

## CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA DE ACTINOBACTÉRIAS DE REGIÃO SEMIÁRIDA CEARENSE

Karoline Alves Ramos <sup>1</sup>; Valéria Maria Araújo Silva <sup>2</sup>; Claudia Miranda Martins <sup>3</sup>; Suzana Cláudia Silveira Martins <sup>4</sup>

<sup>1</sup> Estudante do Curso de Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Ceará – UFC, karolinea.ramos@gmail.com. <sup>2</sup> Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal do Ceará – UFC, mariavaléria@yahoo.com.br. <sup>3</sup> Professora Doutora do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, UFC, Fortaleza, CE, claudia.miranda.martins@gmail.com. <sup>4</sup> Professora Doutora do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, UFC, Fortaleza, CE, suzana220@gmail.com.

### INTRODUÇÃO

A região do semiárido nordestino é caracterizada por condições físicas limitantes, como um clima quente e seco, delimitando assim, as características bióticas típicas deste ambiente (Araújo, 2011). Os solos dessa região geralmente apresentam reduzida disponibilidade de nutrientes e predominância de condições abióticas limitantes, como intensa radiação solar, baixos índices pluviométricos e elevadas temperaturas (Zanella, 2014). Essas condições extremas influenciam negativamente o desenvolvimento das diferentes populações microbianas no referido habitat. No entanto, actinobactérias constituem um grupo representativo de bactérias detectadas nos solos destas regiões (Silva *et al.*, 2015) e que exercem importante papel funcional para o equilíbrio ecológico deste ecossistema.

São bactérias caracterizadas como aeróbias ou microaerófilas, mas também se encontram espécies anaeróbias (Embley; Stackebrandt, 1994); Gram-positivas com alto teor de guanina e citosina em seu DNA (Monciardini *et al.*, 2002). Possuem formato esférico ou bacilar e formam filamentos, hifas semelhantes aos fungos com diâmetros que varia entre 0,2 a 0,5 µm, geralmente ramificados, compondo um micélio de coloração variada (Flärdh; Buttner, 2009).

As actinobactérias constituem um dos mais diversos grupos de bactérias filamentosas, capazes de sobreviver em numerosos nichos ecológicos devido a sua diversidade metabólica (Mansour; Abdel-Azeem; Abo-Deraz, 2015). São capazes de crescer em locais que apresentem condições ambientais hostis e antropizados (Lima, 2013), como é o caso da região do semiárido nordestino. Alguns estudos em regiões da Caatinga demonstraram predominância de actinobactérias em relação a outros micro-organismos do solo, como fungos (Kavamura, 2012; Martins. *et al.*, 2014), principalmente no período de menor pluviosidade. Segundo Goel *et al.* (2012), as restrições ambientais limitam a distribuição dos micro-organismos, no entanto, a presença de um comportamento fisiológico adaptado a essas restrições pode ser consequência de um processo adaptativo.

Tendo em vista a abundante presença das actinobactérias na formação da comunidade microbiana dos solos e a conhecida resistência desses micro-organismos à condições ambientais hostis, objetivou-se com este trabalho determinar e avaliar as características fisiológicas de actinobactérias de uma região do semiárido Nordeste como mecanismo adaptativo de permanência desse grupo no solo dessa região.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 22 cepas de actinobactérias pertencentes à coleção de actinobactérias do semiárido do Laboratório de Microbiologia Ambiental (LAMAB) da Universidade Federal do Ceará, Departamento de Biologia, mantidas em meio de cultura Caseína Dextrose Ágar (CDA)

(83) 3322.3222

contato@conidis.com.br

**www.conidis.com.br**

(Clark, 1965) inclinado a 4 °C. São oriundas de amostras de solo do Parque Nacional de Ubajara, região do semiárido cearense, com área compreendida entre a latitude 3°46' S e longitude 40° 54' W com altitudes que variam de 800 a 1.100 m (Cunha;Araújo, 2014).

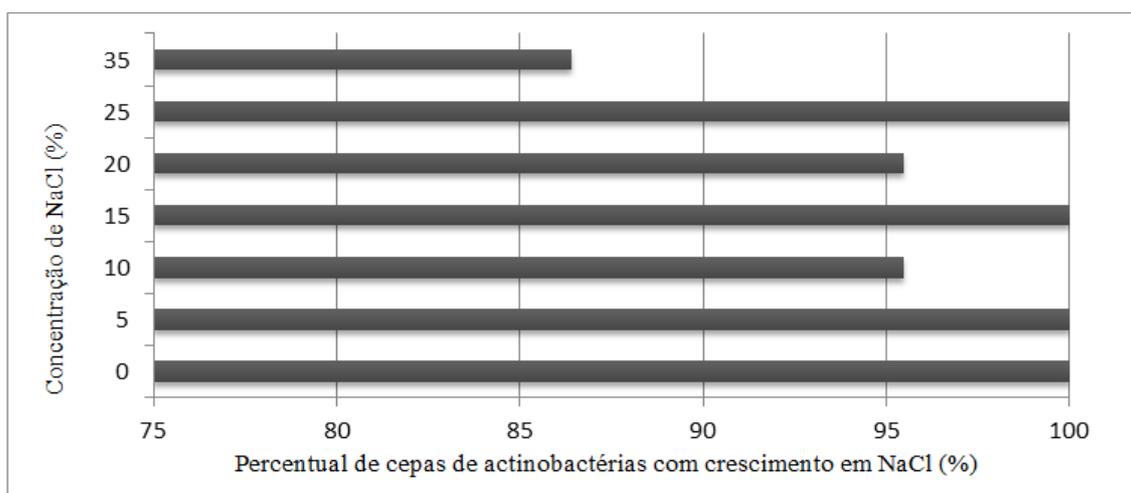
Foi realizada a caracterização fisiológica quanto a tolerância a salinidade (NaCl), a capacidade de crescer em diferentes potenciais hidrogeniônicos (pHs) e a tolerância a elevadas temperaturas. Para a avaliação da tolerância a salinidade foi utilizado o meio de cultura 5339 (Wink, 2012) com a seguinte composição em g. L<sup>-1</sup> (para 1000 mL): caseína peptonada (10,0), extrato de levedura (5,0), ágar (20,0) e pH 7,0 adicionado de diferentes concentrações de cloreto de sódio (0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,5%). Foram avaliadas 28 cepas de actinobactérias, que foram inoculadas nas concentrações de NaCl acima especificadas e incubadas em B.O.D. a 28 °C durante 7-15 dias, e a partir do sétimo dia os resultados foram registrados quanto à presença ou ausência de crescimento. Os ensaios foram realizados em quadruplicata com duas repetições.

Para testar a capacidade de crescimento das cepas de actinobactérias em diferentes pHs foi utilizado o meio de cultura CDA com a seguinte composição para um litro: K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (0,5 g), MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (0,2 g), glicose (10 g), caseína (0,2 g) e nistatina (0,05 mg) (Arifuzzaman *et al.*, 2010). O pH do meio foi ajustado para 4, 5, 6, 7, 8 e 9. Para esse teste foram utilizadas 22 cepas actinobactérias, que foram inoculadas e incubadas a 28 °C em B.O.D. por 10-12 dias. Para cada cepa foram preparados dois ensaios em triplicatas e as leituras foram registradas em termos de presença ou ausência de crescimento (Kishore, 2012).

Para determinar capacidade de crescimento das actinobactérias nas temperaturas 39°C, 41°C, 43°C e 45°C, 22 as cepas foram inoculadas em placas de Petri contendo meio de cultura CDA e incubadas em B.O.D. nas temperaturas citadas por 7 dias. Após esse período registrou-se a presença ou ausência de crescimento. Cada ensaio foi realizado em quadruplicata com duas repetições (Kishore, 2012).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as actinobactérias testadas cresceram na presença de NaCl nas concentrações 0,5%, 1,5% e 2,5%, e com exceção das cepas UB-07, UB-17 e UB-21, as demais (86,4%) também cresceram a 3,5% (Figura 1).



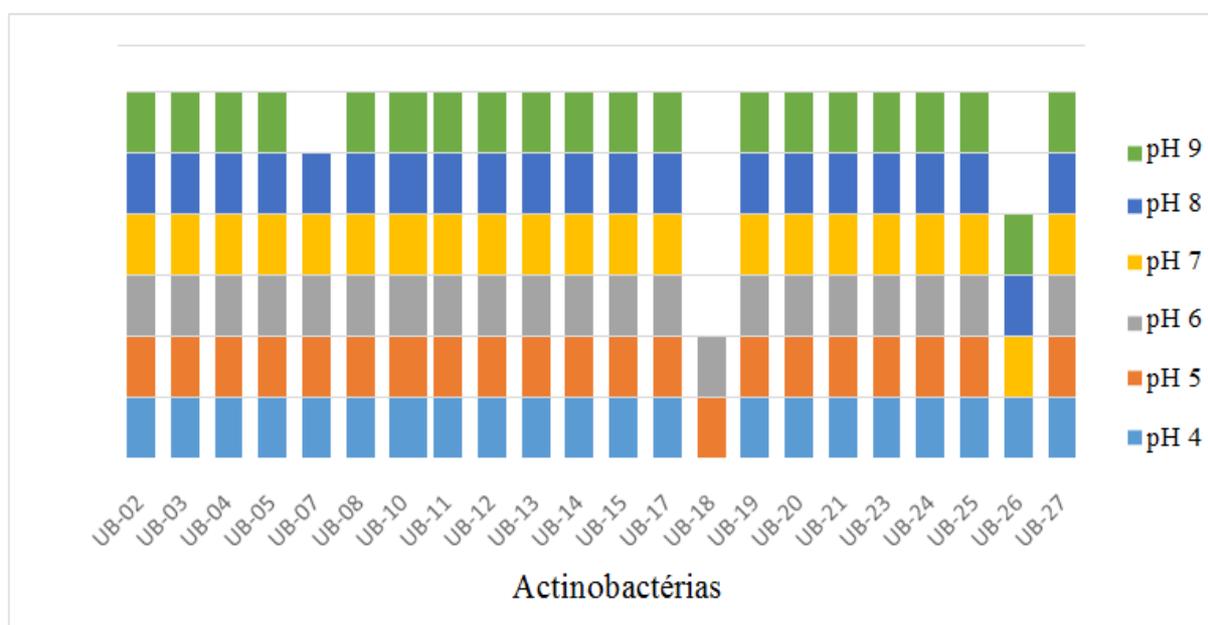
**Figura 1** – Percentual de cepas de actinobactérias isoladas do solo de semiárido cearense, com crescimento em diferentes concentrações de NaCl.

Importante ressaltar que apenas a cepa UB-10 apresentou o mesmo tamanho das colônias em todas as concentrações de NaCl, nas demais foi visível a redução do tamanho das colônias a medida que aumentou a concentração de NaCl. Isto sugere possível redução na população bacteriana por efeito da salinidade (Figura 2).



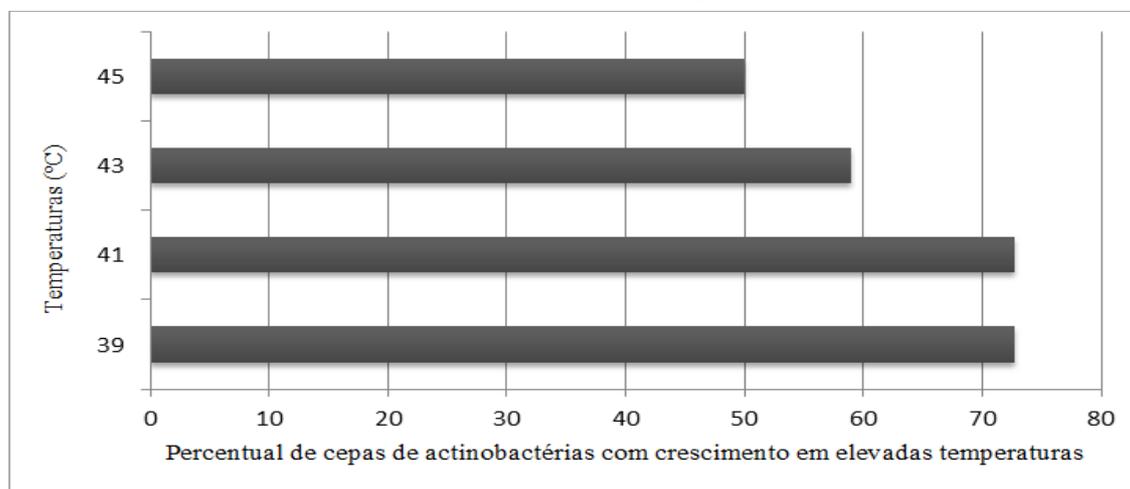
**Figura 2** – Colônias da cepa de actinobactéria UB-10 isoladas do solo de semiárido cearense em diferentes concentrações de NaCl.

Na avaliação da capacidade de crescimento das cepas de actinobactérias em diferentes pHs, das 22 cepas avaliadas, 86,36% cresceram em todos os pHs avaliados (Figura 3). No pH mais alcalino testado (pH 9) ainda houve crescimento de 21 cepas (95,45%) (Figura 3). As cepas UB-07, UB-18 e UB-26 e UB-28 não apresentaram crescimento em alguns pHs, destas podemos ressaltar a cepa UB-18 que não cresceu no pH mais ácido testado (pH 4). A actinobactéria UB-26 apresentou melhor crescimento em pHs mais extremos (4 e 9).



**Figura 3** – Perfil de crescimento das cepas de actinobactérias isoladas do solo de semiárido cearense em diferentes pHs.

Quanto a capacidade para crescer sob elevadas temperaturas, foi possível identificar que as actinobactérias apresentaram na sua maioria bom desenvolvimento, sendo que as temperaturas de 39°C e 41°C exibiram melhor potencial para crescimento das cepas, considerando um percentual de 72,72% para ambas as temperaturas (Figura 4). Nas temperaturas de 43°C e 45°C foi possível evidenciar crescimento de 59 e 50%, respectivamente.



**Figura 4** – Percentual de cepas de actinobactérias isoladas do solo de semiárido cearense com crescimento em elevadas temperaturas.

Zenova; Manucharova; Zvyagintsev (2011) ressaltaram que as actinobactérias são capazes de colonizar ambientes extremos, caracterizados por pHs ácidos e/ou alcalinos, temperaturas baixas e/ou elevadas, salinos, com elevados índices de radiação, baixos níveis de umidade e também com poucos nutrientes. Os resultados dos testes fisiológicos das actinobactérias demonstrou que as cepas apresentaram um perfil fisiológico compatível com ambientes de condições estressante por terem apresentado crescimento em vários pHs e salinidade extremas e em temperaturas de até 45°C, com exceção das cepas UB-02, UB-03, UB-04, UB-05, UB-07 e UB-12 que não exibiram crescimento em nenhuma temperatura testada. Pesquisas tem revelado potencial de crescimento para este grupo bacteriano em temperaturas elevadas (Kurapova *et al.*, 2012), em regiões salinas (Mohamed; Al-Saedi; Sadik, 2013), assim como em regiões extremamente ácidas (Zenova; Manucharova; Zvyagintsev, 2011) ou bastante alcalinas (Shivlata; Satyanarayana, 2015). Segundo Shivlata; Satyanarayana (2015), essa diversidade fisiológica facilita a colonização de actinobactérias aos mais variados ambientes em distintas zonas topográficas. Ainda segundo esses autores, a diversidade fisiológica e a grande flexibilidade metabólica de actinobactérias extremofílicas/termotolerantes, é o que permite a sobrevivência desse grupo bacteriano em ambientes hostis e com condições desfavoráveis. Assim, a presença de actinobactérias com ampla variedade fisiológica indica a relevância desse grupo microbiano na constituição da comunidade microbiana dos solos da região do semiárido cearense.

## CONCLUSÃO

As cepas de actinobactérias oriundas do semiárido demonstraram padrões de resistência a estresses ambientais característicos dessa região.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, S. M. S., 2011. A região semiárida do nordeste do Brasil: Questões ambientais e possibilidades de uso sustentável dos recursos. *Revista Eletrônica-Revista Científica da FASETE*, 5: 89-98.
- ARIFUZZAMAN, M. *et al.*, 2010. Isolation and screening of actinomycetes from Sundarbans soil for antibacterial activity. *African Journal of Biotechnology*, 9: 4615-4619.
- CLARK, F. E. Actinomyces. In: BLACK, C.A. (Ed). Methods of soil analysis. Madison. *American Society of Agronomy*. 1965, p. 1498-501.
- CUNHA, B. B.; ARAÚJO, R. C. P., 2014. Avaliação das pressões e ameaças ambientais sobre o Parque Nacional de Ubajara-Ceará: Uma perspectiva da Efetividade de Gestão. *REDE - Revista Eletrônica do Prodema*, 8: 46-66.
- 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.
- GOEL, A., *et al.*, 2012. Metabolic shifts: a fitness perspective for microbial cell factories. *Biotechnology Letters*, 34: 2147-2160.
- KAVAMURA, V. N., 2012. Bactérias associadas as cactáceas da Caatinga: promoção de crescimento de plantas sob estresse hídrico. *Tese de Doutorado*, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - USP, Piracicaba, São Paulo.
- KISHORE, P., 2012. Isolation, characterization and identification of Actinobacteria of Mangrove ecosystem, Bhitarkanika, Odisha. *Dissertação de Mestrado*, Departamento de Ciências da Vida, Instituto de Nacional de Tecnologia, Rourkela.
- KURAPOVA, A. I., *et al.*, 2012. Thermotolerant and thermophilic actinomycetes from soils of Mongolia desert steppe zone. *Microbiology*, 81: 98-108.
- LIMA, S. M. A., 2013. Avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de metabólitos secundários produzidos pela Actinobactéria ACTMS – 9H isolada da rizosfera de *Paullini cupana* Kunth. *Dissertação de mestrado*, Universidade Federal de Pernambuco, Pós-graduação em Biotecnologia Industrial, Recife.
- MANSOUR, S. R.; ABDEL-AZEEM, A. M.; ABO-DERAZ, S. S. S., 2015. A new record of Actinobacteria isolated from soil in Jerusalem and their enzymatic potential. *F1000Research*, 4: 1-10.
- MARTINS, S. C. M., *et al.*, 2014. Effect of the rest on the recovery of a soil under caatinga of the Brazilian semiarid. *Enciclopédia Biosfera*, 10: 2194-2204.
- MOHAMED, S. H.; AL-SAEEDI, T. A.; SADIK, A. S., 2013. Halotolerant streptomycetes isolated from soil at Taif region, Kingdom of Saudi Arabia (KSA) I: Purification, salt tolerance range, biological and molecular identification. *African Journal of Biotechnology*, 12: 2565-2574.

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.

SHIVLATA, L.; SATYANARAYANA, T., 2015. Thermophilic and alkaliphilic Actinobacteria: biology and potential applications. *Frontiers in Microbiology*, 6: 1-29.

SILVA, M. E., *et al.*, 2012. Brazilian Cerrado Soil Actinobacteria Ecology. *BioMed Research International*, 2013: 1-10.

SILVA, V. M. A., *et al.*, 2015. Effect of irrigation and type of cultivation on richness and diversity of chromogenic actinobacteria of soil from Ceará semi-arid region. *Enciclopédia Biosfera*, 11: 2965-2979.

WINK, J. M., 2012. Compendium of actinobacteria. University of Braunschweig. 1-37.  
WINTERMUTE, E. H.; SILVER, P. A., 2010. Emergent cooperation in microbial metabolism. *Molecular Systems Biology*, 6: 1-7.

ZANELLA, M. E., 2014. Considerations on climate and water resources of the northeastern semi-arid. *Caderno Prudentino de Geografia*, 36, Volume Especial: 126-142.

ZENOVA, G. M.; MANUCHAROVA, N. A.; ZVYAGINTSEV, D. G., 2011. Extremophilic and extremotolerant actinomycetes in different soil types. *Eurasian Soil Science*, 44: 417-436.