

**RESISTÊNCIA DE REPRESENTANTES DOS GÊNEROS *PSEUDOMONAS* SP E
BACILLUS SP MEDIANTE EXPOSIÇÃO À RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA C.**

NATANAEL J.F. **OLIVEIRA** ¹; FERNANDO D.**ANDREOTE** ² ; ITAMAR S. **MELO** ³
LUCIANA A.**AVILA** ³

Nº 0802011

1. Bolsista CNPq: Graduando em Ciências Biológicas, PUC, Campinas-SP, ✉ natandcpn@hotmail.com.
2. Orientador: Pós-Doutorando, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP.
3. Colaborador: Pesquisador, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP.
3. Colaborador: Doutoranda, PPGI biotecnologia USP, São Paulo, SP.

Resumo

As mudanças climáticas causadas pela degradação da camada de ozônio e pelo aumento da emissão de gases causadores do efeito estufa, podem ocasionar alterações não somente aos seres humanos, mamíferos, répteis ou aves, mas também aos microrganismos. Dentro deste contexto, o aumento nos níveis de radiação solar incidente na superfície da Terra pode afetar as interações que ocorrem entre bactérias e plantas, alterando tanto a ocorrência de doenças como as interações benéficas entre estes organismos. Muitos são os gêneros de bactérias que interagem com as plantas, colonizando os mais diferentes nichos presentes neste hospedeiro. Dentre os grupos bacterianos destacam-se os gêneros *Bacillus* sp e *Pseudomonas* sp, que possuem efeitos benéficos como a promoção de crescimento vegetal e a proteção de plantas contra doenças e pragas. Dessa forma, o atual trabalho tem a princípio, como enfoque, constatar a resistência de isolados dos dois gêneros mencionados, à radiação ultravioleta C (200 a 250 nm). Os resultados obtidos demonstram maior resistência da linhagem de *Bacillus* sp à radiação ultravioleta C em comparação à linhagem de *Pseudomonas* sp. fato que possivelmente está relacionado com a capacidade de produzir esporos, característica do gênero *Bacillus*. Este trabalho fornece dados iniciais para futuras avaliações do comportamento destas bactérias quando em interação com plantas e sob maiores níveis de radiação ultravioleta no ambiente.

Abstract

The climatic changes caused by the ozone layer degradation and by the increase of the emission of gases which cause the greenhouse effect, may cause changes not only to human beings, mammals, reptiles or birds, but also to microorganisms. Within this context, the increase of the solar radiation levels that reach the Earth surface may affect the interaction among bacteria and plants, altering both the occurrence of diseases and beneficial interaction between these organisms. The variety of bacteria genders that interact with plants is wide, colonizing the most different niches in these hosts. The genders *Bacillus* sp and *Pseudomonas* sp are outstanding in the context of the bacterial groups due to the beneficial effects they promote, such as vegetable growth and plant protection against plagues and diseases. This article focuses on the resistance of these bacteria cultures to ultraviolet radiation type C (UVC-200-250 nm). The results showed better resistance of *Bacillus* sp. strains compared to *Pseudomonas* sp. This has possibly occurred because *Bacillus* sp strains have the capacity to produce endospores, which is its feature. This

experiment provides initial data for future evaluation of the behavior of these bacteria whenever they interact with plants under higher levels of environmental ultraviolet radiation.

Introdução

A radiação ultravioleta inclui ondas eletromagnéticas que variam de 100-400 nm, sendo divididas em: UVA 315-400 nm, UVB 280-315 nm e UVC 100-280 nm (ALVES, 1989; RAMOS *et al*, 2003). A atmosfera filtra quase toda radiação UV abaixo de 290 nm, entre 70% a 90 % de UVB (RAMOS *et al*, 2003). Com o aumento da emissão de gases nocivos à camada de ozônio, a mesma vêm perdendo sua capacidade de filtrar os raios ultravioletas. Entre as várias substâncias que são apontadas como degradantes da camada de ozônio apenas os CFCs sofrem proibição, enquanto que outros, como tetracloreto de carbono, dióxido de nitrogênio e metilclorofórmio, são amplamente utilizados, sem nenhum tipo de proibição (TOMASONI, M.A&TOMASONI, K.R, 2007). Devido a este fato, a radiação ultravioleta total incidente à superfície terrestre aumenta gradativamente.

A radiação ultravioleta C (UVC) é o tipo mais energético dentre todos os tipos de radiação ultravioleta. Por possuir comprimentos de onda menores se torna a mais penetrante, causando prejuízos de maior gravidade. A UVC tem a capacidade de desestruturar macromoléculas, como lipídeos, proteínas, enzimas e DNA, onde causa mutações, que são em sua maioria, deletérias aos organismos.

Com o aumento na incidência de UVC todos os organismos estão sujeitos a danos, inclusive os microorganismos, que podem não resistir aos altos índices de radiação ou sofrer mutações, em consequência disso às interações que ocorrem entre bactérias e plantas, podem ser alteradas afetando tanto a ocorrência de doenças como as relações benéficas entre plantas e microrganismos. Muitos gêneros bacterianos interagem com as plantas, colonizando os mais diferentes nichos presentes neste hospedeiro. Dentre os grupos bacterianos destacam-se os gêneros *Bacillus* sp e *Pseudomonas* sp, que atuam na suplementação nutricional da planta e na proteção contra agentes externos (VAN LOON *et al.*, 1998).

O gênero *Pseudomonas* compreende organismos muito versáteis metabolicamente, capazes de utilizar uma grande variedade de compostos orgânicos como fonte nutricional. Conseqüentemente, eles estão distribuídos nos diferentes ambientes como solos e água, sendo importantes como patógenos de plantas, animais e humanos, mas com estirpes

relacionadas à promoção de crescimento de plantas e biocontrole de fitopatógenos (LATOURE; LEMANCEAU, 1997). Dentro do gênero das *Pseudomonas*, o maior número das espécies refere-se ao grupo das fluorescentes, que estão envolvidas na conservação do ambiente. A diversidade metabólica das *Pseudomonas* spp. fluorescentes, dá a estas bactérias uma grande habilidade para adaptação a vários ambientes, tais como solo, rizosfera e filoplano das plantas (LATOURE; LEMANCEAU, 1997).

Espécies do gênero *Bacillus* sp. são aeróbias e capazes de produzir estruturas de resistência denominados esporos. Essas estruturas de resistência são altamente tolerantes a diferentes tipos de intempéries. Devido essa resistência os representantes deste gênero, são capazes de colonizar diversos ambientes como o solo, a rizosfera e o filoplano das plantas.

Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a resistência de dois isolados, representando os gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus*, à radiação UVC.

Material e Métodos

As linhagens epifíticas (*Bacillus* sp e *Pseudomonas* sp), provenientes da coleção de cultura do Laboratório de Microbiologia Ambiental da Embrapa Meio Ambiente, foram isoladas da planta *Laguncularia* sp, uma espécie característica de manguezais.

O cultivo destes isolados foi feito em meio de cultura sólido TSBA 10%. Após 24 horas de cultivo, as bactérias foram transferidas para meio TSB 10% líquido, onde se desenvolveram por 24 horas a 25°C sob agitação de 165 rpm. Para a exposição à radiação ultravioleta C (UVC), suspensões celulares foram colocadas em placa de Petri e então expostas à radiação UVC. Na irradiação, os comprimentos de onda variaram entre 200 e 250nm, com a luz emissora localizada a 12 cm de distância da suspensão celular (Irradiador Mineralight, Ultraviolet Products inc.). A suspensão celular foi irradiada pelos períodos de 5,30,60, 120 e 240s. A cada intervalo de tempo foram amostrados 500 µL da cultura bacteriana irradiada, posteriormente utilizadas na contagem por cultivo. A partir de cada amostra, diluições seriadas foram realizadas (10^{-1} a 10^{-4}) e semeadas em placas de cultivo contendo meio TSBA 10%. Após 24 horas foi realizada a contagem do número de colônias, e estimada a concentração de células bacterianas vivas em cada mL da suspensão irradiada. Como controle foram utilizadas amostras não submetidas à radiação (T=0). Para cada tratamento foram realizadas 2 repetições.

Os dados obtidos foram utilizados para análise de regressão, evidenciando a resistência dos isolados bacterianos em função do tempo de exposição à radiação UVC.

Resultados e Discussão

Os resultados mostraram que ambos os isolados avaliados são sensíveis à irradiação UVC, evidenciando o efeito deste fator sobre bactérias associadas às plantas. No entanto, diferenças puderam ser observadas em relação ao desenvolvimento e resistência dos representantes dos grupos avaliados. Primeiramente, a suspensão inicial de *Bacillus* sp. Mostrou ter uma densidade de células menor do que a suspensão de *Pseudomonas* sp. (Figura 1). Isto se deve a fatores como diferenças no desenvolvimento destas espécies e tamanho das células, o que pode limitar o número de células encontradas em 1 mL de cultura. Estes fatores devem ser avaliados no prosseguimento do presente projeto.

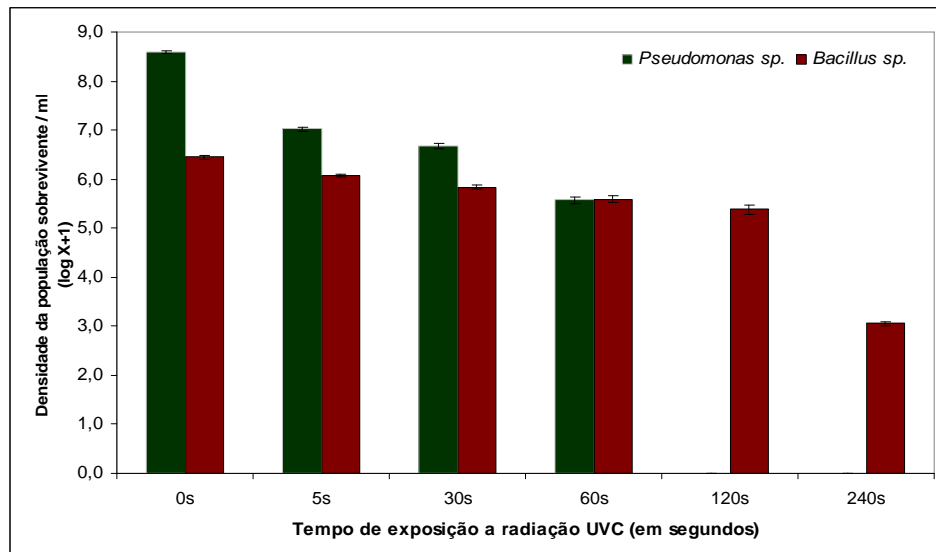


FIGURA 1. Gráfico comparativo das densidades da população sobrevivente à radiação UVC por ml entre representantes dos gêneros *Pseudomonas* sp e *Bacillus* sp.

Considerando a resistência dos isolados, a linhagem de *Bacillus* sp. apresentou um menor índice de mortalidade quando submetida à radiação UVC, em todos os intervalos de tempo (Figura 2). Foi observado que o decréscimo da densidade populacional de *Bacillus* sp ocorreu gradativamente, variando logarithmicamente de 6,45 a 3,05, nos tempos de 0 a 240 s, respectivamente (Figura 1). É importante destacar que em 5 segundos a taxa de mortalidade em *Bacillus* sp foi próxima de 60% (figura2A.). Analisando de maneira similar o

comportamento da linhagem de *Pseudomonas* sp., uma taxa de mortalidade mais abrupta é observada, com mortalidade total em 60 segundos e densidade populacional variando em valores log de 8,58 a 0,00 (figura1.), sendo que nos primeiros 5 segundos de exposição 98% da população foi morta (figura2B).

As análises de regressão dos dados obtidos mostraram valores confiáveis para representação matemática do modelo biológico de resistência bacteriana à radiação UVC. Valores de R^2 de 0,94 e 0,80 foram obtidos para os isolados de *Bacillus* sp. e *Pseudomonas* sp., respectivamente (Figura 2). Valores maiores obtidos para *Bacillus* se devem ao maior número de pontos no intervalo entre 100 e 0%. Dessa forma, o fato da rápida mortalidade das células de *Pseudomonas* sp. levou ao menor valor de R^2 . A utilização de menores intervalos de tempo de exposição, como 1, 2, 3 e 4s devem auxiliar para obtenção de maiores valores de correlação.

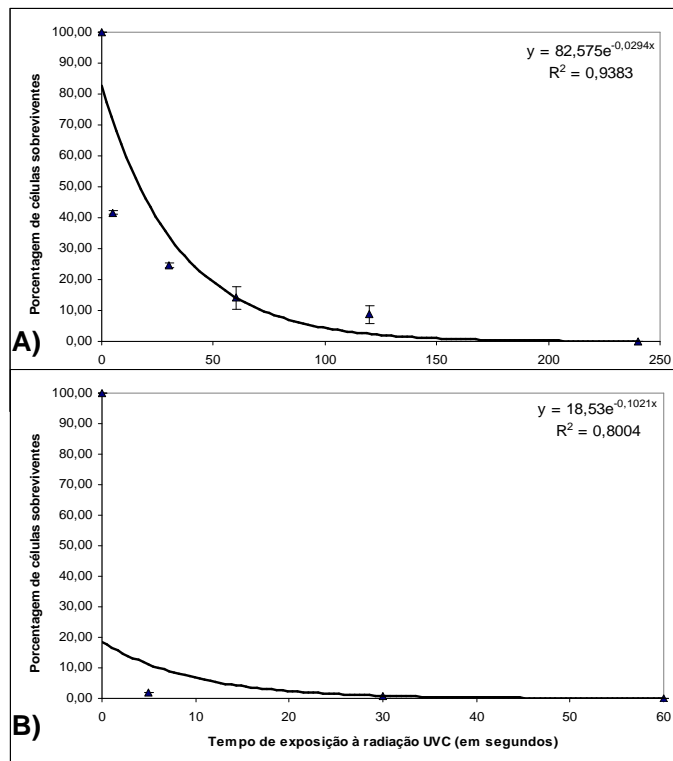


FIGURA 2. Curvas de tendência expressando a porcentagem de células Sobreviventes (UFC / ml) à radiação UVC em representantes de A) *Bacillus* sp.e B) *Pseudomonas* sp.

O decréscimo menos abrupto da população de *Bacillus* sp mostra que esse gênero é menos susceptível à radiação UVC, podendo este fato estar relacionado à sua capacidade de formar esporos.

Conclusão

A linhagem de *Bacillus* sp possui maior resistência à radiação ultravioleta C, do que a linhagem de *Pseudomonas* sp.

Referências Bibliográficas*

ALVES, M.A.S. Energia radiante. In: Alves AA. **Refração**. Rio de Janeiro: Cultura Médica; 1989. p.3-7.

LATOURE, X. LEMANCEAU, P. Carbon and energy metabolism of oxidase-positive saprophytic fluorescent *Pseudomonas* spp. **Agronomie**, v. 17, p. 427-443, 1997.

MELO, I.S; FAULL, J.L. Tombamento de plântulas e controle biológico de *Rhizoctonia solani* e *Pythium* spp. In: Melo, I.S; Azevedo J, L. **Controle biológico**, v2, Jaguariúna, SP: Embrapa, 2000, p 237-262.

RAMOS, L.F.F *et al*. Espectrofotometria de lentes oftálmicas filtrantes coloridas sob radiação ultravioleta e luz visível. **Arq Bras Oftalmol**, v.66, p.333-337,2003.

TOMASONI, M.A & TOMASONI, K.R. Atmosfera em transformação: o ozônio e os CFCs, certezas e incertezas. (online). Disponível em : <http://www.geoambiente.ufba.br/OZONIO.pdf>
Acesso em: 03 de junho de 2008

*De acordo:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.