



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

CAIO IRVIN DA SILVA FORTE

**RESISTÊNCIA INTRÍNSECA A ANTIBIÓTICOS DE CEPAS DE
ACTINOBACTÉRIAS ISOLADAS DE SOLO SOB DIFERENTES USOS NO
MUNICÍPIO DE UBAJARA**

FORTALEZA

2022

CAIO IRVIN DA SILVA FORTE

RESISTÊNCIA INTRÍNSECA A ANTIBIÓTICOS DE CEPAS DE ACTINOBACTÉRIAS
ISOLADAS DE SOLO SOB DIFERENTES USOS NO MUNICÍPIO DE UBAJARA

Monografia apresentada ao curso de ciências biológicas da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr^a. Claudia Miranda Martins

Coorientador: Dr. Fernando Gouveia Cavalcante

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F841r Forte, Caio Irvin da Silva.
Resistência intrínseca a antibióticos de cepas de actinobactérias isoladas de solo sob diferentes usos no Município de Ubajara / Caio Irvin da Silva Forte. – 2022.
30 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2022.

Orientação: Profa. Dra. Claudia Miranda Martins.

Coorientação: Prof. Dr. Fernando Gouveia Cavalcante.

1. Streptomyces. 2. Agricultura familiar. 3. Ecossistema. 4. Metabólito secundário. I. Título.

CDD 570

CAIO IRVIN DA SILVA FORTE

RESISTÊNCIA INTRÍNSECA A ANTIBIÓTICOS DE CEPAS DE ACTINOBACTÉRIAS
ISOLADAS DE SOLO SOB DIFERENTES USOS NO MUNICÍPIO DE UBAJARA

Monografia apresentada ao curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal do Ceará,
como requisito à obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr^a. Claudia Miranda Martins

Coorientador: Dr. Fernando Gouveia
Cavalcante

Aprovada em: 08/12/2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr^a. Claudia Miranda Martins (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Fernando Gouveia Cavalcante
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Me. Leonardo Lima Bandeira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

A Erilene Ribeiro da Silva e Marcia Cristina de Sousa Lima, se não fosse pelo o empenho de minha querida irmã e amada companheira esse trabalho jamais seria possível, obrigado pela paciência durante todos esses anos.

Agradeço a minha mãe Edilene Otávio da Silva, a minha Avó Edileusa Otávio da Silva e ao meu falecido avô que me criou como se fosse seu amado filho, o senhor Francisco Lucio Ribeiro da Silva, o apoio disponibilizado por vocês permitiu que eu chegasse até aqui.

À Prof. Dr^a. Suzana Cláudia Silveira Martins, pela excelente orientação e por toda a paciência que disponibilizou para me ajudar.

À Prof. Dr^a. Claudia Miranda Martins, por gerir juntamente com a professora Suzana o laboratório de microbiologia ambiental LAMAB.

Ao Fernando Gouveia, que me ajudou a não apenas selecionar o tema deste trabalho, mas também por ter sido aquele me ajudou a montar os experimentos a serem executados e ter sido meu coorientador tirando todas as dúvidas que surgiam enquanto da relatoria dessa monografia.

Ao Leonardo, por seu apoio e auxílio durante toda a execução deste experimento se não fosse por esse apoio eu não teria conseguido.

À Maria Yasmim Araujo da Costa que me ajudou com o que pode durante toda execução do experimento e por sua amizade.

A todo o pessoal que está todos os dias no LAMB, seu auxílio foi essencial para que esse trabalho acontecesse.

À professora Dr^a Vânia Maria Maciel Melo, por ter despertado em mim o interesse pela microbiologia durante minha formação, e pelas oportunidades que me proporcionou na época que atuei como monitor de microbiologia geral.

À Universidade Federal do Ceará e os projetos de continuidade estudantil, se não fossem as bolsas de iniciação academia BIA, e de Iniciação a Docência eu não teria sido capaz de me manter na universidade até agora.

Ao ICMBIO e a CAPES por permitirem a coleta do material, somada a o aporte financeiro para o campo onde foram coletadas as amostras de solo de onde vieram as bactérias desse trabalho.

Aos agricultores que permitiram a entrada em suas propriedades para que a coleta das amostras de solo fosse possível, sendo essenciais para o avanço da ciência brasileira.

RESUMO

Actinobactérias são bactérias comumente encontradas no solo, na água e em associação com espécies animais e vegetais, desempenhando um importante papel nos ecossistemas. Essas associações com diversos grupos de organismos vivos e sua dispersão global são facilitadas pelas suas amplas capacidades de produção de metabólitos secundários. Dentre esses metabólitos a produção de enzimas hidrolíticas possui uma importante função na ciclagem de nutrientes no ambiente, já que podem, por exemplo, degradar celulose, pectinas e amido. Também é bastante conhecida como subproduto desse metabolismo secundário a produção de antibióticos e antifúngicos, que podem ser benéfico para o ecossistema garantindo um maior equilíbrio nas interações interespecíficas. Em ambientes mais antropizados é bastante comum que actinobactérias apresentem uma maior resistência a antibióticos já que estas apresentam uma maior produção a antibióticos, decorrente da sua resposta ao estresse ambiental da ação antrópica. O presente trabalho busca investigar como o uso da terra afeta o padrão de resistência intrínseca a antibióticos de cepas de actinobactérias isoladas de solo sob diferentes usos no município de Ubajara. As amostras de solo foram coletadas de oito parcelas amostrais com quatro delas sendo de dentro da Unidade de Conservação (Parque Nacional de Ubajara) e quatro nas áreas de plantio do entorno da UC. A análise se deu através da técnica de antibiograma por difusão de disco. Foram utilizadas um total de 24 cepas escolhidas ao acaso, sendo 12 cepas pertencentes a área preservada e 12 pertencentes as áreas de plantio. Foram utilizados os seguintes antibióticos: Clindamicina, Gentamicina, Levofloxacina, Nitrofurantoina, Oxacilina, Sulfotrim (Cotrimoxazol), Eritromicina, Penicilina G, Rimfampicina, Teicoplanina, Cefoxitina, Linezoalida. A análise dos dados mostrou que a resistência intrínseca a antibióticos varia em função do uso do solo apresentando uma maior resistência intrínseca das cepas nas áreas de plantio quando comparadas com as cepas da Unidade de Conservação.

Palavras-chave: *Streptomyces*; Agricultura familiar; Ecossistema; Metabólito secundário

ABSTRACT

Actinobacteria are bacteria commonly found in soil, water and in association with animal and plant species, playing an important role in ecosystems (VAN DER MEIJ et al., 2017). These associations with diverse groups of living organisms and their global dispersion are facilitated by their broad secondary metabolite production capacities. Its metabolite production encompasses both enzymatic production that has an important function in the cycling of nutrients in the environment in which they are part, since its enzymes can, for example, degrade cellulose, pectins and starch. The production of antibiotics and antifungals is also well known as a by-product of this secondary metabolism, which may be used by the ecosystem in order to guarantee a greater balance in interspecific relationships, since plants and animals are able to benefit from this production, thus favoring the very beneficial association with actinobacteria. In more anthropized environments, it is quite common for actinobacteria to show greater resistance to antibiotics, since they have a greater production of antibiotics, as a result of being responding to the environmental stress of anthropic action. The present work seeks to investigate whether there is a difference in the intrinsic resistance to antibiotics in strains isolated from the Ubajara National Park, when compared to strains isolated in plantation areas around the park. Soil samples were collected from 8 points with 4 of them being inside the national park and 4 from surrounding planting areas. The analysis was carried out using the disc diffusion antibiogram technique, a total of 24 strains chosen by lot were used, 12 strains belonging to the preserved area and 12 belonging to the planting areas around the park. A total of 12 antibiotics Clindamycin, Gentamicin, Levofloxacin, Nitrofurantoin, Oxacillin, Sulfotrim (Cotrimoxazole), Erythromycin, Penicillin G, Rimfampicin, Teicoplanin, Cefoxitin, Linezoalid were used. Data analysis showed that there is indeed a variation between resistances, with those from planting areas around the park showing greater intrinsic resistance to antibiotics when compared to strains from the park's preservation area. This is probably due to the anthropic action present in the planting areas around the national park.

Keywords: *Streptomyces*; Family farming; Ecosystem; Secondary metabolite

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	3
2	REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1	Actinobactérias.....	5
2.2	Antibióticos.....	6
2.3	Resistência Intrínseca.....	7
2.4	Solo de Ubajara.....	8
3	OBJETIVOS.....	9
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	10
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
6	CONCLUSÃO	19
	AGRADECIMENTOS.....	20
	REFERÊNCIAS.....	21
	APÊNDICE A - UTILIZAÇÃO DO MATERIAL TRABALHANDO NOS TESTES DA RESISTÊNCIA INTRINSECA A ANTIBIÓTICOS EM SALA DE AULA.....	26

1 INTRODUÇÃO

As actinobactérias, principalmente as pertencentes ao gênero *Streptomyces* são uma das mais importantes produtoras de antibióticos conhecidas, produzindo mais de 50% dos mais de 23.000 bioativos produzidos no mundo hoje (AMARESAN *et al.*, 2020).

Podemos citar entre eles uma gama bastante diversa de antibióticos, antifúngicos, herbicidas e pesticidas. Tais características permitem com que sejam um dos filos de bactérias mais diversos presente no solo, apresentando uma ampla distribuição. Apresentam também elevada capacidade de processar os macro e micro nutrientes do solo com eficiência atuando como fixadores de nitrogênio e solubilizadores de fosfato (SHANTHI, 2021).

Por serem produtoras de antibióticos, as actinobactérias possuem uma resistência intrínseca a antibióticos que se trata de uma resistência previamente presente nas populações bacterianas. Geralmente a resistência intrínseca confere as bactérias resistências a antibióticos presentes no ambiente, como também aqueles que são produzidos por elas mesmas (SANTANA *et al.*, 2012).

É provável que este fator de resistência intrínseca advenha da dinâmica ambiental de competição interespecífica, onde os organismos competem entre si para obtenção de recursos, essa competição também mantém o ambiente mais diverso, impedindo que uma espécie bacteriana acabe por se tornar dominante evitando uma perda significativa da biodiversidade (ZHAO *et al.*, 2019).

Como as actinobactérias estão presentes no solo é provável que a resistência intrínseca apresentada por elas esteja sendo afetada pela ação antrópica no solo (PETERSON; KAUR, 2018). Esse aumento na resistência intrínseca de actinobactérias pode acabar gerando um efeito cascata, gerando uma comunidade de bactérias no solo de áreas de plantio mais resistentes a antibióticos quando comparadas a cepas de áreas de preservação natural.

Com o tempo essa maior resistência pode acabar sendo carreada de um ponto a outro pelo vento, água, ou animais como insetos e pássaros, gerando impactos na diversidade microbiana presente em áreas de preservação ambiental como perda da diversidade microbiana e problemas na ciclagem de nutrientes no solo (CYCOÑ; MROZIK; PIOTROWSKA-SEGET, 2019).

Os solos do semiárido brasileiro são em sua maioria pobres em termos mineralógicos e apresentam uma baixa capacidade de fixação de carbono orgânico. Isso se deve a baixa precipitação e alto intemperismo presente na região (CORRÊA *et al.*, 2019). No entanto, mesmo nas condições adversas locais, existe uma imensa diversidade de espécies na

microbiota oriunda do solo dessa região e muitas actinobactérias estão associadas com plantas da caatinga (MOURA *et al.*, 2021).

Isso se deve as características das actinobactérias de produção de biocompostos e fixação de nutrientes sendo bastante esperado apresentarem diversas formas de resistência intrínseca, como por exemplo à beta-lactâmicos, glicopeptídeos e aminoglicosídeos (FATAHI-BAFGHI, 2019).

Diante do exposto, a resistência intrínseca de actinobactérias parece estar diretamente associada a fatores ambientais (KALTENPOTH, 2009). A resistência intrínseca bacteriana também apresenta um papel ecológico favorecendo insetos e plantas em suas capacidades de lidar com infecções além de impulsionar a disponibilidade de macro e micronutrientes do solo, especialmente carbono e nitrogênio. (VAN DER MEIJ *et al.*, 2017). Dessa forma a resistência intrínseca parece ser bastante favorável à diversidade microbiana bem como na qualidade do solo (BALD *et al.*, 2021).

2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1 Actinobactérias

Actinobactéria é o nome dado a o filo de bactérias gram-positivas e filamentosas, devido a serem muito semelhantes a fungos, foram inseridas no reino Fungi, sendo posteriormente classificadas como pertencentes ao domínio bactéria. As actinobactérias possuem grandes concentrações dos ácidos nucleicos citosina e guanina, sendo geralmente encontradas principalmente no solo, mas também estão presentes na água, em associação com fungos e outras bactérias (AMARESAN *et al.*, 2020).

Os gêneros do filo das actinobactérias mais presentes no solo são *Streptomyces*, o mais abundante, seguido de *Microbispora*, *Micromonospora*, *Nocardia*, *Nonomurea*, *Mycobacterium*, *Frankia*, *Actinoplanes*, *Saccharopolyspora*, e *Verrucosispora* (SATHYA; VIJAYABHARATHI; GOPALAKRISHNAN, 2017).

As actinobactérias são conhecidas por sua capacidade produtora de metabólitos secundários muito úteis aos mais diversos fins. Um de seus principais usos atualmente concentra-se na indústria farmacêutica e na agricultura e as bactérias do gênero *Streptomyces* são conhecidas como os maiores produtores de antibióticos (ANANDAN; DHARUMADURAI; MANOGARAN, 2016).

As principais famílias de antibióticos produzidas por actinobactérias são as dos aminoglicosídeos, peptídeos, ansamicinas, β -lactâmicos, tetraciclina, macrolídeos, lincosamidas, epóxidos e aminocumarinas (DE SIMEIS; SERRA, 2021). Tanta produção de compostos é provavelmente por conta da forma como essas bactérias evoluíram. Por estarem bastante associadas a plantas e ao solo, elas competem muito por espaço sendo isso responsável pela síntese de das várias famílias de antibióticos (VAN DER MEIJ *et al.*, 2017).

As actinobactérias também são produtoras conhecidas de outros biocompostos, pelo menos 50% dos biocompostos identificados e utilizados pela humanidade advém de actinobactérias (SHANTHI, 2021). No solo elas ainda podem atuar como na rizobactérias promotoras do crescimento vegetal, impactando positivamente no crescimento vegetal, auxiliando na produção de fitohormônios, podendo aumentar a produção primária líquida (CAVALCANTE *et al.*, 2022).

2.2 Antibióticos

Os antibióticos foram uma das maiores revoluções científicas do século XX. Um dos primeiros dos antibióticos naturais foi a Penicilina descoberta pelo britânico Alexander Fleming em 1928, que recebeu esse nome por conta do fungo *Penicillium notatum*. Tal descoberta teve um importante impacto social e econômico, favorecendo pesquisas e identificação de outros antibióticos (PEREIRA; PITA, 2018).

Desde então, uma grande quantidade de classes de antibióticos foi sistematicamente sendo descoberta. A maioria deles deriva de metabólitos secundários de actinobactérias, de um total de 14 famílias (HUTCHINGS; TRUMAN; WILKINSON, 2019).

Os antibióticos são separados em classes que variam de acordo com seu mecanismo de ação. Os que atuam direcionados a parede celular pertencem a classe dos beta-lactâmicos e dos glicopeptídeos. Existem aqueles que atuam inibindo a síntese de proteínas, especificamente da subunidade ribossômica 30s podendo citar os aminoglicosídeos e tetraciclina. Também existem os capazes de inibir a síntese de proteínas da subunidade 50s como o cloranfenicol, os macrolídeos e as oxazolidinona. Assim como existem aquelas que podem inibir a síntese de ácido fólico como as sulfonamidas e o trimetropim (KAPOOR; et al. 2017).

2.3 Resistência intrínseca a antibióticos

Resistência intrínseca a antibióticos é a capacidade da bactéria de resistir a determinadas classes de antibióticos, independente de aquisições por meios externos, como transferência horizontal ou por exposição a determinadas substâncias (COX; WRIGHT, 2013).

Também existe a resistência adquirida que se trata da resistência que a população bacteriana adquire quando é exposta repetidamente a um agente antimicrobiano, no caso os antibióticos. Geralmente ela está atrelada a genes que são transferidos de uma bactéria para outra por meio de transferência horizontal de genes o que pode facilitar o surgimento de múltiplas resistências em bactérias até então sensíveis (JIANG *et al.*, 2017).

A resistência intrínseca está intimamente ligada a questões genéticas dos próprios microrganismos e elementos como plasmídeos, *transposons*, e *integrons* são os trechos de DNA que codificam a resistência aos antibióticos (COELHO *et al.*, 2022). Dessa forma é muito provável que a resistência intrínseca a antimicrobianos seja muito mais antiga do que a utilização atual de antibióticos que teve início no século XX, sendo atribuída, principalmente,

à seleção natural, por conta da competição por recursos (BHULLAR *et al.*, 2012; VAN DER MEIJ *et al.*, 2017).

Os plasmídeos são fragmentos de DNA circular, que desempenham um papel central na evolução bacteriana. Servindo como elemento de transferência, os plasmídeos disseminam características de interesse de uma bactéria para outra, não sendo necessariamente pertencentes a mesma espécie. Isso aumenta as chances da bactéria de sucesso reprodutivo por conta do compartilhamento de caracteres de interesse geralmente associados a resistência a antibióticos (RODRÍGUEZ-BELTRÁN *et al.*, 2021).

Os *transposons* são elementos genéticos capazes de realizar saltos entre diferentes partes do genoma, movimentando-se pela estrutura do DNA. Eles podem ser divididos em duas classes, no entanto, os *transposons* de DNA podem ser encontrados apenas em procariotos. Eles geralmente são os responsáveis pela transferência de genes de resistência de um plasmídeo para outro, transferindo a resistência de uma bactéria para outra (BABAKHANI; OLOOMI, 2018).

Já os *integrons* são sequências de DNA que apresentam três componentes, uma integrase, um promotor e um sítio de recombinação. Os *integrons* carregam fatores como a resistência a antimicrobianos. O tipo mais comum que carrega essas resistências são os de classe 1, classe 2 e classe 3. Dessa forma os *integrons* são mecanismos genéticos que se aproveitam da resistência intrínseca a antimicrobianos do ambiente, para propagar esse genes (AKRAMI; RAJABNIA; POURNAJAF, 2019).

Todos estes mecanismos são então utilizados pelas bactérias na expressão dos caracteres da resistência a antimicrobianos e distribuem os genes de bactérias que são intrinsecamente resistentes. Esses mecanismos, em conjunto, são responsáveis pela capacidade de comunidades bacterianas adquirirem e perpetuarem seu genes de resistência. Geralmente os genes de resistência estão associados a redução da permeabilidade da membrana plasmática, as bombas de efluxo que expulsam os compostos antimicrobianos da célula, a metilação do DNA e alterações nos receptores dos ribossomos aos compostos (AMINOV; MACKIE, 2007; COX; WRIGHT, 2013).

2.4 Solo de Ubajara

O Parque Nacional de Ubajara é uma área federal protegida, caracterizada como uma Unidade de Conservação de Proteção Integral. Essa UC compreende uma área de

aproximadamente 6288 ha na serra da Ibiapaba, no estado do Ceará, abrangendo os municípios de Ubajara, Tianguá e Frecheirinha (ICMBIO, 2019; PINHEIRO *et al.*, 2020).

O solo do Parque Nacional de Ubajara pode ser descrito como um Latossolo vermelho-amarelo, que cobre aproximadamente 69.52% da áreas do parque de Ubajara. O Latossolo vermelho-amarelo é um tipo de solo bastante disperso no território brasileiro apresentando limitações de ordem química, baixos teores de fósforo e baixa disponibilidade de água para as plantas (SOBRINHO *et al.*, 2022).

Nesse contexto, é presumível que exista uma baixa diversidade de espécies bacterianas no solo de Ubajara. No entanto, elas são bastante diversas no solo dessa região conforme abordado por Brito *et al.* (2015).

As actinobactérias somadas as demais bactérias presentes no solo disponibilizam no solo uma quantidade de compostos orgânicos e inorgânicos. Isso decorre de suas produções enzimáticas que agrupam solubilizadores de fosfato, fixadores de nitrogênio, amilases e celulasas (SILVA *et al.*, 2015; CHAVES *et al.*, 2022).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Investigar como o uso da terra afeta o padrão de resistência intrínseca a antibióticos de cepas de actinobactérias isoladas de solo do município de Ubajara.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar o padrão de resistência intrínseca das cepas de actinobactérias a 12 antibióticos.
- Comparar os padrões de resistência aos antibióticos entre as cepas isoladas de áreas sob proteção ambiental (Unidades de Conservação) e áreas de plantio.
- Identificar as principais diferenças nesses padrões.

4 MATERIAL E MÉTODOS

As cepas das actinobactérias usadas nesse experimento foram disponibilizadas pelo Laboratório de Microbiologia Ambiental (LAMAB) da Universidade Federal do Ceará. As cepas foram isoladas de diferentes áreas do Parque Nacional de Ubajara e de áreas de plantio presentes na zona de entorno do parque. A autorização para o estudo na UC foi dada no âmbito do projeto CNPq/ICMBio/FAPs nº18/2017 (Conservação da biodiversidade em nível de paisagem: mudanças climáticas e distúrbios antropogênicos).

As cepas foram sorteadas da coleção de culturas do LAMAB então divididas em cepas de áreas preservadas e cepas de áreas de plantio. As cepas das áreas plantio são EM01; EM03; EM05; EM06; EM07; EM08; EM09; EM10; EM16; EM17; EM18; EM20 e seus pontos de coleta estão descrito na Tabela 1.

Tabela 1 – Coordenadas geográficas, tipo de vegetação e teor de nitrogênio das parcelas amostradas na área de plantio do entorno do Parque Nacional de Ubajara.

Parcela	Coordenadas geográficas		Vegetação local	Teor de N
A61	latitude	-3.735659	Frutíferas (cultivo irrigado)	9.4 g/Kg
	longitude	-40.872417		
A95	latitude	-3.802534	Pimentão	10.15 g/Kg
	longitude	-40.951015		
A81	latitude	-3.72036	Bananal	7.55 g/Kg
	longitude	-40.946918		
A55	latitude	-3.666293	Milho e feijão	5.5 g/Kg
	longitude	-40.886985		

Fonte: Cunha (2022).

Já para as cepas de áreas preservadas foram categorizadas como sendo EM11; EM12; EM13; EM14; EM15; EM22; EM23; EM24; EM25; EM28; EM30; EM32, e também foram submetidas a o critério de escolha de sorteio, as localidades de coleta destas bactérias estão descritas na Tabela 2:

Tabela 2 - Coordenadas geográficas, tipo de vegetação e teor de nitrogênio das parcelas amostradas no Parque Nacional de Ubajara.

Parcela	Coordenadas geográficas		Vegetação local	Teor de N
PRE70	latitude	-3.829634	Nativa	5.6 g/Kg
	longitude	-40.887456		
PRE50	latitude	-3.686708	Nativa	16.7 g/Kg
	longitude	-40.923717		
PRE90	latitude	-3.787537	Nativa	10.65 g/Kg
	longitude	-40.899524		

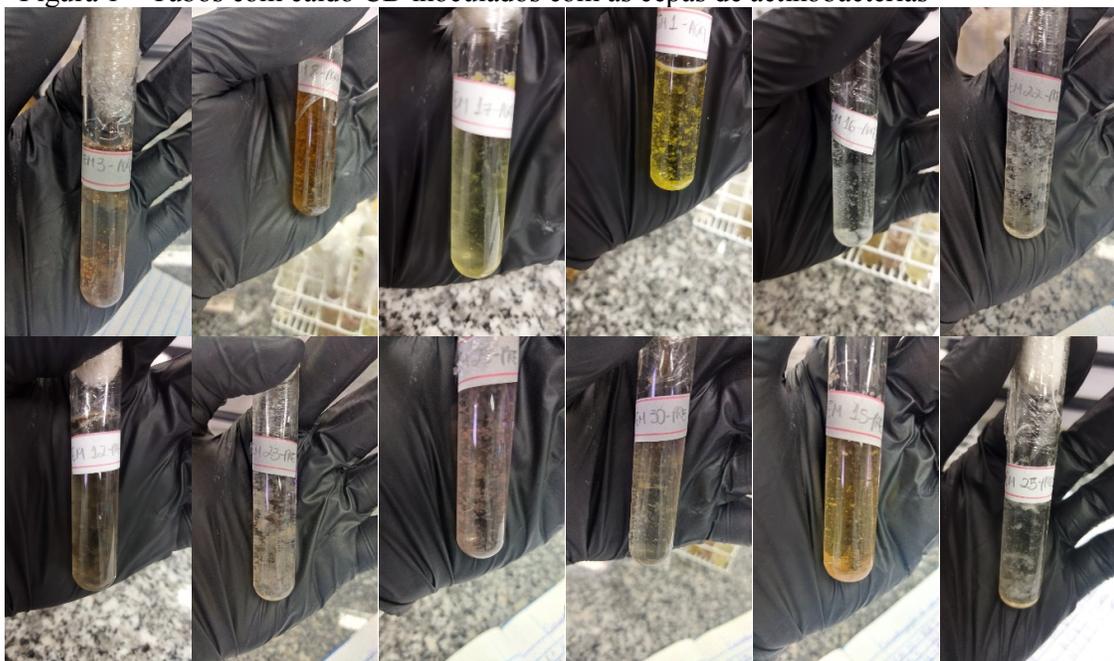
PRE60	latitude	-3.831773	Nativa	22.25 g/Kg
-------	----------	-----------	--------	------------

Fonte: Cunha (2022).

O cultivo das cepas foi feito em caldo CD que apresenta a seguinte composição: 0,2 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (sulfato de magnésio), 0,01g de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (sulfato de ferro), 0,5 g de K_2HPO_4 (fosfato de potássio), 2 g de glicose, 0,2 g de caseína (dissolvida em 10 mL de NaOH 0,1 N precedentemente). O caldo foi inoculado com alça estéril, o crescimento ocorreu em estufa DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) a 28 °C durante 7 dias (KUSTER; WILLIAMS, 1964; ARIFUZZAMAN *et al.*, 2010; RIBEIRO *et al.*, 2022).

A padronização do crescimento das cepas foi realizada por cadência de tempo, com as colônias sendo incubadas por sete dias, tempo médio para a avaliação, pois é o necessário para as colônias de actinobactérias apresentarem suas características culturais (Figura 1). Foi usado um tubo de controle negativo (Figura 2), trata-se de um tubo adicional contendo o caldo esterilizado em autoclave, ele é utilizado para que seja feita a comparação entre o caldo CD quando estéril e quando inoculado com o microrganismo de interesse.

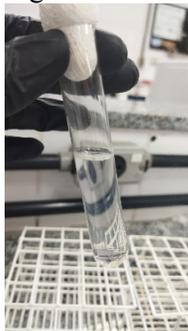
Figura 1 – Tubos com caldo CD inoculados com as cepas de actinobactérias





Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 2 – Controle negativo (tubo com caldo CD não inoculado).



Fonte: elaborada pelo autor.

O método utilizado para avaliação do padrão de resistência das cepas de actinobactérias foi o teste qualitativo de antibiograma por difusão em disco. O Ágar Mueller Hinton, que é o meio padrão para esse teste, foi preparado e vertido em placas de Petri. O teste de esterilidade para verificação do Ágar Mueller Hinton foi também por tempo, foi deixado por 48 horas em temperatura de 28 °C.

As bactérias foram inoculadas em placa usando *swab* estéril, a coleta do tubo foi feita agitando levemente o tubo por conta da precipitação das colônias. Após o espalhamento do inóculo, foram inseridos os discos de antibiótico que, devido as dimensões da placa, foram colocados quatro discos por placa (WOODS *et al.*, 2011).

Os discos de antibiograma utilizados na análise foram fabricados pela empresa CECON, os antibióticos utilizados no estudo foram, Clindamicina, Gentamicina,

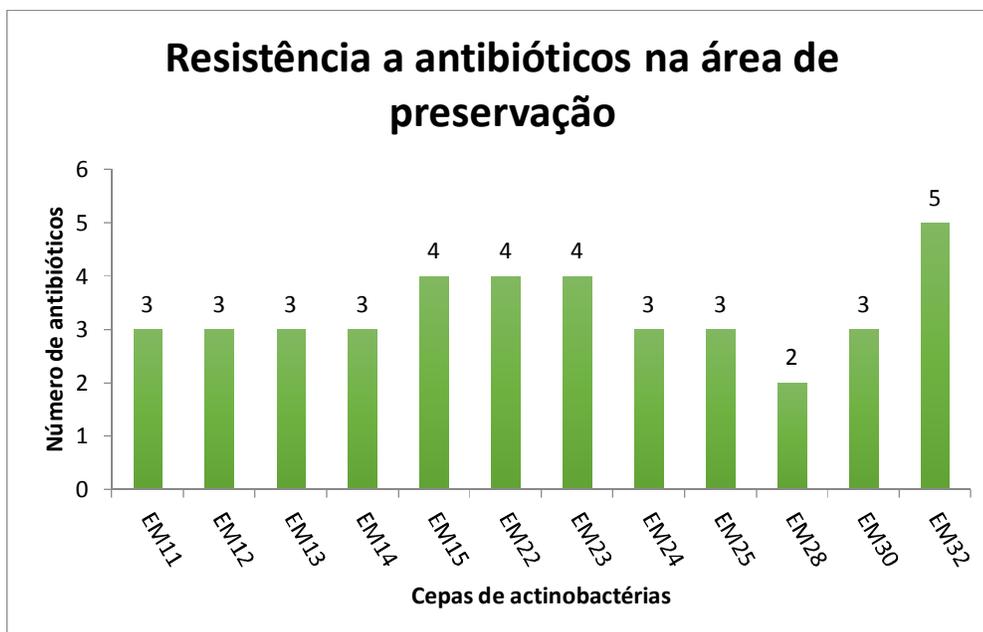
Levofloxacina, Nitrofurantoina, Oxacilina, Sulfotrim (Cotrimoxazol), Eritromicina, Penicilina G, Rimfampicina, Teicoplanina, Cefoxitina, Linezoalida, totalizando 12 antibióticos, sendo armazenados de acordo com as especificações do fabricante a -2 °C. Os antibióticos foram selecionados com base na sua especificidade para bactérias Gram-positivas, que é o caso das actinobactérias.

Para a análise dos resultados foi verificada a presença ou ausência dos halos de inibição, que são caracterizados por zonas claras e ausência de crescimento microbiano ao redor do disco de antibiótico. Quando ocorre a ausência do halo, o antibiótico é considerado como não efetivo e a bactéria em questão é resistente a ele. Por outro lado, quando ocorre a presença do halo, o antibiótico é considerado efetivo e a bactéria é considerada sensível a este antibiótico. Para medição dos halos foi utilizado um paquímetro digital. Para a análise estatística dos dados foi utilizado o teste do Qui-quadrado ($p < 0,05$) para a comparação entre o número de cepas resistentes aos antibióticos contemplando os usos do solo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As actinobactérias de áreas preservadas apresentaram o seguinte comportamento de resistência intrínseca a antibióticos conforme mostrado na Figura 3.

Figura 3 – Número de antibióticos dos quais as cepas da área preservada apresentaram resistência.

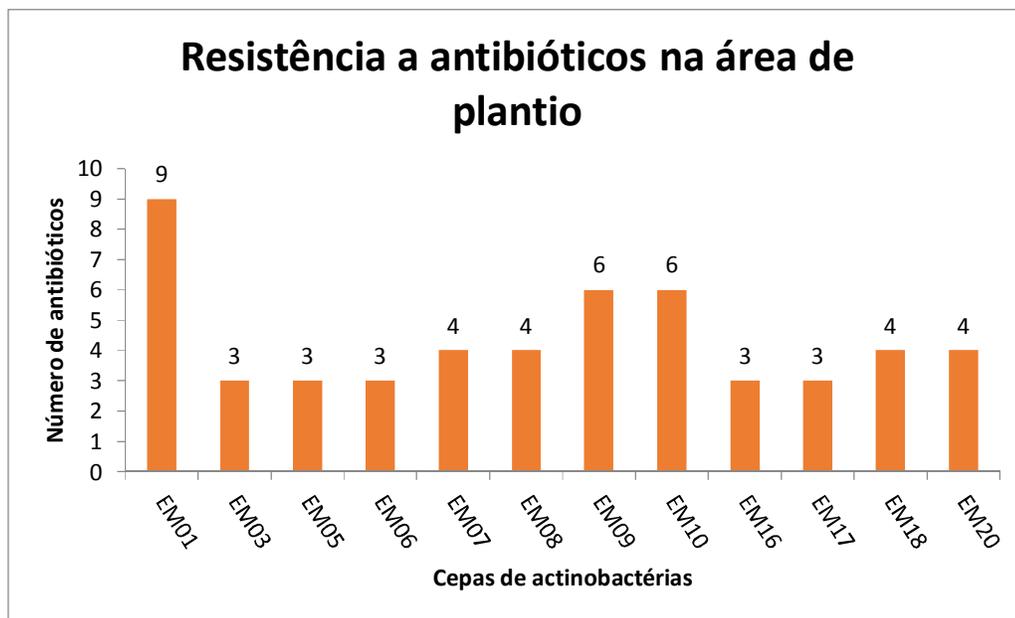


Fonte: elaborada pelo autor.

É possível observar na figura acima que as cepas da área preservada são resistentes a até cinco antibióticos distintos. A menor resistência (dois antibióticos) foi apresentada pela cepa EM28 e a maior resistência ocorreu na cepa EM32. O teste do Qui-quadrado não mostrou diferença estatística significativa (Teste do χ^2 $p=0,99344$) entre as cepas da área preservada considerando os padrões de resistência e suscetibilidade aos antibióticos.

A Figura 4 mostra os resultados obtidos nas cepas oriundas das parcelas localizadas na área de plantio.

Figura 4 - Número de antibióticos dos quais as cepas da área de plantio apresentaram resistência.

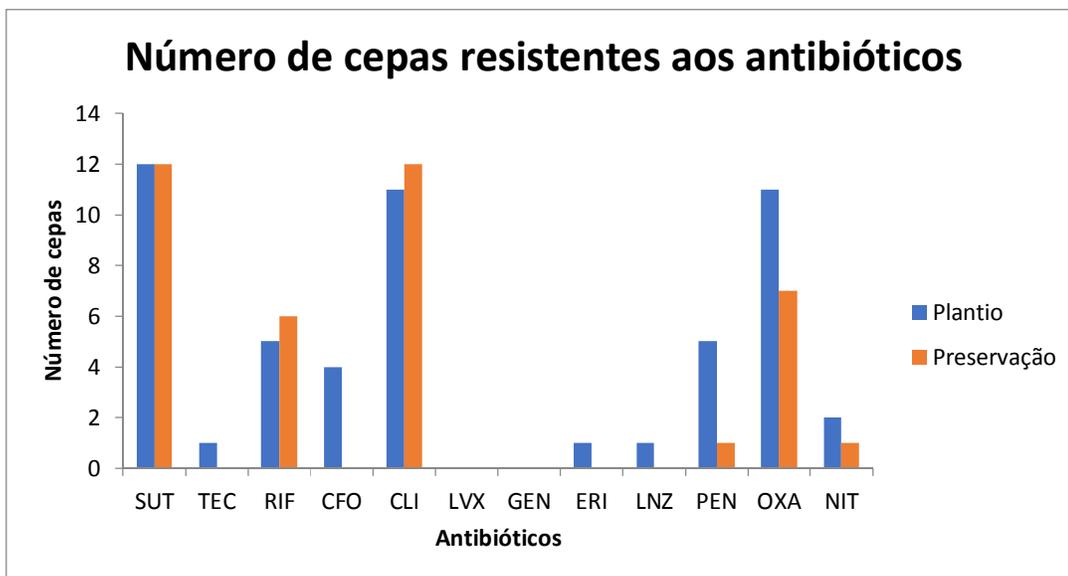


Fonte: elaborada pelo autor.

Na Figura 4 observa-se que as cepas da área de plantio são resistentes a um maior número de antibióticos e a EM 01 foi cepa com maior padrão de resistência intrínseca sendo resistente a nove dos 12 antibióticos testados. A área de plantio também apresentou duas cepas resistentes a metade dos antibióticos testados. Nesse caso, ficou claro que o uso da terra afeta o padrão de resistência intrínseca a antibióticos das actinobactérias presentes no solo.

O teste do Qui-quadrado não mostrou diferença estatística significativa (Teste do χ^2 $p=0,16966$) entre as cepas da área de plantio considerando os padrões de resistência e suscetibilidade aos antibióticos. A resistência das cepas aos distintos antibióticos contemplando os usos do solo está apresentada na Figura 5.

Figura 5 – Número de cepas resistentes aos antibióticos testados contemplando os usos do solo.

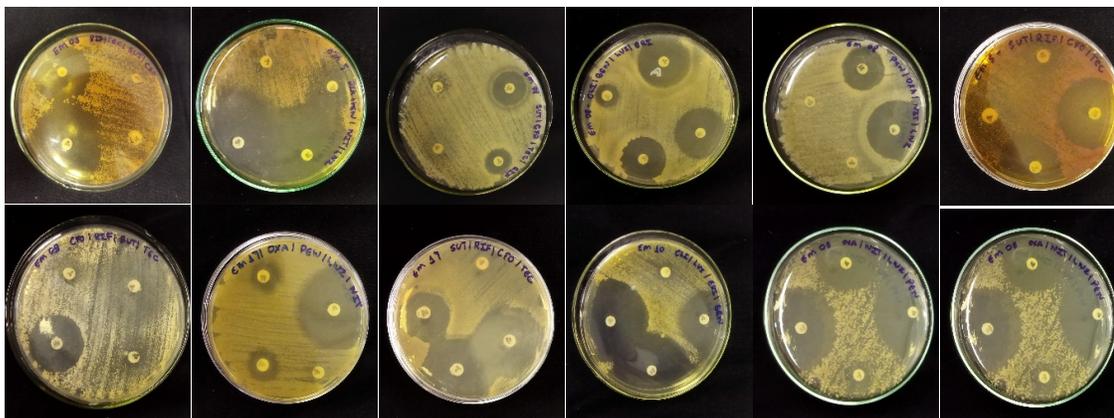


Fonte: elaborada pelo autor.

De acordo com a figura acima, os antibióticos levofloxacino e gentamicina foram ineficazes em todas as cepas estudadas. Considerando os antibióticos estudados, as cepas provenientes da área de plantio apresentaram resistência a um número maior de antibióticos sendo suscetíveis a metade dos antibióticos testados. Por outro lado, as cepas das áreas de preservação foram suscetíveis a 10 dos 12 antibióticos testados. Isso pode ser explicado pelas práticas agropecuárias. A criação de bovinos, caprinos e ovinos tanto de corte como de leite envolve a utilização de antibióticos para manutenção da saúde animal. Como consequência as bactérias do trato digestivo desses animais são expostas a antibióticos e com o tempo adquirem resistência aos mesmos. Essas bactérias resistentes são inseridas no solo pela defecação dos animais durante o pastejo ou pela aplicação de esterco.

Os halos de inibição evidenciaram a suscetibilidade das cepas aos diferentes antibióticos testados. A Figura 6 mostra as placas inoculadas com as cepas de actinobactérias e os halos de inibição dos discos de antibióticos testados.

Figura 6 – Halos de inibição provocados pela exposição aos antibióticos as cepas de actinobactérias.



Fonte: elaborada pelo autor.

Os resultados apresentados mostram que as cepas da área de plantio são mais resistentes aos antibióticos e corrobora com a hipótese de que a atividade humana pode induzir a mudanças no padrão de resistência intrínseca a antibióticos das cepas aumentando o padrão de resistência das mesmas. Isso pode ser explicado por várias razões conforme a seguir.

A presença de concentrações mais altas de nitrogênio no solo poderiam ser um fator que afeta a resistência gerando mais suscetibilidade e sua diminuição poderia gerar mais resistência (VAN DER MEIJ *et al.*, 2017). Entretanto, a presença de nitrogênio dos solos em questão foi de 9.4 para a área A61, 10.15 para a áreas A95, 7.55 para a área a 81 e 5.5 para a áreas A55, já para as áreas preservadas 5.6 para a PRE 70, 16.7 para a PRE50, 10.65 para a área PRE90 e 22.25 para a área PRE60, a cepa que apresentou a maior resistência foi a EM 01 com resistência intrínseca a 9 antibióticos que encontrava-se na áreas de plantio A61, o que indica nesse estudo que o nitrogênio não foi tão impactante para a resistência intrínseca das cepas.

A resistência a antimicrobianos não é limitada apenas a áreas de plantio, áreas preservadas também apresentam resistência a determinadas classes de antibióticos (FARIA, 2014), principalmente em actinobactérias que são reconhecidas produtoras de antibióticos.

As diferenças nos padrões de resistência foram observadas aparentemente por conta que essa análise de impacto nas resistências trata-se de uma análise multifatorial (DURSO; MILLER; WIENHOLD, 2012), mas isso pode alterar-se conforme os níveis de uso de antibióticos forem se elevando, haja vista que como a utilização em larga escala só aconteceu na década de 30 do século XX a bioacumulação de genes de resistência pode gerar uma futura diferença entre as resistências de áreas preservadas e áreas de plantio (ZHU *et al.*,

2019). Principalmente se levarmos em conta que diversas bactérias estão sendo observadas com genes de resistência provavelmente capturadas de actinobactérias através de *transposons* (JIANG *et al.*, 2017) em um mecanismo de transferência horizontal de genes que eleva gradativamente a presença de resistência em bactérias que antes não possuíam tais características.

6 CONCLUSÃO

O uso da terra afetou o padrão de resistência intrínseca a antibióticos de cepas isoladas do solo de Ubajara. As cepas oriundas das áreas de plantio apresentaram maior resistência intrínseca aos antibióticos testados do que as cepas da área de preservação.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (CNPq/ICMBio/FAPs nº18/2017) pelo apoio a esta pesquisa (Financiamento nº 421350/2017-2) e CAPES pelo fornecimento da bolsa de estudos (Código de Financiamento 001).

REFERÊNCIAS

- AKRAMI, F.; RAJABNIA, M.; POURNAJAF, A. Resistance integrons; A Mini review. **Caspian Journal of Internal Medicine**, v. 10, n. 4, p. 370–376, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.22088/cjim.10.4.370> Acesso em: 30 nov. 2022.
- AMARESAN, N.; KUMAR, M. S.; ANNAPURNA, K.; KUMAR, K.; SANKARANARAYANAN, A. **Beneficial microbes in agro-ecology: bacteria and fungi**. Academic Press, 2020.
- AMINOV, R. I.; MACKIE, R. I. Evolution and ecology of antibiotic resistance genes. **FEMS Microbiology Letters**, v. 271, n. 2, p. 147-161, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00757.x> Acesso em: 5 nov. 2022.
- ANANDAN, R.; DHARUMADURAI, D.; MANOGARAN, G. P. An introduction to actinobacteria. Em: **Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications**. IntechOpen, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.5772/62329> Acesso em: 18 nov. 2022.
- ARIFUZZAMAN, M.; KHATUN, M. R.; RAHMAN, H. Isolation and screening of actinomycetes from Sundarbans soil for antibacterial activity. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 29, p. 4615–4619, 2010. Disponível em: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/82733/72871> Acesso em: 20 nov. 2022.
- BABAKHANI, S.; OLOOMI, M. Transposons: the agents of antibiotic resistance in bacteria. **Journal of Basic Microbiology**, v. 58, n. 11, p. 905–917, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jobm.201800204> Acesso em: 2 dez. 2022.
- BALD, D. R.; RANGEL, C. P.; VARGAS, A.; GIRÃO, K. T.; PASSAGLIA, L. M. P. Microbiota do solo: a diversidade invisível e a sua importância. **Bio Diverso**, v. 1, n. 1, 2021. Disponível em: <https://www.seer.ufrgs.br/index.php/biodiverso/article/view/120742> Acesso em: 14 nov. 2022.
- BHULLAR, K.; WAGLECHNER, N.; PAWLOWSKI, A.; KOTEVA, K.; BANKS, E. D. *et al.* Antibiotic resistance is prevalent in an isolated cave microbiome. **PloS One**, v. 7, n. 4, p. e34953, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034953> Acesso em 6 out. 2022.
- BRITO, F. A. E.; RAMOS, K. A.; SILVA, R. M.; MARTINS, C. M.; MARTINS, S. C. S. Actinobactérias do solo rizosférico no bioma caatinga. **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, n. 21, p. 1992-2004, 2015. Disponível em: <https://www.conhecer.org.br/enciclop/2015b/biologicas/actinobacterias.pdf> Acesso em: 13 nov. 2022.
- CAVALCANTE, F. G.; CHAVES, V. G.; SILVA, A. O.; MARTINS, C. M.; MARTINS, S. C. S. Actinobactérias benéficas do solo: potencialidades de uso como promotores de crescimento vegetal. **Enciclopédia Biosfera**, v. 19, n. 40, p. 15-35, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.18677/EnciBio_2022B2 Acesso em: 18 nov. 2022.
- CHAVES, V. G.; BANDEIRA, L. L.; CAVALCANTE, F. G.; MARTINS, S. C. S.; MARTINS, C. M. Land use impact in population dynamics of cultivable soil bacteria. **Enciclopédia**

Biosfera, v. 19, n. 41, p. 51-61, 2022. Disponível em:
<https://www.conhecer.org.br/enciclop/2022c/land.pdf> Acesso em: 15 nov. 2022.

COELHO, R. G. **Caracterização da Resistência aos Antibióticos em estirpes isoladas de diferentes reservatórios ambientais**. 102 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Ambiente) – Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2022. Disponível em:
<http://hdl.handle.net/10451/53801> Acesso em: 12 set. 2022.

CORRÊA, A. C. B.; TAVARES, B. D.; LIRA, D. R. D.; MUTZENBERG, D. D. S.; CAVALCANTI, L. C. D. S. The semi-arid domain of the Northeast of Brazil. Em: **The Physical Geography of Brazil**. Springer, Cham, 2019. p. 119-150. Disponível em:
https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-04333-9_7 Acesso em: 7 nov. 2022.

COX, G.; WRIGHT, G. D. Intrinsic antibiotic resistance: mechanisms, origins, challenges and solutions. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 303, n. 6-7, p. 287-292, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.02.009> Acesso em: 7 nov. 2022.

CUNHA, M. G. **Efeito do uso do solo na diversidade funcional de grupos microbianos no solo**. 46 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022.

CYCOŃ, M.; MROZIK, A.; PIOTROWSKA-SEGET, Z. Antibiotics in the soil environment—degradation and their impact on microbial activity and diversity. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 338, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00338> Acesso em: 5 set. 2022.

DE SIMEIS, D.; SERRA, S. Actinomycetes: A never-ending source of bioactive compounds—An overview on antibiotics production. **Antibiotics**, v. 10, n. 5, p. 483, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050483> Acesso em: 16 nov. 2022.

DURSO, L. M.; MILLER, D. N.; WIENHOLD, B. J. Distribution and quantification of antibiotic resistant genes and bacteria across agricultural and non-agricultural metagenomes. **PLoS One**, v. 7, n. 11, p. e48325, 2012. Disponível em:
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048325> Acesso em: 5 set. 2022.

FARIA, F. R. P. **Resistência a antibióticos em bactérias provenientes de nichos ecológicos extra-hospitalares**. 49 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2014. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10284/5240> Acesso em: 2 nov. 2022.

FATAHI-BAFGHI, M. Antibiotic resistance genes in the Actinobacteria phylum. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 38, n. 9, p. 1599-1624, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03580-5> Acesso em: 11 ago. 2022.

HUTCHINGS, M. I.; TRUMAN, A. W.; WILKINSON, B. Antibiotics: past, present and future. **Current Opinion in Microbiology**, v. 51, p. 72-80, 2019. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008> Acesso em: 23 ago. 2022.

ICMBIO - Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 2019. PARNA de Ubajara. 2019. Disponível em:

http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/imgs/unidades/coservacao/encarte5_u.pdf
Acesso em: 18 ago. 2022.

JIANG, X.; ELLABAAN, M. M. H.; CHARUSANTI, P.; MUNCK, C.; BLIN, K. *et al.* Dissemination of antibiotic resistance genes from antibiotic producers to pathogens. **Nature Communications**, v. 8, n. 1, p. 1-7, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ncomms15784> Acesso em: 5 out. 2022.

KALTENPOTH, M. Actinobacteria as mutualists: general healthcare for insects? **Trends in Microbiology**, v. 17, n. 12, p. 529-535, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2009.09.006> Acesso em: 12 out. 2022.

KAPOOR, G.; SAIGAL, S.; ELONGAVAN, A. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. **Journal of Anaesthesiology, Clinical Pharmacology**, v. 33, n. 3, p. 300, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.4103/joacp.JOACP_349_15 Acesso em: 5 set. 2022.

KÜSTER, E.; WILLIAMS, S. T. Selection of media for isolation of Streptomyces. **Nature**, v. 202, n. 4935, p. 928-929, 1964. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/202928a0> Acesso em: 30 out. 2022.

MOURA, P. A., LIMA, T. A., FERREIRA, M. R. A., SOARES, L. A. L., LIMA, G. M. S. *et al.* The relevance of actinobacteria as sources of antioxidant compounds: Evaluation of Streptomyces isolates from rhizosphere collected at Brazilian Caatinga. Em: **Microbial and Natural Macromolecules**. Academic Press, 2021. p. 401-418. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820084-1.00017-X> Acesso em: 4 set. 2022.

PEREIRA, A. L.; PITA, J. R. Alexander Fleming (1881-1955): da descoberta da penicilina (1928) ao prêmio Nobel (1945). **Revista da Faculdade de Letras – HISTÓRIA - Porto**, v. 6, p. 129-151, 2005. Disponível em: <http://193.137.34.195/index.php/historia/article/download/3787/3541> Acesso em: 18 nov. 2022.

PETERSON, E.; KAUR, P. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: relationships between resistance determinants of antibiotic producers, environmental bacteria, and clinical pathogens. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 2928, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02928> Acesso em: 11 set. 2022.

PINHEIRO, L. F.; ALVES, J. C.; XAVIER, S. A. S.; CAVALCANTE, A. V.; LOIOLA, M. I. B. Diversidade de lianas e trepadeiras do Parque Nacional de Ubajara, Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v.13, n. 4, p. 1675-1687, 2020. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/64077> Acesso em: 1 dez. 2022.

RIBEIRO, G. A. L.; MESQUITA, A. F. N.; BANDEIRA, L. L.; CAVALCANTE, F. G.; MARTINS, S. C. S.; MARTINS, C. M. *In vitro* antagonism of actinobacteria against rhizobia from the soil. **Enciclopédia Biosfera**, v. 19, n. 41, p. 41-50, 2022. Disponível em: <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/5524>. Acesso em: 15 nov. 2022.

RODRÍGUEZ-BELTRÁN, J.; DELAFUENTE, J.; LEON-SAMPEDRO, R.; MACLEAN, R. C.; SAN MILLAN, A. Beyond horizontal gene transfer: the role of plasmids in bacterial

evolution. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 6, p. 347-359, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00497-1> Acesso em: 19 out. 2022.

SANTANA, T. C. F. S.; MAIÃO, R. C.; MONTEIRO, S. G.; CARMO, M. S.; FIGUEIREDO, P. D. M. S. Perfil de resistência de *Escherichia coli* e *Klebsiella spp* isoladas de urocultura de comunidade do município de São Luis-MA no período de 2005-2008. **Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology**, v. 41, n. 3, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.5216/rpt.v41i3.20754> Acesso em: 11 out. 2022.

SANTOS, F. D.; OLIVEIRA, M. P.; SILVA, V. M. A.; MARTINS, S. C. S.; MARTINS, C. M. Diversidade cultural de cepas de actinobactérias oriundas de áreas suscetíveis à desertificação. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 29, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.18677/EnciBio_2019A142 Acesso em: 12 set. 2022.

SATHYA, A.; VIJAYABHARATHI, R.; GOPALAKRISHNAN, S. Plant growth-promoting actinobacteria: a new strategy for enhancing sustainable production and protection of grain legumes. **3 Biotech**, v. 7, n. 2, p. 1-10, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0736-3> Acesso em: 7 set. 2022.

SHANTHI, V. Actinomycetes: Implications and prospects in sustainable agriculture. Em: **Biofertilizers: Study and Impact**, p. 335-370, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9781119724995.ch11> Acesso em: 9 nov. 2022.

SILVA, V. M. A.; BRITO, F. A. E.; RAMOS, K. A.; SILVA, R. M.; MARTINS, C. M.; MARTINS, S. C. S. Atividade enzimática de actinobactérias do semiárido. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 8, n. 4, p. 560-572, 2015. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/64252> Acesso em: 19 nov. 2022.

SILVA, V. M. A.; MARTINS, C. M.; CAVALCANTE, F. G.; RAMOS, K. A.; DA SILVA, L. L. *et al.* Cross-feeding among soil bacterial populations: selection and characterization of potential bio-inoculants. **Journal of Agricultural Sciences**, v. 11, p. 23-34, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.5539/jas.v11n5p23> Acesso em: 12 set. 2022.

SOBRINHO, J. F.; BARBOSA, F. E. L.; CARVALHO, B. L.; ALES, V. C.; FERNANDES, N. B. S. *et al.* Geoenvironmental Mapping for the Delimitation of Regulated Areas for Use and Occupation. **Journal of Management and Sustainability**, v. 12, n. 2, p. 1-58, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.5539/jms.v12n2p58> Acesso em: 10 out. 2022.

TAVARES, V. C.; ARRUDA, Í. R. P.; SILVA, D. G. Desertificação, mudanças climáticas e secas no semiárido brasileiro: uma revisão bibliográfica. **Geosul**, v. 34, n. 70, p. 385-405, 2019. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/099f/7f896818240715461254b12390d6c4f62c83.pdf> Acesso em: 8 nov. 2022.

VAN DER MEIJ, A.; WORSLEY, S. F.; HUTCHINGS, M. I.; VAN WEZEL, G. P. Chemical ecology of antibiotic production by actinomycetes. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 41, n. 3, p. 392-416, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsre/fux005> Acesso em: 22 nov. 2022.

WOODS, G. L.; BROWN-ELLIOTT, B. A.; CONVILLE, P. S.; DESMOND, E. P.; HALL, G.

S. *et al.* **Susceptibility Testing of Mycobacteria, Nocardiae, and Other Aerobic Actinomycetes**. 2nd. ed. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544374/> Acesso em: 22 nov. 2022.

ZANELLA, M. E. Considerações sobre o clima e os recursos hídricos do semiárido nordestino. **Caderno Prudentino de Geografia**, v. 1, n. 36, p. 126-142, 2014. Disponível em: <https://revista.fct.unesp.br/index.php/cpg/article/view/3176> Acesso em: 30 ago. 2022.

ZHAO, X. F.; HAO, Y. Q.; ZHANG, D. Y.; ZHANG, Q. G Local biotic interactions drive species-specific divergence in soil bacterial communities. **The ISME Journal**, v. 13, n. 11, p. 2846–2855, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0477-x> Acesso em: 20 ago. 2022.

ZHU, Y. G.; ZHAO, Y.; ZHU, D.; GILLINGS, M.; PENUELAS, J. et al. Soil biota, antimicrobial resistance and planetary health. **Environment International**, v. 131, p. 105059, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105059> Acesso em: 21 out. 2022.

APÊNDICE A – UTILIZAÇÃO DO MATERIAL TRABALHANDO NOS TESTES DA RESISTÊNCIA INTRINSECA A ANTIBIÓTICOS EM SALA DE AULA



O material utilizado durante o presente trabalho foi também utilizado como material para aulas práticas no Laboratório didático de microbiologia LADMI, sob orientação da professora Claudia Miranda Martins. O trabalho da professora tem como objetivo reaproveitar os materiais utilizados na pesquisa e usa-los para incremento das aulas práticas. Isso com o objetivo de mostrar aos estudantes o que é feito de pesquisas do LAMAB (Laboratório de Microbiologia Ambiental). Os alunos mediram os halos de inibição das actinobactérias que foram submetidas ao teste de difusão em disco de antimicrobianos, e visualizaram diversas formas desse modelo de trabalho. Não apenas utilizando as bactérias modelo do laboratório LADMI.