

CARACTERIZAÇÃO CROMOGÊNICA E MICROMORFOLÓGICA DE ACTINOBACTÉRIAS DA ESTAÇÃO ECOLÓGICA DE AIUABA (CE)

José Vinícius Leite Lima¹; Suzana Cláudia Silveira Martins²; Claudia Miranda Martins³

⁽¹⁾ Universidade Federal do Ceará, vinyleite@yahoo.com.br; ⁽²⁾ Universidade Federal do Ceará, suzanac@ufc.br;

⁽³⁾ Universidade Federal do Ceará, claudia.miranda.martins@gmail.com.

INTRODUÇÃO

Actinobactérias são bactérias caracterizadas como aeróbias ou microaerófilas, mas também se encontram espécies anaeróbias (Embley; Stackebrandt, 1994); são Gram-positivas e possuem alto teor de guanina e citosina em seu DNA (Monciardini *et al.*, 2002). Podem possuir formato esférico ou bacilar e formam filamentos, hifas semelhantes às fúngicas com diâmetros entre 0,2 a 0,5 µm, tipicamente ramificados, compondo um micélio de coloração variada (Flårdh; Buttner, 2009). São os micro-organismos mais abundantes na natureza e dispersos em diversos ecossistemas, sendo o solo seu hábitat principal, onde são importantes componentes da comunidade microbiana (El-Tarabily; Sivasithamparam, 2006; Jayasinghe; Parkinson, 2008).

Na natureza, as actinobactérias têm papel crucial na decomposição de compostos orgânicos e poluentes ambientais, conferindo uma vantagem competitiva ao grupo (Groth *et al.*, 1999), e tornando-as excelente indicadoras das atividades biológicas dos solos (Arifuzzaman *et al.*, 2010). São ativas na decomposição de materiais orgânicos do solo, até mesmo lignina e outros polímeros recalcitrantes, e podem degradar resíduos agrícolas e urbanos (Heuer *et al.*, 1997). Produzem também pigmentos, enzimas extracelulares e compostos terpenóides, como a geosmina, que dá o odor característico do solo (Anderson; Wellington, 2001; Raju *et al.*, 2010).

As actinobactérias possuem valor comercial e medicinal por terem habilidades de produzir grande variedade de compostos quimicamente bioativos, vitaminas e substâncias inibidoras das atividades enzimáticas, e produzem ainda diversos produtos naturais, com destaque à produção de antibióticos (Taguchi *et al.*, 1993; Groth *et al.*, 1999; Pereira *et al.*, 1999; Raja; Prabakarana, 2011). Também são usadas para a descoloração e odorização de água potável (Wohl; Mcarthur, 1998).

A importância de estudos sobre a microbiota do solo se dá, especialmente, pela perda de diversidade de micro-organismos que vem ocorrendo neste hábitat que pode alterar a estrutura populacional de outros organismos situados ao longo da cadeia trófica. Processos vitais do solo podem sofrer impactos levando, por exemplo, a sistemas agrícolas terem maior dependência por fertilizantes inorgânicos. Dessa forma, o conhecimento da diversidade fenotípica e estrutura genética das populações presentes no solo podem auxiliar na compreensão de como as alterações no ambiente podem estar influenciando na funcionalidade destas populações (Moreira *et al.*, 2010).

Mais recentemente busca-se aprofundar o conhecimento sobre actinobactérias oriundas de solos semiáridos, que permitam compreender a interação desse grupo com outros membros da comunidade edáfica. Assim, neste estudo, objetivou-se caracterizar actinobactérias oriundas do solo e da serapilheira da Estação Ecológica de Aiuaba no semiárido cearense.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 60 cepas de actinobactérias pertencentes à coleção de actinobactérias do semiárido do Laboratório de Microbiologia Ambiental (LAMAB) da Universidade Federal do Ceará, Departamento de Biologia. As cepas são originárias de solo e serapilheira da Estação Ecológica (ESEC) de Aiuaba (Lima *et al.*, 2014). A EEA esta localizada a sudoeste da cidade de Aiuaba, nas coordenadas geográficas (6° 40' S & 40° 10' W), e cobre uma área de 11,525 ha. O clima

dessa região é quente e semiárido com temperatura média anual que varia acima de 26°C e com vegetação caracterizada pelas fisionomias caatinga e carrasco (Lemos; Meguro, 2010).

As cepas de actinobactérias foram cultivadas em meio CDA (Caseinato-Dextrose-Ágar) (Clark, 1965) por sete dias em B.O.D. a 28°C. A caracterização cromogênica foi realizada observando o micélio aéreo e o micélio reverso das cepas em placas de Petri, segundo Wink (2012), pelo uso da carta de cores (RAL color charts).

Para caracterização micromorfológica foi realizado um microcultivo conforme Kern; Blewins (2003) modificado. Colocou-se no interior de placas de Petri esterilizadas uma lâmina e dois pedaços de algodão umedecido, com água destilada (estéril). Um cubo de aproximadamente 1 cm³ de meio de cultura CDA (Clark, 1965) foi colocado sobre a lâmina. Inoculou-se cada cepa nos lados do cubo, o cobriu com uma lamínula esterilizada e a placa foi fechada e incubada na estufa B.O.D. de 7 a 14 dias a 28°C. Após esse tempo, a lamínula foi retirada e colocada sobre uma lâmina limpa contendo uma gota de Lactofenol de Amann (azul de algodão). As lâminas foram observadas ao microscópio óptico Zeiss Axioplan com aumento de 100x para observação de características das actinobactérias comparadas conforme Miyadoh (1997) e Goodfellow et al. (2012).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As cepas da ESEC de Aiuaba apresentaram características diversas em relação as cores do micélio aéreo (Figura 1) e pigmento reverso (Figura 2). Observou-se que das 60 cepas obtidas, as cores predominantes na massa aérea foram marrom (40%), branco (21,6%) e cinza (13,3%), e apenas 1,6% de colônias com as cores azul, rosa e amarelo. Já o pigmento do micélio reverso teve-se destaque para a coloração marrom (35%), creme (18,3%) e cinza (16,6%) e colônias nas cores branco (3,3%) e laranja (1,6%) apresentaram um menor percentual.

A observação de cores da massa do micélio aéreo e lado reverso é um dos primeiros métodos usados para distinção de isolados. Neste trabalho, a cor marrom foi a predominante em contraste com as observadas por Ramos *et al.* (2015) e Silva *et al.* (2015), que, ao caracterizarem culturalmente cepas de actinobactérias oriundas do semiárido, observaram a predominância das cores cinza, creme e branco. Essas diferenças de cores nas cepas podem estar relacionadas com fatores, como temperatura, tipo de solo, pH e fontes de carbono disponíveis no ambiente (Amal *et al.*, 2011).

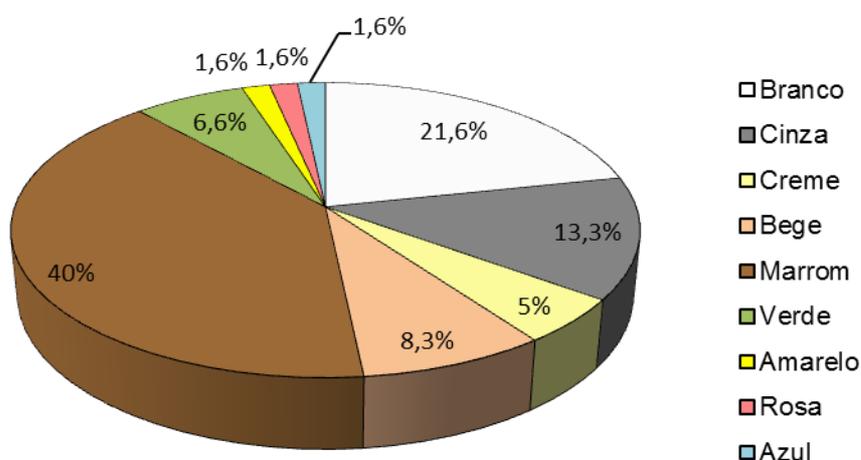


Figura 1: Percentual de diferença das cores do micélio aéreo das cepas de actinobactéria oriundas de Estação Ecológica de Aiuaba.

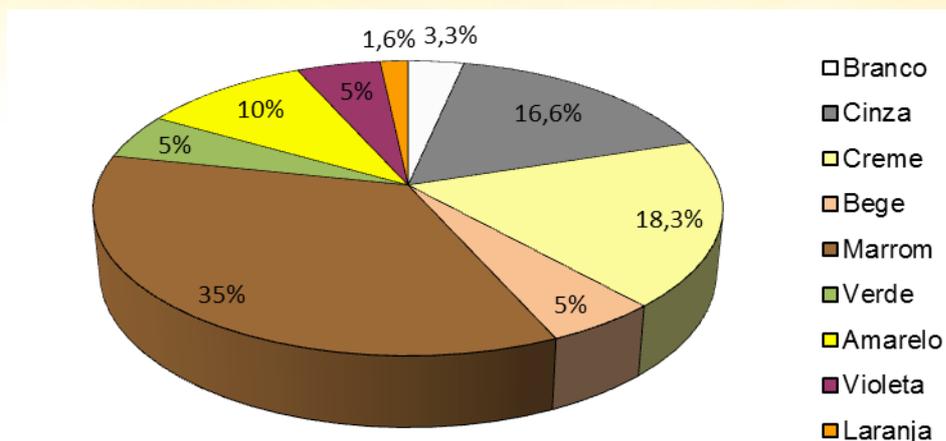
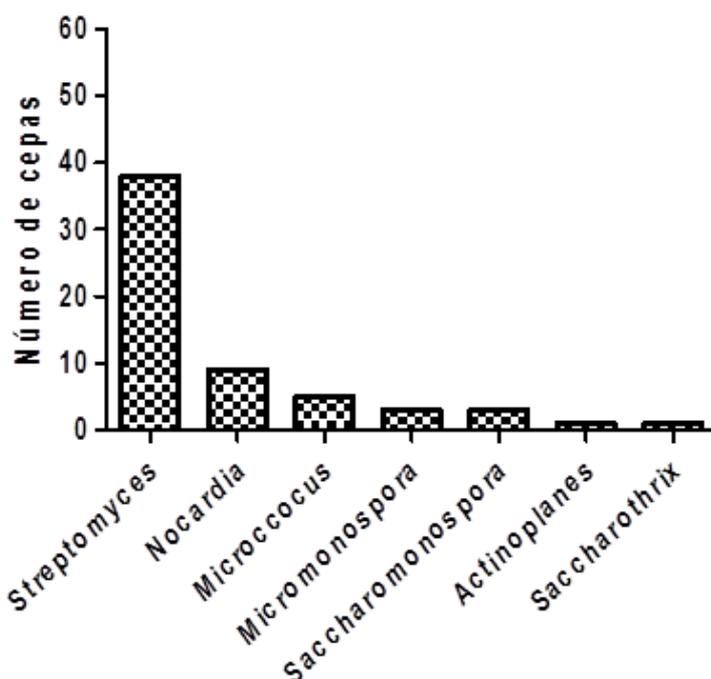


Figura 2: Percentual de diferença das cores do micélio reverso das cepas de actinobactéria oriundas de Estação Ecológica de Aiuaba.

Após o microcultivo puderam-se observar as características morfológicas da actinobactérias como: forma filamentosa e/ou bacilar, forma de cocos soltos ou unidos, formato aéreo e ramificação sob o substrato, cadeias de esporos (espirais simples e espirais flexíveis), hifas com fragmentos em zigue-zague, fragmentações em formas bacilares e esféricas, entre outras. Constatou-se a presença dos seguintes gêneros: *Streptomyces* (38), *Nocardia* (9), *Micrococcus* (5), *Micromonospora* (3),



Saccharomonospora (3), *Actinoplanes* (1) e *Saccharothrix* (1) (Figura 3).

Figura 3: Prováveis gêneros de actinobactérias das cepas de actinobactéria oriundas de Estação Ecológica de Aiuaba.

Através do microcultivo foi possível a distinção de 7 gêneros. Esse número foi superior ao relatados por Brito *et al.* (2015), que observaram 3 gêneros similares (*Streptomyces*, *Nocardia* e *Micromonospora*) aos encontrados no presente estudo. O gênero *Streptomyces* predominante na

Estação Ecológica de Aiuaba já havia sido relatado por Silva *et al.* (2013) como gênero predominante em solos do cerrado. A informação sobre a predominância deste gênero em solos do semiárido é de suma relevância, pois o gênero *Streptomyces* spp. produz enzimas hidrolíticas que atuam de diversas formas, como por exemplo no controle de fitopatógenos. Além disso, atuam como promotores de crescimento de plantas e como facilitadores de processos ecológicos como na simbiose rizóbios-leguminosas. Esses resultados ampliam o conhecimento sobre os gêneros de actinobactérias presentes no semiárido e direcionam para pesquisas futuras sobre a relação dessas bactérias com a comunidade do solo.

CONCLUSÕES

A caracterização cromogênica e micromorfológica de actinobactérias oriundas da Estação Ecológica de Aiuaba permitiu a identificação de 7 gêneros, sendo o grupo predominante o gênero *Streptomyces*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMAL, A. M.; ABEER, K. A.; SAMIA, H. M.; NADIA, A. E. H.; AHMED, K. A.; EL-HENNAWI, H. M. Selection of pigment (melanin) production in *Streptomyces* and their application in printing and dyeing of wool fabrics. **Research Journal of Chemical Sciences**, v. 1, p. 22-28, 2011.

ANDERSON, A. S.; WELLINGTON, M. H. E. The taxonomy of *Streptomyces* and related genera. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, p. 797-814, 2001.

ARIFUZZAMAN, M.; KHATUN, M. R; RAHMAN, H. Isolation and screening of actinomycetes from Sundarbans soil for antibacterial activity. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, p. 4615-4619, 2010.

BRITO, F. A. E.; RAMOS, K. A.; SILVA, R. M.; MARTINS, C. M.; MARTINS, S. C. S. Actinobacteria from rizospheric soil in the caatinga biome. **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, p. 1992-2004, 2015.

CLARK, F. E. Actinomyces. In: BLACK, C.A. (Ed). Methods of soil analysis. Madison. American Society of Agronomy. 1965, p. 1498-501.

EL-TARABILY K. A.; SIVASITHAMPARAM K. Non-streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 34, p. 1-16, 2006.

EMBLEY, T. M.; STACKEBRANDT, E. The Molecular phylogeny and systematics of the Actinomycetes. **Annual Review of Microbiology**, v. 48, p. 257-289, 1994.

FLÄRDH, K.; BUTTNER, M. J. *Streptomyces* morphogenetics: Dissecting differentiation in a filamentous bacterium. **Nature Reviews Microbiology**, v. 7, p. 36-49, 2009.

GOODFELLOW, M.; KÄMPFER, P.; BUSSE, H.; TRUJILLO, M. E.; SUZUKI, K.; LUDWIG, W.; WHITMAN, W. B. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, v. 5 The Actinobacteria. Heidelberg: Springer, 2012.

GROTH, I.; VETTERMANN, R.; SCHUETZE, B.; SCHUMANN, P.; SAIZ-JIMENEZ, C. Actinomycetes in karstic caves of northern Spain (Altamira and Tito Bustillo). **Journal of Microbiological Methods**, v. 36, p.115-122, 1999.

HEUER, H.; KRSEK, M.; BAKER, P.; SMALLA, K.; WELLINGTON, E. M. Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, p. 3233-3241, 1997.

JAYASINGHE, B. A. T. D.; PARKINSON, D. Actinomycetes as antagonists of litter decomposer fungi. **Applied Soil Ecology**, v. 38, p. 109-118, 2008.

KERN, M. E.; BLEVINS, K. S. *Micologia médica – Texto e Atlas*. São Paulo: Editorial Premier, 2003, 264p.

LEMOS, J. R. Florística e fitogeografia da vegetação decidual da Estação Ecológica de Aiuaba, Ceará, Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira Biociências**, v. 8, p. 34-43, 2010.

LIMA, J. V. L.; PINHEIRO, M. S.; FIÚZA, L. M. C. G.; MARTINS, S. C. S.; MARTINS, C. M. Microbial populations cultivable litter soil and of a storage unit in brazilian semi-arid. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, p. 2300-2316, 2014.

MIYADOH, S. **Atlas of Actinomycetes**. Tóquio: Asakura Publishing, 1997.

MONCIARDINI, P.; SOSIO, M.; CAVALETTI, L.; CHIOCCHINI, C.; DONADIO, S. New PCR primers for the selective amplification of 16S rDNA from different groups of actinomycetes. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 42, p. 419-429, 2002.

MOREIRA, F. M. S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v. 1, p. 74-99, 2010.

PEREIRA, J. C.; NEVES, M. C. P.; DROZDOWICZ, A. Influência da antibiose exercida por actinomicetos às estirpes de *Bradyrhizobium* spp, na nodulação da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 99-108, 1999.

RAJA, A.; PRABAKARANA, P. Actinomycetes and drug-an overview. **American Journal of Drug Discovery and Development**, v. 1, p. 75-84, 2011.

RAJU, A.; PIGGOTT, A. M.; CONTE, M.; TNIMOV, Z.; ALEXANDROV, K.; CAPON, R. J. Nocardiopeptidins: New FKBP12-Binding macrolide polyketides from an Australian marine-derived Actinomycete, *Nocardiopepsis* sp. **Chemistry European Journal**, v. 16, p. 3194-3200, 2010.

RAMOS, K. A.; BRITO, F. A. E.; NUNES, K. J. F.; MARTINS, C. M.; MARTINS, S. C. S. Characterization and chromogenic diversity of actinobacteria from undisturbed microbial niche in the caatinga biome. **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, p. 2115-2125, 2015.

SILVA, M. S.; SALES, A. N.; MAGALHÃES-GUEDES, K. T.; DIAS, D.R.; SCHWAN, R.F.S. Brazilian cerrado soil Actinobacteria ecology. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 1-10, 2013.

SILVA, V. M. A.; LIMA, J. V. L.; GONDIM, P. M.; MARTINS, C. M.; MARTINS, S. C. S. Efeito da irrigação e do tipo de cultivo sobre a riqueza e diversidade cromogênica de actinobactérias do solo de uma região do semiárido do Ceará. **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, p. 2965-2979, 2015.

TAGUCHI, S.; KIKUCHI, H.; SUZUKI, M.; KOJIMA, S.; TERABE, M.; MIURA, K.; NAKASE, T.; MOMOSE, H. *Streptomyces* subtilisin inhibitor-like proteins are distributed widely in Streptomyces. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, p. 4338-4341, 1993

WINK, J. M. **Compendium of actinobacteria**. University of Braunschweig, 2012, 1-37p.

WOHL, D.L.; MCARTHUR, J. V. Actinomycete-flora associated with submersed freshwater macrophytes. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 26, p. 135, 1998.