

## DENSIDADE POPULACIONAL E CARACTERIZAÇÃO CROMOGÊNICA DE ACTINOBACTÉRIAS DO SEMIÁRIDO

Liviano Cruz dos Santos (1); Franciandro Dantas dos Santos (1); Suzana Claudia Silveira Martins (2); Claudia Miranda Martins (2)

*1*Estudante do curso de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal do Ceará  
[santos.bio.79@gmail.com](mailto:santos.bio.79@gmail.com) *1* [androdsantos@gmail.com](mailto:androdsantos@gmail.com) *2* Professora Doutora do Departamento de Biologia da  
Universidade Federal do Ceará *2* [suzana220@gmail.com](mailto:suzana220@gmail.com) *2* [claudia.miranda.martins@gmail.com](mailto:claudia.miranda.martins@gmail.com)

### Introdução

Actinobactérias são bactérias caracterizadas como aeróbias ou microaerófilas, porém espécies anaeróbias também são reconhecidas (Embley; Stackebrandt, 1994); são Gram-positivas com elevada concentração de guanina e citosina no DNA (Sharna; David, 2012; Ventura *et al.*, 2007; Cwala; Igbinsosa; Okon, 2011; Rao *et al.*, 2012). São abundantes na natureza e dispersos em diversos ambientes, sendo o solo seu hábitat principal, onde são importantes componentes da comunidade microbiana (El-Tarabily; Sivasithamparam, 2006; Jayasinghe; Parkinson, 2008).

A quantificação de actinobactérias cultiváveis do solo é uma das formas de avaliar as alterações nessa comunidade, que é modificada pelos processos de uso do solo e, por isso, utilizada como indicador do impacto de diferentes atividades antrópicas (Previatiet *al.*, 2012). A diversidade cromogênica também é um critério indicativo dessas alterações.

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

Estudos apontam a presença de actinobactérias em solo de região semiárida (Lins; Araújo, 2011; Lima *et al.*, 2014; Lima *et al.*, 2017). Entretanto, a diversidade de actinobactérias no solo e suas respostas às perturbações que ocorrem nesse ambiente são pouco conhecidas (Barkaet *al.*, 2016; Moreira e Siqueira, 2006).

As queimadas submetem o solo e a comunidade edáfica a um regime crítico de estresse. Ainda que o fogo cause o aumento do pH do solo, diminuição na matéria orgânica e da concentração de ferro (FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2017), pesquisas indicam a predominância de actinobactérias após incêndios em áreas florestais (RODRÍGUEZ *et al.*, 2014;

FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2017). Porém, as condições para estabelecimento e crescimento de populações microbianas nos solos do semiárido após a ocorrência de queimadas são pouco conhecidos.

Nesse contexto, objetivou-se avaliar o efeito do fogo sobre a abundância e diversidade cromogênica de actinobactérias isoladas de uma região antes e depois da ação do fogo.

## **Metodologia**

Foram utilizadas amostras de solo cedidas pelo Centro Nacional de Prevenção e Combate a Incêndios Florestais (Prevfogo) procedentes da área da Fazenda Normal, localizada no município de Quixeramobim no Estado do Ceará (5°07'12,1" S e 39°10'33,3" W.). A coleta foi realizada em 1 ha de área, isolada por um faixa de 3 metros sem vegetação em dois períodos, antes do fogo e depois do fogo, numa profundidade de 0-20 cm.

Na etapa de isolamento e quantificação, as amostras de solo foram homogeneizadas, pesadas (15 g) e transferidas para frascos contendo 135 mL de solução salina estéril a 0,85%. Esses frascos foram submetidos à agitação em mesa orbital a 145 g durante 30 minutos, resultando na diluição  $10^{-1}$ , utilizada para a obtenção das diluições de  $10^{-2}$  a  $10^{-4}$ . Depois da diluição seriada, alíquotas de 100µL de cada diluição, foram semeadas, através da técnica de espalhamento em superfície em placas com meio de cultura CDA (Caseinato-Dextrose-Ágar) (Clark, 1965). Em seguida, as placas foram incubadas a 28 °C em B.O.D., durante sete dias. Após esse período, as colônias foram quantificadas e o resultado expresso em Unidade formadora de colônias por grama (Log UFC.g<sup>-1</sup>). As colônias com características diferentes foram selecionadas e reisoladas no mesmo meio seletivo CDA para actinobactérias.

Para a coloração de Gram, utilizou-se uma lâmina, contendo uma gota de cada isolado de actinobactéria ressuspensa e, com o auxílio de uma alça de inoculação, foi feito um esfregaço, que depois de seco e fixado na chama, foi coberto durante 1 minuto com solução de cristal violeta. Em seguida, utilizou-se lugol, água corrente e álcool 95° GL para lavagem do esfregaço, que por fim, foi coberto com solução de fucsina básica por 30 segundos. As lâminas foram visualizadas em microscópio óptico a um aumento de 1000x.

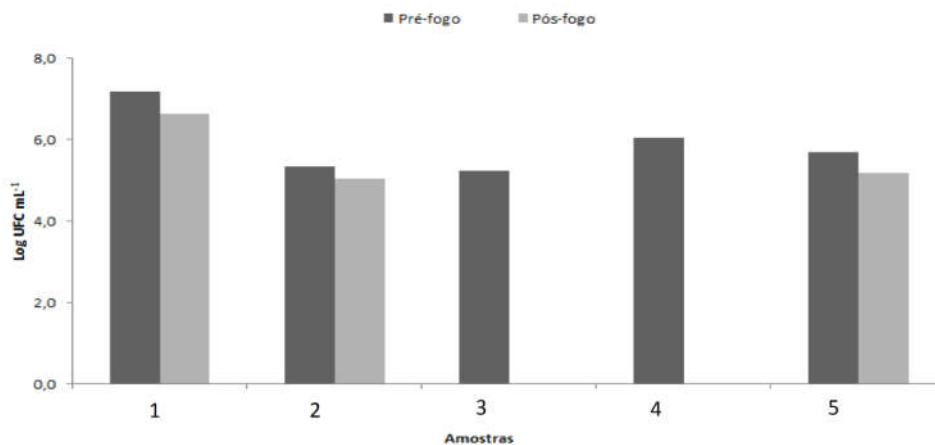
Cada cepa foi inoculada por estrias em placas de Petri, após purificação, contendo o meio seletivo CDA para actinobactérias. Em seguida as placas foram incubadas em estufa B.O.D a  $28 \pm 2$  °C por 7 dias. Na descrição das características culturais foram avaliadas as cores do micélio aéreo e

reverso das colônias conforme descrito por Wink (2012), baseada na carta de cores (RAL color charts).

## Resultados e Discussão

A diversidade de coloração observada no micélio aéreo e reverso permitiu a obtenção de 30 cepas com características distintas e todas após a coloração de Gram confirmaram o caráter Gram-positivo de actinobactérias.

A densidade das populações de actinobactérias foi maior nas amostras de solo coletadas antes do fogo (Figura 1). A amostra de solo 06 (pré-fogo) apresentou a maior densidade populacional de actinobactérias com  $1,46 \times 10^7$  log (UFC.g<sup>-1</sup>). Por outro lado, não se observou crescimento nas amostras 08 e 09, coletadas depois do fogo. Para Redinet *al.* (2011), isso pode estar relacionado a uma maior quantidade de recursos no ambiente, evidenciando a influência do fogo sobre essa microbiota. Pode-se constatar que as queimadas diminuíram populações de actinobactérias. De acordo com Assad (1996), a ação do fogo causa a redução da matéria orgânica, tendo como resultado a diminuição das populações microbianas do solo. Além disso, Fernández-González *et al.*, (2017) relatam que após um incêndio florestal, as comunidades microbianas têm uma alteração transitória em sua composição.

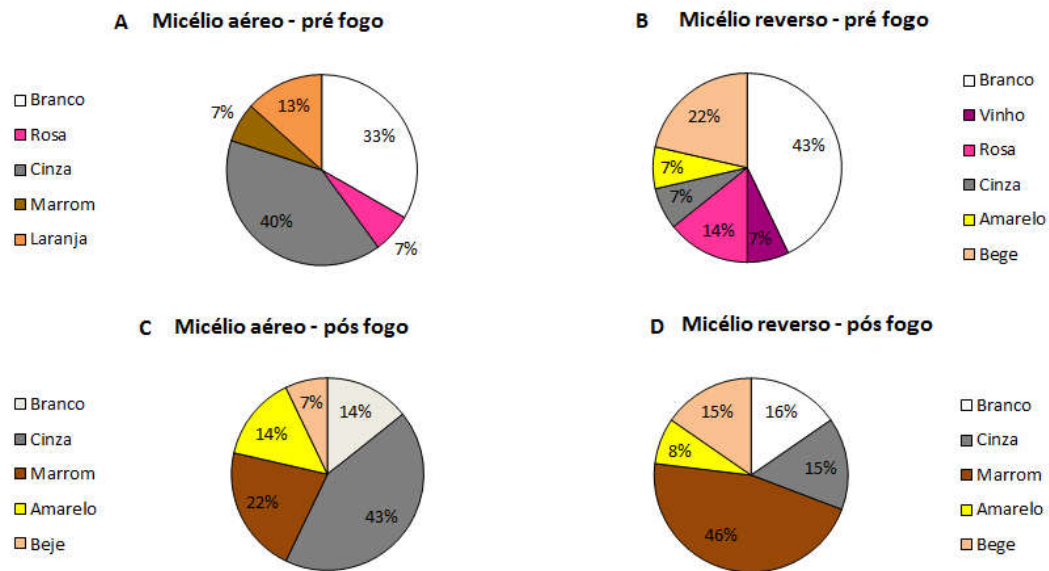


**Figura 1. População de actinobactérias em logaritmo da Unidade Formadora de Colônias por mililitro (UFC mL<sup>-1</sup>) em solo procedente de região semiárida de Quixeramobim-CE.**

As cepas de actinobactérias apresentaram características diversas em relação às cores do micélio aéreo e reverso, tanto antes como após o fogo (Figura 2). Observou-se que das 30 cepas obtidas, as cores predominantes na massa aérea antes do fogo foram cinza (40%), branco (33%) e

laranja (13%) e apenas 7% de colônias com as cores rosa e marrom. Depois que o solo submetido a ação do fogo, as cores que prevaleceram foram cinza (43%) e marrom (22%), colônias nas cores amarelo e branco (14%) e apenas 7% de cor bege.

Já o pigmento do micélio reverso antes do fogo teve destaque para a coloração branca (43%), bege (22%) e rosa (14%) e colônias nas cores amarela, cinza e vinho (7%) e laranja (1,6%) apresentaram um menor percentual. No tratamento pós fogo, as cores predominantes foram marrom (46%) e branco (16%), para as cores bege e cinza (15%) e apenas 8% de cor amarela.



**Figura 2: Distribuição de cores nos micélios aéreo e reverso de actinobactérias em solo procedente de região semiárida de Quixeramobim – CE.**

A observação de cores da massa do micélio aéreo e lado reverso é um dos primeiros métodos usados para distinção de isolados. Neste trabalho, as cores branco, cinza e marrom foram predominantes de forma similar 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.

Após o fogo, a cor marrom (46%) apresentou maior predominância em relação às demais. Esse fato pode ter ocorrido em decorrência das cepas com essa característica serem mais resistentes e conseguirem se proliferar perante altas temperaturas, visto que a ação do fogo causou um aumento na temperatura do solo.

## Conclusões

A diversidade cromogênica dos micélios aéreos foi maior depois da ação do fogo. Por outro lado, os micélios reversos apresentaram menor diversidade de cores antes da queimada. Ademais, o fogo reduziu a densidade populacional de actinobactérias, uma vez que as populações microbianas dessa classe foram maiores nas amostras coletadas antes da queimada.

## Referências

- 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, 2011.
- ARAÚJO, S. M. S. **A região semiárida do nordeste do Brasil: Questões ambientais e possibilidades de uso sustentável dos recursos.** *Revista Eletrônica-Revista Científica da FASETE*, 5, 2011.
- ASSAD, M.L.R.C.L. Recursos biológicos: ocorrência e viabilidade. In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO, 8., INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TROPICAL SAVANNAS. 1. Brasília. Anais / Proceedings. Planaltina, DF :Embrapa-CPAC, 1996. p.20-24
- CLARK, F. E. Actinomyces. In: BLACK, C.A. (Ed). **Methods of soil analysis.** Madison. American Society of Agronomy. 1965.
- CWALA, Z.; IGBINOSA, E. O.; OKON. A. I., 2011. **Assessment of antibiotics production potentials in four actinomycetes isolated from aquatic environments of the Eastern Cape Province of South Africa.** *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5: 118-124.
- 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, 2006.
- EMBLEY, T. M.; STACKEBRANDT, E. **The Molecular phylogeny and systematics of the Actinomycetes.** *Annual Review of Microbiology*, v. 48, 1994.
- FÉRNANDEZ-GONZÁLEZ A. J. *et al.* **The rhizosphere microbiome of burned holm-oak: potential role of the genus *Arthrobacter* in the recovery of burned soils.** *Scientific Reports*, v.7, n. 6008, 2017.
- 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, 1999.
- JAYASINGHE, B. A. T. D.; PARKINSON, D. **Actinomycetes as antagonists of litter decomposer fungi.** *Applied Soil Ecology*, v.38, 2008.
- LIMA, J. V. L. *et al.* **Populações microbianas cultiváveis do solo e serrapilheira de uma unidade de conservação no semiárido brasileiro.** *Enciclopédia Biosfera*, v. 10, 2014.
- 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, 2017.
- LINS, C. V.; ARAÚJO J. M. 2011. Isolamento de actinobactérias da rizosfera de plantas nativas da caatinga. XIX Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, 1-4
- 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, 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, 1999.
- PREVIATI, R., *et al.* **Isolamento e quantificação das populações da bactérias em geral e de actinomicetos presentes no solo.** Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR, v. 15, 2012.
- RAJA, A.; PRABAKARANA, P. **Actinomycetes and drug-an overview.** American Journal of Drug Discovery and Development, v. 1, 2011.
- RAMOS, K. A.; BRITO, F. A. E.; NUNES, K. J. F.; MARTINS, C. M.; MARTINS, S. C. S. **Characterization and crhomogenic diversity of actinobacteria from undisturbed microbial niche in the caatinga biome.** Enciclopédia Biosfera, v. 11, 2015.
- RAO, K. V. R., *et al.* **Antagonistic activities of actinobacteria from mangrove sediment.** International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, v. 4, 2012.
- REDIN, M. *et al.* **Impactos da queima sobre atributos químicos, físicos e biológicos do solo.** Ciência Florestal, Santa Maria, v. 21, n. 2, 2011.
- RODRÍGUEZ, J. *et al.* **Effect of wildfires on the genetic microbial diversity in forest soils from Canary Islands (Spain).** FLAMMA, v. 5, n.1, 2014.
- SHARMA, S. C. V.; DAVID, EA **comparative study on selected marine actinomycetes from Pulicat, Muttukadu, and Ennore estuaries.** Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2012.
- 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, 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, 1993.
- VENTURA, M., *et al.* **Genomics of Actinobacteria: Tracing the Evolutionary History of an Ancient Phylum.** Microbiology and Molecular Biology Reviews, v. 71, 2007.
- WINK, J. M. **Compendium of actinobacteria.** University of Braunschweig, 2012.
- WOHL, D. L.; MCARTHUR, J. V. **Actinomycete-flora associated with submersed freshwater macrophytes.** FEMS Microbiology Ecology, v. 26, 1998.