesse, uma vez que também são encontrados em cianobactérias, um dos grupos de organismos mais antigos e abundantes na Terra (Cerini 2018).

3.3 Ensaios de resistência em AstroCam

Para esses experimentos, a irradiância da lâmpada foi de $1,10 \text{ W m}^{-2}$ para o UVC, $5,29 \text{ W m}^{-2}$ para o UVB e $4,32 \text{ W m}^{-2}$ para o UVA. A Figura 3.7 mostra o resultado dos experimentos com a AstroCam para a composição gasosa com 100% CO_2 e Terra primitiva (80% CO_2 e 20% N_2). Os pontos do experimento com 100% CO_2 mostram um perfil semelhante ao experimento com a D23 dessecada e o Simulador Solar Espacial (Figura 3.4), porém as barras de erro são muito grandes. O experimento da Terra Primitiva não segue o mesmo comportamento, já que o ponto em 400 J m^{-2} corresponde a uma queda de mais de uma ordem de grandeza na taxa de sobrevivência. Para análises mais conclusivas, é necessário refazermos os experimentos para a atmosfera com 100% CO_2 e testarmos doses mais elevadas de radiação. É importante ressaltar que os experimentos com a AstroCam têm como objetivo avaliar os efeitos da radiação e da composição gasosa (simultaneamente) nas células. Com o equipamento, não buscamos estudar os efeitos da composição gasosa na atenuação da radiação.

3.4 Tempo de resistência aos *flares*

Para comparar o resultado dos nossos experimentos com o ambiente de Proxima b, precisamos calcular a irradiância UV na superfície desse exoplaneta. Existe uma dificuldade de encontrar espectros de anãs M nessa faixa do espectro. Dessa forma, para obter nossos valores de fluxos de *flares* na região do UV, usamos as análises de Welsh et al. (2007). Nesse trabalho, foram analisados 33 *flares* de anãs M na região do ultravioleta próximo (*near-ultraviolet* - NUV [175-275 nm]). O autor usou os dados do GALEX (*Galactic Evolution Explorer*), um telescópio espacial da NASA destinado a observar objetos na região do UV. Nossas análises serão conduzidas com esses valores,

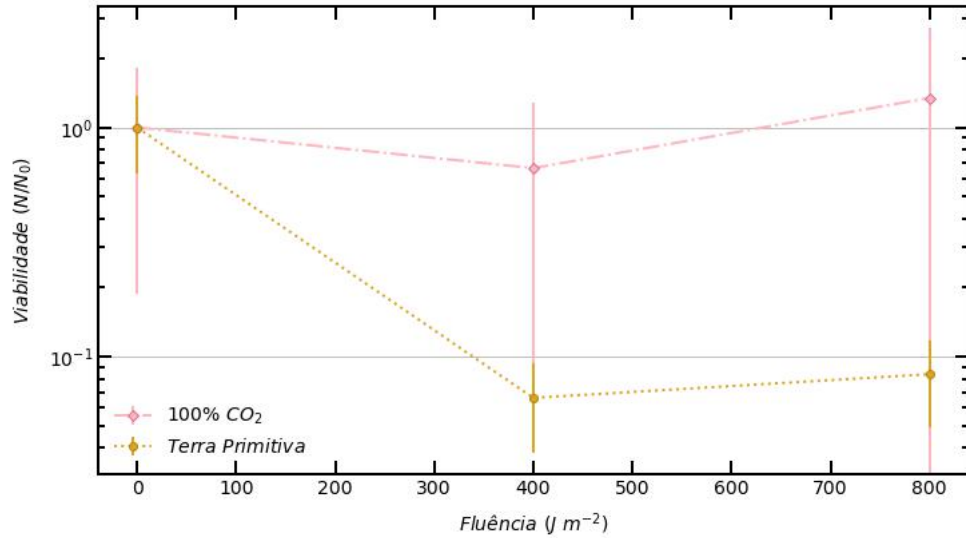


FIGURA 3.7. Experimento com a AstroCam para a composição gasosa de 100% CO₂ e Terra Primitiva (80% CO₂ e 20% N₂). Experimento realizado em triplicata.

uma vez que abrangem a região do UVC, por conta da disponibilidade escassa de dados e por ser a faixa mais energética. Esse trabalho e esse tipo de cálculo também foram utilizados por Abrevaya et al. (2020) em suas análises. Com esses valores, observaram que extremófilos halófilos conseguem suportar um único evento de *flare* UVC. As colunas (1)-(4) da Tabela 3.1 foram retiradas desse artigo. Calculamos a coluna (5) a partir das colunas (3) e (4) e do valor da luminosidade solar ($L_{\odot} = 3,839 \times 10^{26}$ W; Carroll & Ostlie 2007), conforme a equação:

$$\log\left(\frac{L_{NUV flare}}{L_{\odot}}\right) = \log\left(\frac{L_{bol}}{L_{\odot}}\right) + \log\left(\frac{L_{NUV flare}}{L_{bol}}\right) \quad (3.2)$$

O valor médio de luminosidade é obtido a partir da média dos valores na coluna (5). Depois, ele é usado para calcular o fluxo NUV que atinge Proxima b:

$$F = \frac{L}{4\pi d^2} \quad (3.3)$$

Onde F é o fluxo, L é a luminosidade média NUV dos *flares* e d é a distância da estrela ao planeta, 0,0485 UA⁴ para Proxima b. Dessa forma, obtemos 7 W m⁻² para a região do NUV, que também abrange a região do UVC. Com esse valor, calculamos o tempo estimado que os *flares* deveriam durar para atingirmos as maiores fluências

⁴Disponível em <https://exoplanetarchive.ipac.caltech.edu/>.

para as quais obtemos contagem nos experimentos com a levedura dessecada usando a seguinte equação:

$$tempo[s] = \frac{Fluência[J\ m^{-2}]}{Fluxo_{flaresUVC}[W\ m^{-2}]} \quad (3.4)$$

Assim, obtemos que as células conseguiram resistir a um *flare* típico de 2,38h para uma dose de $60000\ J\ m^{-2}$, com base nos resultados do experimento UVC. Para o experimento com a lâmpada UV, a maior dose com contagem foi $10000\ J\ m^{-2}$, isso corresponde a um *flare* de 24 minutos de duração. A população resistente a esse único evento de *flare* poderia sobreviver e se multiplicar. Entretanto, considerando grandes escalas de tempo e uma alta frequência de *flares*, algo esperado para anãs M, isso pode representar um desafio. Nesse sentido, seria importante contar com uma proteção na superfície, como uma cobertura de solo, que proporcionaria uma camada adicional de defesa contra a radiação.

TABELA 3.1. Luminosidade NUV

SDSS ID	Tipo Espectral	$\log L_{bol}/L_{\odot}$	$\log L_{NUV flare}/L_{bol}$	$L_{NUV flare}$
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
J023955.52-072855.4...	M0/M1	-1.27	-2,6	5,2E+22
J034358.01-053526.5...	M3/M4	-1,99	-4,0	3,9E+20
J085939.62+565459.5...	M1/M2	-1,54	-3,3	5,5E+21
J090350.46+522125...	M5/M6	-2,81	-4,2	3,7E+19
J094659.05+613146.2...	M5/M6	-2,81	-4,2	3,7E+19
J095758.82+020503.5...	M3/M4	-1,99	-4,6	9,8E+19
J100141.6+020758.7...	M2/M3	-1,72	-4,3*	3,7E+20
J100141.6+020758.7...	M2/M3	-1,72	-4,4*	2,9E+20
J100209.55+020726.1...	M3/M4	-1,99	-2,8	6,2E+21
J100255.43+021159.6...	M2/M3	-1,72	-3,1	5,8E+21
J101152.3+614454.1...	M3/M4	-1,99	-3,8	6,2E+20
J101326.83+342309.8...	M3/M4	-1,99	-3,0	3,9E+21
J102253.37+611917.5...	M3/M4	-1,99	-4,1	3,1E+20
J104811.85+644328.2...	M3/M4	-1,99	-4,3	2,0E+20
J114939.38+003510.2...	M2/M3	-1,72	-5,2	4,6E+19
J115756.68-004004.6...	M3/M4	-1,99	-5,5	1,2E+19
J123512.63+621745.1...	M3/M4	-1,99	-2,5	1,2E+22
J124004.82+622309.1...	M4/M5	-2,41	-2,8	2,4E+21
J131843.62+661914...	M3/M4	-1,99	-2,4	1,6E+22
J132537.62-024540.9...	M4/M5	-2,41	-4,1	1,2E+20
J142010.42+522157.8...	M4/M5	-2,41	-4,9	1,9E+19
J142551.18+042948.7...	M4/M5	-2,41	-3,7	3,0E+20
J144738.47+035312.1...	M5/M6	-2,81	-4,6	1,5E+19
J144815.37+032223.3...	M7/M8	-3,40	-5,7	3,0E+17
J164741.89+345732.9...	M2/M3	-1,72	-4,3	3,7E+20
J171316.24+601121.1...	M4/M5	-2,41	-3,6	3,8E+20
J172113.52+580609.8...	M3/M4	-1,99	-3,5	1,2E+21
J204631.88+002452.5...	M4/M5	-2,41	-2,7	3,0E+21
J220217.08-072243.3...	M0/M1	-1,27	-2,8	3,3E+22
J224145.63-010539.2...	M5/M6	-2,81	-4,3	3,0E+19
J225216.32-084240.5...	M3/M4	-1,99	-3,5	1,2E+21
J230913.89+001852.2...	M4/M5	-2,41	-3,6	3,8E+20
J232301.12-000118...	M3/M4	-1,99	-2,9	4,9E+21

(1) Identificação da estrela; (2) Tipo Espectral da estrela; (3) Log da Luminosidade Bolométrica (L_{bol}) pela luminosidade solar (L_{\odot}); (4) Log da Luminosidade NUV dos *flares* ($L_{NUV flare}$) por L_{bol} ; (5) $L_{NUV flare}$ (em W). *Dois *flares* observados para a mesma estrela. (Fonte: adaptado de Welsh et al. 2007 pela autora).

Capítulo 4

Conclusões e Perspectivas Futuras

Neste trabalho, conduzimos experimentos de irradiação em laboratório utilizando a levedura *Rhodotorula* D23, isolada em Diamantina, Minas Gerais. Observamos que essas leveduras são tolerantes a altas doses de radiação UV, inclusive na faixa do UVC, que não atinge a superfície terrestre. Esses resultados demonstram o potencial da Serra dos Cristais como um ambiente para estudos envolvendo extremófilos. Assim como Diamantina, outros lugares poderiam ser explorados com esse objetivo em estudos futuros.

Também analisamos a diferença na sobrevivência das células utilizando diferentes fontes de radiação. Observamos uma menor perda de viabilidade com a lâmpada UVC em comparação com a lâmpada UV, que abrange as regiões do UVA, UVB e UVC, pois lidar com estresse de todas as faixas simultaneamente pode dificultar a sobrevivência. Avaliamos, ainda, os efeitos de diferentes composições gasosas na sobrevivência das leveduras, porém não chegamos a uma conclusão. Por fim, destacamos a diferença nas condições de irradiação ao comparar os experimentos com a levedura dessecada e em solução salina, sendo que a D23 dessecada foi capaz de suportar doses muito maiores, como esperado para essa condição.

Nossos experimentos também tiveram como objetivo simular as condições nas superfícies de exoplanetas. Escolhemos Proxima b para as nossas análises, um exoplaneta de interesse astrobiológico devido à sua localização na zona habitável e massa de $1,17 M_{\oplus}$. Testamos dois perfis interessantes para composição atmosférica: Terra Primitiva (80% CO₂ e 20% N₂) e 100% CO₂ que é semelhante a Marte, um planeta alvo de estudos

na astrobiologia. Além disso, estimamos empiricamente uma irradiância de 7 W m^{-2} para os *flares* em sua superfície.

Esses experimentos demonstraram que a levedura *Rhodotorula dairenensis* é capaz de resistir a um único evento de *flare* por alguns minutos (para toda a faixa do UV), com células remanescentes que podem persistir e se multiplicar. No entanto, eventos frequentes de *flares* podem representar um desafio, sendo necessárias outras formas de sobrevivência, como a proteção por um substrato. Assim, seria interessante realizar análises nesse sentido em futuros estudos.

Para o futuro, planejamos realizar análises espectroscópicas da *Rhodotorula dairenensis* para verificar a presença de carotenoides. Pretendemos, também, selecionar outros exoplanetas para realizar análises semelhantes, bem como investigar outros microrganismos resistentes à radiação.

Referências Bibliográficas

- Abrevaya, X. C., Leitzinger, M., Opezzo, O. J., et al. 2020, Monthly Notices of the Royal Astronomical Society: Letters, 494, L69, doi: 10.1093/mnrasl/slaa037
- Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., et al. 2017, Fundamentos da Biologia Celular - 4.ed. (Artmed Editora). https://books.google.com.br/books?id=B_wnDwAAQBAJ
- Alves, K. P. 2019
- Anglada-Escudé, G., Amado, P. J., Barnes, J., et al. 2016, Nature, 536, 437, doi: 10.1038/nature19106
- Borucki, W. J., Koch, D., Basri, G., et al. 2010, Science, 327, 977, doi: 10.1126/science.1185402
- Carroll, B. W., & Ostlie, D. A. 2007, An Introduction to Modern Astrophysics, 2nd edn., ed. S. F. P. Addison-Wesley
- Cerini, M, F. 2018, doi: 10.11606/D.76.2018.tde-24092018-143528
- Cifuentes, Caballero, J. A., Cortés-Contreras, M., et al. 2020, A&A, 642, A115, doi: 10.1051/0004-6361/202038295
- Coker, J. 2019, F1000Research, 8, doi: 10.12688/f1000research.20765.1
- Corrêa, E. d. A. 2020, South American Journal of Basic Education, Technical and Technological, 6, 237–243. <https://teste-periodicos.ufac.br/index.php/SAJEBTT/article/view/2669>
- Des Marais, D. J., Allamandola, L. J., Benner, S. A., et al. 2003, Astrobiology, 3, 219, doi: 10.1089/153110703769016299

- Dressing, C. D., Charbonneau, D., Dumusque, X., et al. 2015, *The Astrophysical Journal*, 800, 135, doi: 10.1088/0004-637X/800/2/135
- D'Orazio, J., Jarrett, S., Amaro-Ortiz, A., & Scott, T. 2013, *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 12222, doi: 10.3390/ijms140612222
- Faria, J. P., Suárez Mascareño, A., Figueira, P., et al. 2022, *A&A*, 658, A115, doi: 10.1051/0004-6361/202142337
- Figueiredo, M., Fabris, J., Varajão, A., et al. 2006, *Pesquisa Agropecuaria Brasileira - PAB*, 41, doi: 10.1590/S0100-204X2006000200017
- Fischer, D. A., Howard, A. W., Laughlin, G. P., et al. 2014, in *Protostars and Planets VI* (University of Arizona Press), doi: 10.2458/azu_uapress_9780816531240-ch031
- Fressin, F., Torres, G., Charbonneau, D., et al. 2013, *The Astrophysical Journal*, 766, 81, doi: 10.1088/0004-637x/766/2/81
- Gabani, P., & Singh, O. 2012, *Applied microbiology and biotechnology*, 97, doi: 10.1007/s00253-012-4642-7
- Galante, D., Silva, E. P. d., Rodrigues, F., Horvath, J. E., & Avellar, M. G. B. d. 2016, *Astrobiologia: uma ciência emergente* (Tikinet)
- Garcia, A., Garcia-Vasquez, J., Aranguren, Y., & Ramírez-Castrillón, M. 2021, *Microorganisms*, 9, 387, doi: 10.3390/microorganisms9020387
- Hecht, M. H., Kounaves, S. P., Quinn, R. C., et al. 2009, *Science*, 325, 64, doi: 10.1126/science.1172466
- Ioannou, P., Vamvoukaki, R., & Samonis, G. 2019, *Mycoses*, 62, 90, doi: <https://doi.org/10.1111/myc.12856>
- Johnstone, Güdel, M., Lammer, H., & Kislyakova, K. G. 2018, *A&A*, 617, A107, doi: 10.1051/0004-6361/201832776
- Johnstone, Khodachenko, M. L., Lüftinger, T., et al. 2019, *A&A*, 624, L10, doi: 10.1051/0004-6361/201935279
- Juliace, A. C. A. 2015
- Juzeniene, A., & Moan, J. E. 2012, *Dermato-endocrinology*, 4, 109

- Kay, C., Opher, M., & Kornbleuth, M. 2016, *ApJ*, 826, 195, doi: 10.3847/0004-637X/826/2/195
- Koch, D. G., Borucki, W. J., Basri, G., et al. 2010, *ApJ*, 713, L79, doi: 10.1088/2041-8205/713/2/L79
- Lage, C. A., Dalmaso, G. Z., Teixeira, L. C., et al. 2012, *International Journal of Astrobiology*, 11, 251–256, doi: 10.1017/S1473550412000316
- Madigan, M., Martinko, J., Bender, K., Buckley, D., & Stahl, D. 2016, *Microbiologia de Brock - 14^a Edição* (Artmed Editora). https://books.google.com.br/books?id=fk_WCwAAQBAJ
- Maeder, A. 2009, *Physics, Formation and Evolution of Rotating Stars*, doi: 10.1007/978-3-540-76949-1
- Mascareño, A. S., Faria, J. P., Figueira, P., et al. 2020, *Astronomy & Astrophysics*, 639, A77, doi: 10.1051/0004-6361/202037745
- Mayor, M., & Queloz, D. 1995, *Nature*, 378, 355, doi: 10.1038/378355a0
- Moliné, M., Flores, M., Libkind, D., et al. 2010, *Photochemical photobiological sciences : Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology*, 9, 1145, doi: 10.1039/c0pp00009d
- Mussagy, C., Ribeiro, H., Ebinuma, V., Schuur, B., & Pereira, J. 2022, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 3, doi: 10.1007/s00253-022-12221-5
- Navarro-González, R., Rainey, F. A., Molina, P., et al. 2003, *Science*, 302, 1018, doi: 10.1126/science.1089143
- Neves, A, T. S. 2014, doi: 10.11606/D.76.2018.tde-24092018-143528
- Paris Junior, M, A. 2018, doi: doi:10.11606/D.11.2018.tde-22082018-134131
- Paulino-Lima, I. G., Fujishima, K., Navarrete, J. U., et al. 2016, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 163, 327, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.08.017>
- Pulschen, A. A., Rodrigues, F., Duarte, R. T. D., et al. 2015, *MicrobiologyOpen*, doi: 10.1002/mbo3.262

- Ricker, G. R., Winn, J. N., Vanderspek, R., et al. 2014, in Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers (SPIE) Conference Series, Vol. 9143, Space Telescopes and Instrumentation 2014: Optical, Infrared, and Millimeter Wave, ed. J. Oschmann, Jacobus M., M. Clampin, G. G. Fazio, & H. A. MacEwen, 914320, doi: 10.1117/12.2063489
- Ricker, G. R., Winn, J. N., Vanderspek, R., et al. 2015, Journal of Astronomical Telescopes, Instruments, and Systems, 1, 014003, doi: 10.1117/1.JATIS.1.1.014003
- Rothschild, L., & Mancinelli, R. 2001, Nature, 409, 1092, doi: 10.1038/35059215
- Schleper, C., Puehler, G., Holz, I., et al. 1995, Journal of Bacteriology, 177, 7050, doi: 10.1128/jb.177.24.7050-7059.1995
- Shields, A. L., Ballard, S., & Johnson, J. A. 2016, Physics Reports, 663, 1, doi: <https://doi.org/10.1016/j.physrep.2016.10.003>
- Soares, I., Flores, A., Mendonça, M., Barcelos, R., & Baroni, S. 2011, Arquivos do Instituto Biológico, 78, 341, doi: 10.1590/1808-1657v78p3412011
- Valio, A. 2022, Cadernos de Astronomia, 3, 49–58, doi: 10.47456/Cad.Astro.v3n2.38943
- Welsh, B. Y., Wheatley, J. M., Seibert, M., et al. 2007, ApJS, 173, 673, doi: 10.1086/516640
- Yin, W., Wang, Y., Liu, L., & He, J. 2019, International journal of molecular sciences, 20, 3423
- Zhao, Y., Guo, L., Xia, Y., Zhuang, X., & Chu, W. 2019, Marine Drugs, 17, doi: 10.3390/md17030161