

## USO DE FONTES DE CARBONO POR MICRO-ORGANISMOS RIZOSFÉRICOS DE REGIÃO SEMIÁRIDA BRASILEIRA

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

<sup>1</sup>Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal do Ceará – UFC.

<sup>2</sup>Professora Doutora do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, UFC, Fortaleza, CE, [mariavaleria@yahoo.com.br](mailto:mariavaleria@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](mailto:claudia.miranda.martins@gmail.com). [suzana220@gmail.com](mailto:suzana220@gmail.com).

### 1 - INTRODUÇÃO

A região semiárida brasileira abrange uma área de 969.589,4 Km<sup>2</sup> que apresenta precipitações pluviométricas baixas e irregulares, elevadas temperaturas, intensa radiação solar associada às altas taxas de evapotranspiração e a presença de um solo frágil pela reduzida cobertura vegetal (ARAÚJO *et al.*, 2014). Essas condições climáticas peculiares podem ser desfavoráveis ao desenvolvimento de micro-organismos, reduzindo tanto sua abundância como diversidade, acarretando variações na estabilidade do solo (GORLACH-LIRA; COUTINHO, 2007; ARAÚJO *et al.* 2013).

Muito dos micro-organismos que habitam o solo estão associados a raízes de plantas, obtendo delas várias fontes de carbono (HINSINGER *et al.*, 2009). Essa região de interferência direta das raízes denominada rizosfera, é considerada um ambiente único para colonização e atividade de micro-organismos (PRASHAR *et al.*, 2014), dentre os quais se destacam actinobactérias e rizóbios.

Actinobactérias são bactérias filamentosas Gram-positivas que habitam diferentes ambientes (GANESAN *et al.*, 2017), destacando-se no solo por sua grande abundância e diversidade, desempenhando funções importantes como a decomposição de substratos complexos em decorrência de sua reconhecida habilidade na síntese e excreção de enzimas (AMSAVENI *et al.*, 2015; JANAKI, 2017).

Os rizóbios são bactérias diazotróficas Gram-negativas presentes no solo, especialmente na região rizosférica, capazes de realizar simbioses com raízes ou caules de leguminosas promovendo a fixação biológica de nitrogênio, auxiliando dessa forma, na promoção do crescimento vegetal (SIMON *et al.*, 2014; MARTINS *et al.*, 2015; NAHAR *et al.*, 2017).

Sabendo-se da presença desses dois grupos microbianos em solos semiáridos (PINHEIRO *et al.*, 2014; LIMA *et al.*, 2017) e da importância que os mesmos possuem para manutenção de características ecológicas fundamentais na estabilidade dos solos, o presente trabalho objetivou observar a capacidade de cepas de actinobactérias e rizóbios isolados da região rizosférica de

leguminosas do Parque Nacional de Ubajara-CE de utilizar diferentes fontes de carbono para seu crescimento.

## **2 - MATERIAL E MÉTODOS**

Neste estudo foram analisadas 27 cepas de actinobactérias (UB01, UB02, UB03, UB04, UB05, UB07, UB08, UB09, UB10, UB11, UB12, UB13, UB14, UB15, UB16, UB17, UB18, UB19, UB20, UB21, UB22, UB23, UB24, UB25, UB26, UB27 e UB28) e 26 cepas de rizóbios (L-83, L-84, L-85, L-86, L-87, L-89, L-90, L-91, L-92, L-93, L-94, L-95, L-96, L-97, L-98, L-99, L-100, L-101, L-102, L-103, L-104, L-105, L-107, L-108, L-109 e L-110) obtidas de amostras de solo rizosférico de leguminosas do Parque Nacional de Ubajara (PNU), uma unidade de conservação federal localizada na região do planalto da Ibiapaba, norte do Estado do Ceará (ICMBio, 2016).

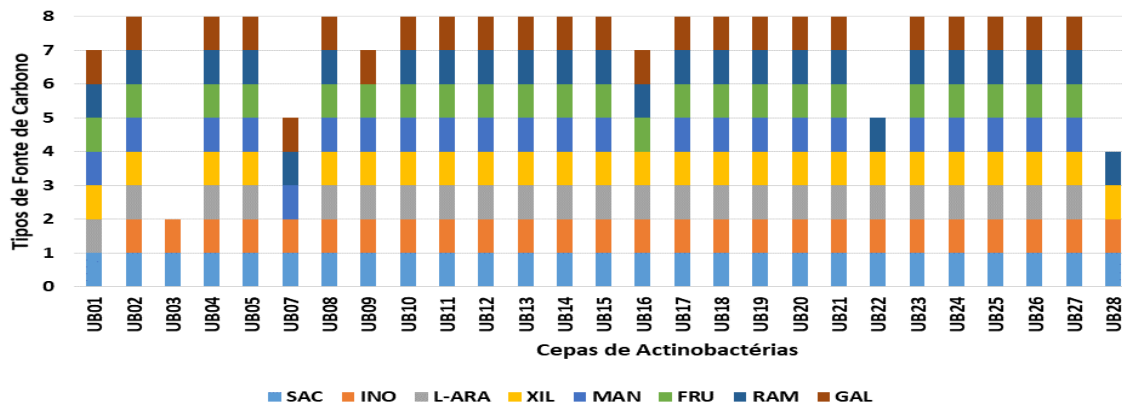
Para análise do potencial de utilização de fontes de carbono foi produzido meio basal conforme Shirling; Gottlieb (1966). Soluções contendo as fontes de carbono (sacarose, xilose, l-arabinose, manitol, galactose, inositol, ramnose e frutose) foram preparadas separadamente numa concentração de 10% e esterilizadas por filtração. Após a esterilização do meio basal, foram adicionados ao meio 1% de cada fonte de carbono a ser testada. As cepas foram inoculadas em triplicata em placas de Petri contendo o referido meio e incubadas em B.O.D. a 28°C por 10 dias. A observação do crescimento (+) ou não crescimento (-) das cepas foi realizada com base na comparação com o controle positivo (glicose) e o controle negativo (sem fonte de carbono) (LIMA *et al.*, 2017).

## **3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO**

As cepas de actinobactérias demonstraram ampla diversificação quanto ao uso das fontes de carbono. Cerca de 78% das cepas foi capaz de utilizar todas as fontes analisadas, entretanto, algumas cepas como a UB03 e a UB28 (Figura 1) demonstraram crescimento apenas nas fontes sacarose, inositol, xilose e ramnose. Já as cepas UB01, UB07, UB09 e UB22 cresceram nas fontes sacarose, inositol, l-arabinose, xilose, manitol, frutose, ramnose e galactose, demonstrando heterogeneidade no uso desses substratos que no solo podem estar disponíveis através de inúmeros compostos. Apenas a cepa UB03 demonstrou menor habilidade na utilização de fontes de carbono, pois a mesma só apresentou crescimento nas fontes sacarose e inositol.

Vários estudos apontam a plasticidade metabólica de actinobactérias no uso de recursos nutricionais como fonte de carbono (LIMA *et al.*, 2017; AHMED *et al.*, 2014). De acordo com AUGUSTINE *et al.* (2013) a diferença na utilização de fontes de carbono por actinobactérias pode ser resultado de aspectos adaptativos desses micro-organismos ou até mesmo da disponibilidade de

determinada fonte no ambiente, o que pode justificar as variações observadas quanto a capacidade de assimilação das fontes de carbono pelas cepas de actinobactérias avaliadas. Outros autores também sugerem que o uso de carboidratos de estrutura simples como pentoses e hexoses por esses micro-organismos está diretamente relacionado com o aumento de massa celular, estando, portanto, direcionado ao crescimento e manutenção da colônia (BUNDALE *et al.*, 2015).



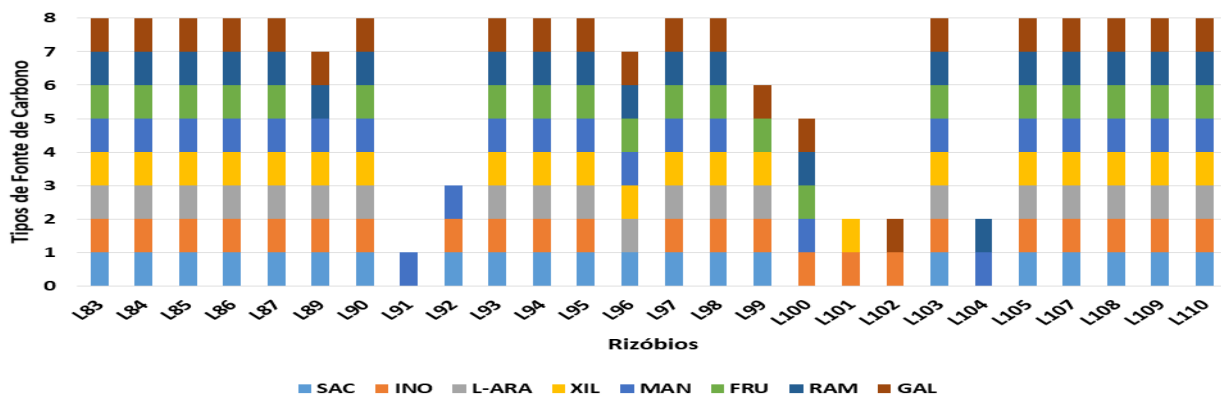
**Figura 1** – Fontes de carbono utilizadas por cepas de actinobactérias isoladas de solo rizosférico de leguminosas do Parque Nacional de Ubajara – CE.

As cepas de rizóbios L91, L92, L101 e L102 (Figura 2) foram capazes de crescer apenas nas fontes manitol, sacarose, inositol, xilose e galactose, perfil inferior ao observado nas cepas de actinobactérias analisadas. LAURETTE *et al.* (2015) afirmaram que a ausência de determinada fonte de carbono no ambiente pode ser crucial para sobrevivência de rizóbios com características restritivas para certos substratos.

Três cepas de rizóbios apresentaram crescimento em fontes como sacarose, inositol, l-arabinose, xilose, ramnose, manitol e galactose. Estes resultados indicam que algumas cepas possuem maior diversidade metabólica o que pode conferir as mesmas, maiores chances de colonizar raízes de plantas leguminosas, e assim, possibilitar melhores oportunidades de sobrevivência. A habilidade dos rizóbios utilizarem fontes de carbono variadas, pode conferir vantagens ecológicas na colonização do solo e na competição com outros micro-organismos na rizosfera (TSEGAYE *et al.*, 2015).

De acordo com ELZANATY *et al.* (2015) a capacidade de cepas de rizóbios utilizarem ampla variedade de substratos como fonte de carbono está relacionado a sua sobrevivência em ambientes ácidos. A presença de cepas de rizóbios em ambientes semiáridos que tendem a apresentar níveis de acidez moderados e com reduzidos teores de matéria orgânica, indicam que este comportamento pode estar diretamente relacionado a aspectos adaptativos desses micro-organismos.

Das cepas de actinobactérias analisadas, 21 (78%) demonstraram capacidade de utilizar todas as fontes de carbono, sendo sacarose, inositol, l-arabinose e ramnose as fontes mais consumidas (Figura 3). Resultados semelhantes foram encontrados por LIMA *et al.* (2017) ao analisarem o uso de fontes de carbono por actinobactérias isoladas de uma região semiárida, constatando que mais de 80% das cepas tiveram crescimento em diversas fontes de carbono. Esses resultados confirmam a grande versatilidade nutricional apontada para actinobactérias (AUGUSTINE *et al.*, 2013; MOHAMED *et al.*, 2013) e demonstram o potencial desses micro-organismos para ocupar nichos diversos.



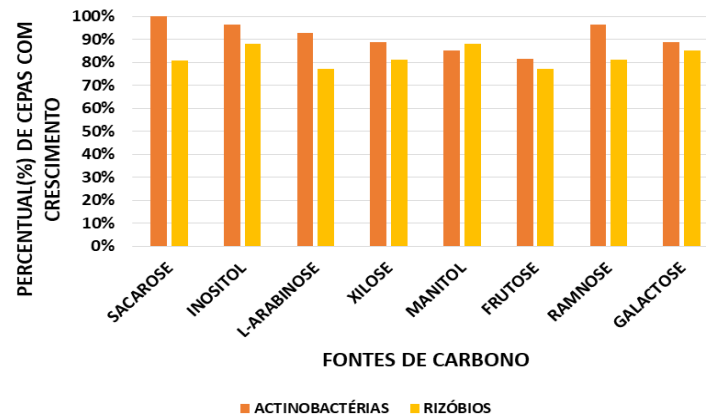
**Figura 2** – Fontes de carbono utilizadas por cepas de rizóbios isoladas de solo rizosférico de leguminosas do Parque Nacional de Ubajara – CE.

A frutose foi a fonte de carbono menos utilizada por actinobactérias (81%). Embora a frutose tenha representado a fonte de carbono menos consumida pelas cepas de actinobactérias deste estudo, a mesma ainda foi metabolizada por uma parcela significativa das cepas testadas (81%). Tendo em vista a importância da diversificação metabólica para grupos microbianos, a presença de micro-organismos com essa característica em solos de regiões semiáridas, indica a relevância dos mesmos para manutenção de sistemas biológicos em solos com características nutricionais e aspectos climáticos restritivos.

Das 26 cepas de rizóbios avaliadas, 17 (65%) apresentaram crescimento em todas as fontes de carbono testadas, com destaque para as fontes manitol, inositol, xilose, sacarose, ramnose e galactose (Figura 3) consumidas por mais de 21(80%) das cepas. Resultados similares foram apontados por NAHAR *et al.* (2017) e TSEGAYE *et al.* (2015), sugerindo, pois, certas restrições desse grupo microbiano quanto a capacidade de consumir alguns substratos simples que podem ser usados para seu crescimento em solos com atributos limitantes.

SHANKAR e SUNEETHA (2013) ao avaliarem a capacidade de utilizar determinados carboidratos como fonte de carbono por uma cepa de rizóbio constataram que apenas as fontes

galactose, frutose, l-arabinose e glicose foram utilizadas. Já LAURETTE *et al.* (2015) investigando a capacidade de bactérias nodulíferas utilizarem cinco diferentes fontes de carbono, verificaram que apenas nas fontes manitol e glicerol o crescimento das cepas foi significativo, esses mesmos autores salientam que a preferência por uma fonte de carbono específica pode limitar o crescimento de rizóbios em determinado ambiente onde a mesma está ausente ou em proporções limitadas.



**Figura 3** – Perfil comparativo entre cepas de actinobactérias e rizóbios isoladas de solo rizosférico de leguminosas do Parque Nacional de Ubajara – CE quanto ao crescimento em fontes de carbono.

Os grupos microbianos analisados no presente estudo são provenientes da mesma área e estão submetidos as mesmas condições ambientais, no entanto, como observado na figura 3, as cepas de actinobactérias e rizóbios demonstraram variações quanto a utilização de determinados carboidratos como fontes de carbono.

#### 4 - CONCLUSÃO

As cepas de actinobactérias e rizóbios isoladas de leguminosas do Parque Nacional de Ubajara-Ce apresentaram crescimento em fontes de carbono, contudo, as cepas de actinobactérias demonstraram melhor perfil quando comparadas com as cepas de rizóbios oriundas da mesma região. Essas variações podem representar oscilações na diversidade e abundância desses micro-organismos em ambientes semiáridos.

#### 5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, E. S. *et al.* **Gamma ray induced effects on new species of *Streptomyces* (aefo2) (hm775973.1gi:302495616) isolated from egyptian soil.** International Journal of Bioassays, v.3, n.12, 2014.
- AMSAVENI, R. *et al.* **Screening and isolation of pigment producing Actinomycetes from soil samples.** International Journal of Biosciences and Nanosciences, v.2, n.2, 2015.
- ARAÚJO, A.S.F. *et al.* **Soil microbial properties and temporal stability in degraded and restored lands of Northeast Brazil.** Soil Biology & Biochemistry, v. 66, 2013.

- ARAÚJO, A. S. F. *et al.* **Soil bacterial diversity in degraded and restored lands of Northeast Brazil.** *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 106, 2014.
- AUGUSTINE, D. *et al.* **Actinobacteria from sediment samples of Arabian Sea and Bay of Bengal: Biochemical and physiological characterization.** *International Journal of Research in Marine Sciences*, v. 2, n.2, 2013.
- BUNDALE, S. *et al.* **Optimization of culture conditions for production of bioactive metabolites by *Streptomyces spp.* isolated from soil.** *Advances in Microbiology*, v. 5, 2015.
- ELZANATY, A. M. *et al.* **Molecular and biochemical characterization of some Egyptian genotypes *Rhizobium (Vicia Faba)* isolates.** *Bioengineering & Biomedical Science*, v. 5, 2015.
- GANESAN, P. *et al.* **Isolation and molecular characterization of actinomycetes with antimicrobial and mosquito larvicidal properties.** *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. v.6, 2017.
- GORLACH-LIRA, K.; COUTINHO, H. D. M. **Population dynamics and extracellular enzymes activity of mesophilic and thermophilic bacteria isolated from semi-arid soil of northeastern Brazil.** *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 38, 2007.
- HINSINGER, P. *et al.* **Rhizosphere: biophysics, biogeochemistry and ecological relevance.** *Plant Soil*, v. 321, 2009.
- ICMBio. **Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade Parque Nacional de Ubajara**, 2016. <http://www.icmbio.gov.br/parnaubajara/quem-somos.html>. Acesso: 06 jan. 2016.
- JANAKI, T. **Enzymes From Actinomycetes – Review.** *International Journal of ChemTech Research*, v.10, n.2, 2017.
- LAURETTE, N. N. *et al.* **Isolation and screening of indigenous bambara groundnut (*Vigna subterranea*) nodulating bacteria for their tolerance to some environmental stresses.** *American Journal of Microbiological Research*, v. 3, n.2, 2015.
- LIMA, J. V. L. *et al.* **Characterization of actinobacteria from the semiarid region, and their antagonistic effect on strains of rhizobia.** *African Journal of Biotechnology*, v.16, n.2, 2017.
- MARTINS, C. M. *et al.* **Rhizobial diversity from stem and root nodules of *Discolobium* and *Aeschynomene*.** *Acta Scientiarum*. v. 37, n.2, 2015.
- MOHAMED, S. H. *et al.* **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*. v.12, n.19, 2013.
- NAHAR, N. *et al.* **Isolation, identification and molecular characterization of *Rhizobium* species from *Sesbania bispinosa* cultivated in Bangladesh.** *African Journal of Agricultural Research*, v.12. n.22, 2017.
- PINHEIRO, M. S. *et al.* **Isolation and screening of rhizobial strains native from semiarid tolerant to environmental stress.** *Enciclopédia Biosfera*, v.10, n.18, 2014.
- PRASHAR, P. *et al.* **Rhizosphere: its structure, bacterial diversity and significance.** *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*. v.13, 2014.
- SHANKAR, S. S. V.; SUNEETHA, V. **Analysis of soil fertilizing capabilities, growth and enzyme production statistics for symbiotic nitrogen fixing bacteria Vitss5 screened from palar region, vellore.** *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. v.4, n.2, 2013.
- SHIRLING, E. B.; GOTTLIEB, D. **Methods for characterization of *Streptomyces* species.** *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. v 16, 1966.
- SIMON, Z. *et al.* **Isolation and characterization of nitrogen fixing rhizobia from cultivated and uncultivated soils of northern Tanzania.** *American Journal of Plant Sciences*. v.5, 2014.
- TSEGAYE, D. *et al.* **Nutritional, eco-physiological and symbiotic characteristics of rhizobia nodulating faba bean (*Vicia faba* L.) collected from acidic soils of Ethiopia.** *African Journal of Environmental Science and Technology*. v.9, n.7, 2015.