



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BACHARELADO)**

PAULO ROBERTO ROCHA PINHEIRO JUNIOR

ESTUDO DAS BACTÉRIAS CULTIVÁVEIS DA PELE DE *Adelophryne maranguapensis* (ANURA: ELEUTHERODACTYLIDAE)

**FORTALEZA
2025**

PAULO ROBERTO ROCHA PINHEIRO JUNIOR

ESTUDO DAS BACTÉRIAS CULTIVÁVEIS DA PELE DE *Adelophryne maranguapensis*
(ANURA: ELEUTHERODACTYLIDAE)

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

Orientadora: Profa. Dra. Denise Cavalcante Hissa

FORTALEZA

2025

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)

P721e Pinheiro Junior, Paulo Roberto Rocha.

Estudo das bactérias cultiváveis da pele de *Adelophryne maranguapensis* (ANURA:
ELEUTHERODACTYLIDAE) / Paulo Roberto Rocha Pinheiro Junior. – 2025.
53 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências,
Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2025.

Orientação: Profa. Dra. Denise Cavalcante Hissa.

1. Microbioma.. 2. Conservação. 3. Simbiose. I. Título.

CDD 570

PAULO ROBERTO ROCHA PINHEIRO JUNIOR

ESTUDO DAS BACTÉRIAS CULTIVÁVEIS DA PELE DE *Adelophryne maranguapensis*
(ANURA: ELEUTHERODACTYLIDAE)

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

Aprovada em: 31/07/2025.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Denise Cavalcante Hissa (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Franscica Andrea da Silva Oliveira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Me. Lívia Pinheiro de Queiroz
Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Jeanine Facundo. A pessoa que sempre se diz ser minha maior fã. Uma mulher que nunca vi desistir em momento algum, que possui uma força que eu jamais sonharia em ter, que é irritantemente positiva e insistentemente apoiadora de tudo o que penso em fazer. Obrigado, mamis, por ter comprado aquele DVD do Zoboomafoo, que com certeza foi a primeira seta que apontou meu interesse em direção à biologia. A você: todo o meu amor e gratidão.

À minha nova família, constituída por minha parceira, Letícia Araújo, e nosso filho, Kaleo. Essas duas pessoas são a razão de eu fazer o que faço, de agora em diante. Cada trabalho, cada oportunidade e cada decisão em minha vida será fundamentada no bem-estar de vocês. Obrigado, Otaku Chorona, por me apoiar incondicionalmente e fingir interesse durante todo esse tempo em que te enchi com conversas sobre bactérias e bichos. Obrigado, Kal, por estar dormindo tranquilo, ao invés de chorar no meu pé do ouvido enquanto escrevo esse texto.

Aos meus melhores amigos: minha irmã, Lorena, e meu irmão de coração, Edmar. A presença de vocês em minha vida foi essencial para que eu não enlouquecesse completamente, me mantivesse nos trilhos e seguisse em frente ao final da minha graduação. Obrigado por cada conversa, cada risada e cada conselho. Obrigado por aliviarem o peso das minhas costas e me fazer sentir que a vida é muito mais do que os problemas.

Ao meu irmão, Rodrigo, que contribuiu muito para a formação do meu pensamento crítico, tão importante na ciência. Obrigado por cada conversa, debate e argumento desafiador que me fez queimar neurônios ao pensar numa resposta, ou melhor, ao pensar em novas perguntas.

Aos amigos que fiz durante a graduação, em especial os Pega na Cobra: Alyson Ripardo e Lucas Farias. Obrigado por cada papo torto e por tantos momentos memoráveis. Torço muito pelo sucesso de cada um de vocês.

À toda a equipe LembioTech-Largen, especialmente às professoras Vânia Maria Maciel Melo e Denise Cavalcante Hissa, duas pessoas que me fazem sentir honrado por ter tido a oportunidade não só de conhecer, mas trabalhar junto. Obrigado, professora Vânia, por me introduzir ao mundo da microbiologia e me fazer entender que a ciência não é apenas interessante, é trabalho duro e muita dedicação. Obrigado, professora Denise, por me conceder uma orientação tão humana e compreensiva. A senhora me forneceu lições valiosas, que não só me ajudaram a compreender biologia molecular, mas também me deram o exemplo do tipo de profissional e pessoa que quero ser. E obrigado a todos os membros do laboratório, que me

ajudaram direta ou indiretamente, em especial Lucas e Clara, essenciais nas etapas de PCR. Ao longo desses anos, todos fizeram o ambiente de trabalho parecer uma verdadeira família.

À Lívia Pinheiro, ou melhor, à Mestre Lívia. Obrigado por me ajudar nos meus primeiros passos na microbiologia e na rotina laboratorial. Aprendi muito com você e fico feliz que uma parceria tenha se tornado uma amizade tão sincera.

Aos herpetólogos Bruno Guilhon e Victor Lucas. Obrigado, Bruno, pela amizade, apoio e por ter reacendido aquele interesse por zoologia que eu tinha esquecido durante boa parte da graduação. Obrigado, Victor, por me gerar interesse na biologia e conservação de *Adelophryne maranguapensis* e por me incluir neste lindo projeto, visando a conservação desse simpático sapinho de Maranguape.

Aos membros da banca avaliadora, por se disponibilizarem a ler e avaliar meu trabalho e apontarem críticas e melhorias, as quais também serão úteis em projetos futuros.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal e Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pelo apoio financeiro em projetos.

*"Nenhuma visão mais agradável jamais
encontrou meus olhos do que esta: a de tantos
milhares de criaturas vivas em uma única gota
d'água"*

Anton van Leeuwenhoek

RESUMO

Adelophryne maranguapensis é uma rã bromelígena criticamente ameaçada, endêmica da Serra de Maranguape, Ceará. Embora hajam estudos sobre sua história natural, pouco se sabe sobre seus microrganismos simbiontes. As bactérias cutâneas são fundamentais na defesa dos anfíbios contra patógenos, especialmente frente à ameaça do fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*), causador da quitridiomicose – doença que contribuiu para o declínio de diversas populações de anfíbios globalmente. Para ampliar o conhecimento sobre a microbiota cutânea de *A. maranguapensis*, este estudo realizou o primeiro cultivo de bactérias simbiontes da espécie, seguido da identificação molecular das estirpes. Três indivíduos foram coletados em duas espécies de bromélia. Após a captura, os indivíduos foram lavados com água destilada, e sua microbiota foi coletada com *swabs* estéreis aplicados em toda a superfície corporal. Os *swabs* foram armazenados em microtubos com meio TSB e glicerol (1:1) para transporte e conservação. No laboratório, 20 µL de cada amostra foram inoculados em placas com meio R2A, mantidas entre 24–26 °C por 14 dias. Colônias com diferentes morfologias foram selecionadas e repicadas para obtenção de culturas puras. O DNA genômico foi extraído por termólise, e o gene 16S rRNA foi amplificado por PCR e sequenciado via método de Sanger. As sequências foram editadas no CodonCode Aligner 12.0.3 e comparadas ao GenBank com o algoritmo BLAST. As três amostras apresentaram 150, 375 e 425 UFC/mL, totalizando 34 morfotipos. O DNA foi amplificado com sucesso em 13 amostras, mas uma não gerou sequência utilizável, resultando em 12 cepas sequenciadas, com coberturas entre 769 e 1107 pb. Metade das estirpes pertence à família *Microbacteriaceae*, comum em solos, plantas e animais, e já associada a potencial biotecnológico, incluindo atividade contra o *Bd*. Foram também identificados os gêneros *Jatrophihabitans* e *Mycobacterium*. O primeiro é abundante na pele de anuros e nas folhas de *V. cearensis*, enquanto o segundo, associado a doenças na herpetofauna, pode representar uma ameaça à espécie. Outros gêneros isolados incluem *Kocuria*, *Paenibacillus* e *Bacillus*, todos com registros de atividade anti-*Bd*. Além disso, *Bacillus* e *Paenibacillus* são utilizados em setores agrícola e médico. Os resultados indicam que a pele de *A. maranguapensis* abriga bactérias cultiváveis que podem ter um papel importante na proteção desses animais contra doenças. A literatura destaca não apenas o potencial biotecnológico dessas cepas, mas também sua possível atuação na saúde do hospedeiro, por meio da produção de antimicrobianos, inclusive metabólitos com ação anti-*Bd*.

Palavras-chave: microbioma; conservação; simbiose.

ABSTRACT

Adelophryne maranguapensis is a critically endangered bromeligenous frog endemic to the Serra de Maranguape, Ceará, Brazil. While its natural history has been relatively well studied, little is known about its symbiotic microorganisms. Skin-associated bacteria play a key role in amphibian defense against pathogens, particularly in the face of the threat posed by *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*), the fungus responsible for chytridiomycosis – a skin disease linked to global amphibian population declines. To improve understanding of the skin microbiota of *A. maranguapensis*, this study conducted the first cultivation and molecular identification of symbiotic bacteria from this species. Three individuals were collected from two bromeliad species using nitrile gloves, changed between each animal. After capture, the frogs were rinsed with distilled water, and their skin microbiota was sampled using sterile swabs applied over the entire body surface. Swabs were stored in microtubes containing a 1:1 solution of TSB medium and glycerol for transport and preservation. In the laboratory, 20 µL of each sample was inoculated onto R2A agar plates, kept at room temperature (24–26 °C) for 14 days. Distinct colony morphotypes were selected and subcultured to obtain pure isolates. Genomic DNA was extracted by thermal lysis, and the 16S rRNA gene was amplified via PCR and sequenced using the Sanger method. Sequences were edited in CodonCode Aligner 12.0.3 and analyzed for similarity using the BLAST algorithm in GenBank. The three samples yielded 150, 375, and 425 CFU/mL, totaling 34 morphotypes. DNA amplification was successful in 13 samples, though one did not produce a usable sequence, resulting in 12 strains sequenced, with read lengths between 769 and 1107 bp. Half of the isolates belonged to the *Microbacteriaceae* family, commonly associated with soil, plants, and animals, and previously reported as having biotechnological potential, including *Bd*-inhibitory activity. The genera *Jatrophihabitans* and *Mycobacterium* were also identified. The former has been found in both frog skin and *V. cearensis* leaves, while the later – known for pathogenic interactions with herpetofauna – may pose a potential threat to the species. Additional isolates included *Kocuria*, *Paenibacillus*, and *Bacillus*, all previously reported to have anti-*Bd* activity. Moreover, *Bacillus* and *Paenibacillus* are widely used in agricultural and medical applications. These findings indicate that the skin of *A. maranguapensis* hosts cultivable bacteria closely related to its surrounding environment. Literature suggests that these strains may not only offer biotechnological value but also play a role in host health through antimicrobial production, including metabolites effective against *Bd*.

Keywords: microbiome; conservation; symbiosis.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados dos espécimes que tiveram as amostras coletadas	27
Tabela 2 – Estirpes identificadas por sequenciamento do gene RNAr 16S	31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Indivíduo de <i>A. maranguapensis</i> manipulado com luvas de nitrila.....	26
Figura 2 – Diversidade morfológica das colônias.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IUCN	International Union for Conservation of Nature
CR	<i>Critically Endangered</i> (Criticamente em Perigo)
ER	<i>Endangered</i> (Em Perigo)
TCT	<i>Tracheal Cytotoxin</i> (Citotoxina Traqueal)
<i>Bd</i>	<i>Batrachochitrium dendrobactidis</i>
<i>Bsal.</i>	<i>Batrachochitrium salamandrivorans</i>
OTUs	<i>Operational Taxonomic Units</i> (Unidades Taxonômicas Operacionais)
DNA	Ácido desoxirribunucleico
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (Reação em Cadeia da Polimerase)
rRNA	<i>Ribosomal Ribonucleic Acid</i> (RNA ribossômico)
TSB	<i>Tryptic Soy Broth</i> (Caldo de Soja Tripticaseína)
R2A	Reasoner's 2A
rpm	<i>Revolutions per minute</i> (rotações por minuto)
dNTPs	<i>Deoxyribonucleotide Triphosphates</i> (Trifosfatos de desoxirribonucleotídeos)
SYBR	
™ Safe	Corante fluorescente para ácidos nucleicos (marca comercial)
TEA	Tris-acetate-EDTA
pb	Par de base
kb	Kilo base (1000 pb)
BLAST	<i>Basic Local Alignment Search Tool</i> (Ferramenta Básica de Busca de Alinhamento Local)
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
GPL	<i>Global Panzootic Lineage</i> (linhagem pandêmica global)

LISTA DE SÍMBOLOS

°C Graus Celcius

% Porcentagem

μ Micro

m Mili

M Molar

L Litro

k Kilo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
2.1	<i>Adelophryne maranguapensis</i>.....	18
2.2	Importância da microbiota da pele dos animais.....	19
2.3	Bacterioma da pele de anfíbios e o <i>Bd</i>.....	21
2.4	Relevância das bactérias cultiváveis.....	24
3	OBJETIVOS	26
3.1	Objetivos gerais	26
3.2	Objetivos específicos	26
4	MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1	Coleta	27
4.2	Isolamento	27
4.3	Extração de DNA, PCR e Sequenciamento	28
5	RESULTADOS.....	30
5.1	Isolamento.....	30
5.2	Caracterização morfológica dos morfotipos.....	30
5.3	Identificação molecular dos morfotipos.....	31
6	DISCUSSÃO.....	34
7	CONCLUSÃO.....	42
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43

1 INTRODUÇÃO

O estudo das bactérias simbiontes da pele dos animais é de extrema relevância para aumentar o entendimento a respeito de interações simbióticas no geral, do funcionamento do sistema imune dos hospedeiros e do desenvolvimento e diagnóstico de doenças (ROSS, HOFFMANN & NEUFELD, 2019). No contexto dos anfíbios, os microrganismos associados à sua pele competem com patógenos por espaço e possuem um repertório de moléculas antimicrobianas que atuam em sinergia com o sistema imune do animal (REBOLLAR, MARTÍNEZ-UGALDE & ORTA, 2020). Tal tema também se torna ecologicamente relevante em razão da quitridiomicose, uma infecção epidérmica causada pelo fungo *Batrachochytrium dendrobatis*, que vem sido responsável por declínios populacionais em inúmeras espécies de anfíbios (VOYLES, ROSENBLUM & BERGER, 2011; LIPS, 2016).

Com base na relevância do estudo do microbioma associado à pele de anfíbios, inúmeros trabalhos têm utilizado ferramentas de metagenômica para expandir essa área do conhecimento. Este tipo de microecossistema não é constante, podendo variar com base no comportamento do anfíbio (XU *et al.*, 2020), no seu estágio de desenvolvimento (LONGO, *et al.*, 2015), sexo (WAN *et al.*, 2025), entre outras variáveis (REBOLLAR, MARTÍNEZ-UGALDE & ORTA, 2020). Outros estudos se fundamentam no cultivo de microrganismos, fornecendo dados que complementam os dados metagenômicos (PRAKASH *et al.*, 2013). Tais trabalhos podem explorar novas bactérias com possível potencial biotecnológico, como antibióticos para a indústria farmacêutica (STEWART, 2012) e probióticos para a pele de anfíbios (MENDOZA *et al.*, 2012).

Adelophryne maranguapensis é um anuro criticamente ameaçado de extinção e endêmico da Serra de Maranguape, CE, Brasil (IUCN, 2023). O animal de pequeno porte tem em torno de 17 mm, alimenta-se de pequenos invertebrados, especialmente artrópodes, e se reproduz nas axilas de bromélias durante o período chuvoso, com a prole passando por desenvolvimento direto (HOOGMOED, BORGES & CASCON, 1994; ARAÚJO *et al.*, 2023; CASSIANO-LIMA *et al.*, 2020). Enquanto sua história natural tem recebido mais atenção dos pesquisadores, estudos a respeito dos microrganismos associados a *A. maranguapensis* ainda se encontram escassos, com exceção do trabalho de Rodrigues (2025), que revelou uma prevalência dos filos Proteobacteria, Actinobacteria e Bacteroidetes na pele do anfíbio.

Tendo em vista que o estudo do microbiota simbótica associada a pele de anfíbios pode contribuir com o desenvolvimento iniciativas de conservação das espécies, especialmente

em meio a pandemia da quitridiomicose (WOODHAMS *et al.*, 2016), o presente trabalho busca responder quais bactérias aptas ao cultivo estão presentes na pele da rã de Maranguape, esperando encontrar não só representantes registrados por Rodrigues (2025), quanto identificar gêneros pouco abundantes, que não foram contemplados no estudo.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Importância da microbiota da pele dos animais

Microrganismos constituem a base dos bioprocessos terrestres. Eles são indispensáveis para a ciclagem de nutrientes e para a degradação da matéria orgânica (MADIGAN *et al.*, 2016). Enquanto isso, a pele dos animais é um ambiente rico em nutrientes ideais para o crescimento de uma grande diversidade de microrganismos. Uma minoria destes pode trazer malefícios ao corpo, contudo a maior parte das comunidades microbianas da pele é mutualística, contribuindo com a saúde do hospedeiro (HOFFMANN, 2017).

O compartilhamento de microrganismos entre a pele dos animais e seu ambiente indica a influência do ecossistema na microbiota cutânea (RODRIGUES, 2025; CALLEWAERT, HELFFER & LEBARON, 2020). Contudo, tem se tornado cada vez mais evidente o quão esse tipo de microbioma é único, uma vez que a pele hospedeira seleciona os microrganismos que vivem em simbiose com ela, podendo até favorecer aqueles menos abundantes no ambiente (BENNICE *et al.*, 2024; WALKE *et al.*, 2014).

Segundo nessa linha, mecanismos de co-evolução permitem essa relação de simbiose entre microrganismos e seu hospedeiro animal. Um exemplo clássico ocorre no epitélio do cefalópode *Euprymna scolops*, que é colonizado pela proteobactéria *Vibrio fischeri*, um microrganismo bioluminescente que contribui com a camuflagem do animal durante seu forrageio. Nesta relação, uma citotoxina (TCT) liberada pela bactéria é reconhecida por receptores do animal, levando-o a produzir muco e antibióticos que facilitam a agregação de uma cultura monoespecífica do simbionte (DIERKING & PITA, 2020; RUBY & LEE, 1998). Esse tipo de mutualismo também é visto em humanos, onde a bactéria *Staphylococcus epidermidis* evoluiu para prosperar em meio às defesas imunológicas presentes na pele, como espécies reativas de oxigênio e peptídeos antimicrobianos. Sua forma comensal tem baixa virulência, produzindo bacteriocinas que protegem o hospedeiro de patógenos, como *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pyogenes* (CHRISTENSEN & BRÜGGEMANN, 2014), além de poder ativar células imunes da pele contra outros parasitas (YAMAZAKI, NAKAMURA & NÚÑEZ, 2017).

Contudo, nem sempre as defesas imunológicas dos animais são eficientes contra certos patógenos, mesmo com a ajuda de sua microbiota simbionte. Na pele humana, por exemplo, *Staphylococcus aureus* pode estar associada à dermatite atópica e a outras infecções na pele e outros tecidos. Fungos do gênero *Malassezia* também são de interesse médico,

envolvendo-se em doenças como a pitiríase versicolor, psoríase e dermatite atópica, também (FINDLEY & GRICE, 2014). E nessa mesma linha de enfermidades fúngicas, grupos inteiros de animais podem ser afetados por esse tipo de microrganismo. A ofidiomicose, por exemplo, é uma infecção de pele que tem afetado serpentes da América do Norte, com um índice de fatalidade de até 66,7% (DAVY *et al.*, 2021). Já a quidritiomicose, outra condição epidérmica, é um problema global que tem levado a declínios populacionais e à extinção de espécies de anfíbios, tornando-se um problema sério na perspectiva conservacionista (VOYLES, ROSENBLUM & BERGER, 2011; ROSS, HOFFMANN & NEUFELD, 2019).

Ainda nesse contexto de doenças, processos inflamatórios na pele estão profundamente relacionados com disbioses, que são alterações nas comunidades microbianas (HOFFMANN, 2017). Tais mudanças, inclusive, podem ser usadas no desenvolvimento de diagnósticos e prognósticos para certas enfermidades (GRICE, 2014). Hooper *et al.* (2018) notaram sérios problemas cutâneos em baleias-orca (*Orcinus orca*) com grandes quantidades de diatomácea na pele, o que foi positivamente correlacionado com a maior abundância de uma conhecida bactéria parásita de peixes. Assim, apontaram para a composição do microbioma em conjunto com outros fatores como ferramenta para a identificação de animais em risco. Inclusive, peixes têm sido estudados com relação ao seu microbioma para evitar perdas econômicas na pesca e aquicultura. Uma das descobertas foi que a redução na diversidade microbiana e o aumento na abundância de proteobactérias e actinobactérias na pele podem indicar enterite linfocítica crônica nesses animais, uma doença intestinal (ROSS, HOFFMANN & NEUFELD, 2019). E ainda na lógica de importância econômica, doenças cutâneas em animais de produção também são estudadas a nível de microbioma. O gado leiteiro, por exemplo, pode sofrer com dermatite digital, caracterizada por um aumento na abundância dos filos Spirochaetota, Bacteroidota e Proteobacteria. Já ovelhas e cabras podem desenvolver podridão do casco, uma condição que eleva a abundância dos gêneros *Staphylococcus* e *Corynebacterium* (HOFFMANN, 2017).

2.2 Bacterioma da pele de anfíbios e o *Bd*

As bactérias da pele dos anfíbios não são as mesmas em riqueza e abundância daquelas do ambiente em volta. Estudos têm demonstrado que o microbioma cutâneo desses animais é significativamente específico da espécie (MCKENZIE *et al.*, 2012; KUENEMAN *et al.*, 2014). A pele deles pode atuar selecionando tanto microrganismos mais raros (WALKE *et al.*, 2014) quanto recrutando aqueles já abundantes no ecossistema (RODRIGUES, 2025).

Dentre os fatores de seleção, estão o sistema imune do animal, seu comportamento, desenvolvimento e variação genética. Estes, em conjunto com fatores biogeográficos, de clima e de micro-habitat, contribuem para configuração do bacterioma cutâneo do anfíbio (REBOLLAR, MARTÍNEZ-UGALDE & ORTA, 2020).

Dentro do grupo Lissamphibia, os anuros têm sido os maiores alvos dos trabalhos envolvendo o microbioma da pele (REBOLLAR, MARTÍNEZ-UGALDE & ORTA, 2020; WANG *et al.*, 2025). Diversas espécies já foram investigadas quanto a essa temática, revelando que os filos Proteobacteria, Actinobacteria e Bacteroidota tendem a ser os mais abundantes, especialmente o primeiro, que pode representar mais da metade da microbiota simbiótica da pele de uma quantidade significativa desses animais (BLETZ *et al.*, 2017; BELDEN *et al.*, 2015; MARTINS *et al.*, 2022; TONON *et al.*, 2021). Contudo, isso não é uma regra. O hylídeo *Isthmohyla pseudopuma*, por exemplo, tem mais de 60% de sua microbiota cutânea pertencente ao filo dos bacteroidetes (JIMÉNEZ *et al.*, 2019), enquanto *Agalichnis callidryas* e *Dendropsophus ebraccatus* foram registrados com um microbioma cutâneo dominado por actinobactérias (REBOLLAR *et al.*, 2019). Já dentro de um agrupamento taxonômico mais restrito: Pseudomonadaceae e Comamonadaceae, representantes das proteobactérias (MCKENZIE *et al.*, 2012; LONGO, *et al.*, 2015); Sphingobacteriaceae e Weeklaceae, dos bacteroidetes (BLETZ *et al.*, 2017; JIMÉNEZ *et al.*, 2019); e Microbacteriaceae, do filo Actinobacteria (BATAILLLE *et al.*, 2016; MARTINS *et al.*, 2022), são algumas famílias comuns de se encontrar na literatura como estando presentes na pele de anuros.

De forma semelhante ao que ocorre nos anuros, as proteobactérias geralmente aparecem como as mais abundantes na maioria das espécies da ordem Caudata que já foram avaliadas. Nos membros do gênero *Bolitoglossa* e *Pseudoeurycea*, a família Pseudomonadaceae foi a mais presente (ELLISON *et al.*, 2018), assim como em *Plethodon cinereus* (LOUDON *et al.*, 2014). Já em *Ambystoma tigrinum* (MCKENZIE *et al.*, 2012) e em *Taricha tarosa* (KUENEMAN *et al.*, 2014), foram as comamonadáceas que dominaram. Os filos Firmicutes e Bacteroidota também podem aparecer bem representados (MCKENZIE *et al.*, 2012; HERNÁNDEZ-GÓMEZ *et al.*, 2017). Os bacteroidetes também foram abundantes em *Ichthyophis bananicus*, uma espécie da ordem Gymnophiona, correspondendo a 20,93% das OTUs presentes na pele dos animais amostrados, o que ainda foi inferior à abundância das proteobactérias: 64,49% (RAJPUT, ZHOU & MEEGASKUMBURA, 2021). E essa dominância do filo Proteobacteria também se mantém nas outras únicas duas espécies dessa ordem que foram avaliadas até o presente momento: *Ichthyophis asplenioides* (MCGRATH-

BLASER *et al.*, 2025) e *Herpele squalostoma*, onde as actinobactérias também foram abundantes, principalmente com a família Microbacteriaceae (KOUETE *et al.*, 2023).

A partir do exposto, pode-se haver o questionamento sobre o microbioma fúngico associado à pele dos anfíbios. De modo geral, não existem muitas evidências de interações benéficas entre fungos e hospedeiros animais. É possível que esses microrganismos tendam a ser reservatórios para micróbios patogênicos e oportunistas (REBOLLAR, MARTÍNEZ-UGALDE & ORTA, 2020). Contudo, esta é uma área que ainda precisa ser mais estudada, uma vez que já foram identificados fungos com atividade anti-*Bd* na pele de anuros, contribuindo até mais com a defesa contra o patógeno do que as bactérias (KEARNS *et al.*, 2017). E este patógeno, o *Batrachochitrium dendrobatides* (“*Bd*”), é o fungo relacionado à pele de anfíbios mais conhecido, mas não por auxiliar imunologicamente esses animais, e sim por vir causando declínios populacionais e até mesmo a extinção de algumas espécies de anuros (LIPS, 2016).

O *Bd* é um quitrídio, um tipo de fungo aquático que retém a característica ancestral de se reproduzir através de esporos flagelados, os zoósporos (JAMES *et al.*, 2006). Tal estrutura permite sua dispersão na água, até encontrar um substrato onde possa se encistar, reabsorvendo o flagelo e desenvolvendo seu esporângio (BERGER *et al.*, 2005). Essa proximidade com a água está presente tanto no parasita quanto em seus hospedeiros anfíbios, além de ambos tolerarem faixas de temperatura semelhantes, justificando um histórico de interação de pelo menos 25 milhões de anos (JAMES *et al.*, 2015). E o *Bd* não é o único. Também existe o *B. salamandivorans* (“*Bsal*”), um quitrídio que, até onde se sabe, só parasita membros da ordem Caudata, tendo uma prevalência maior em salamandras que o próprio *Bd*. E apesar de ainda não ter uma distribuição tão ampla, *Bsal* tem gerado sérias preocupações com a possibilidade protagonizar uma nova onda de extinções de anfíbios (YAP *et al.*, 2017). Ambos os patógenos se instalam no sistema cutâneo dos hospedeiros, causando a quitridiomicosse, uma doença caracterizada por sintomas como o espessamento da pele e a degradação da epiderme (VOYLES, ROSENBLUM & BERGER, 2011; YAP *et al.*, 2017).

Há uma relação próxima entre o fungo quitrídio e a microbiota cutânea dos anfíbios, uma vez que as bactérias da pele são um dos fatores que podem contribuir com a defesa do animal, através da produção de metabólitos anti-*Bd* (ROOIJ *et al.*, 2015). Uma maior diversidade dessas bactérias está relacionada com o maior poder de proteção conferido pela microbiota (LONGO *et al.*, 2015), especialmente quando se trata de uma maior diversidade de bactérias potencialmente anti-*Bd*, como *Pseudomonas* e *Stenotrophomonas* (JIMÉNEZ *et al.*, 2019). E mais do que isso, Martins *et al.* (2022) demonstraram que a diversidade, apenas, pode

não ser suficiente para explicar uma menor prevalência de *Bd*. O estudo analisou quatro espécies, sendo as duas com maior e menor prevalência possuidoras de diversidades-alpha próximas. O que fez a espécie mais resistente se destacar foi uma maior quantidade de táxons bacterianos no núcleo do microbioma, incluindo os mais centrais na rede de coocorrência, o que pode desencadear uma maior estabilização e regulação daqueles táxons úteis contra o fungo.

Algumas classes de bactérias apresentam ter uma proporção maior de representantes com propriedades antagônicas ao *Bd*, quando comparado com outras. Rebollar *et al.* (2019), por exemplo, testaram as bactérias de três espécies diferentes de anuros contra o fungo, descobrindo que 100% das betaproteobactérias amostradas tinham ação anti-*Bd*, seguidas por 78,12% das gammaproteobactérias e 56,38% dos membros da classe Actinobacteria. A betaproteobactéria *Janthinobacterium lividum* produz violaceína, enquanto *Serratia* é uma gammaproteobactéria produtora de prodigiosina. Ambos os compostos se demonstraram capazes de inibir o crescimento tanto de *Bd* quanto de *Bsal*. E, além disso, essas duas bactérias isoladas da pele de anfíbios produziram compostos voláteis com a propriedade de agir diretamente contra os quitídios (WOODHAMS, 2018).

Exemplos como estes levam pesquisadores a cogitar uma “terapia bacteriana” contra a quitridiomicose. A ideia consiste em usar bactérias anti-*Bd* como probióticos em populações ameaçadas pela doença. Contudo, o probiótico precisa idealmente colonizar e se manter na pele do animal, liberar seus metabólitos antifúngicos e se propagar pela população (REBOLLAR, MARTÍNEZ-UGALDE & ORTA, 2020), além de precisar interagir positivamente tanto com as bactérias residentes, quanto com as defesas do próprio hospedeiro (BLETZ *et al.*, 2013). Apesar de parecer difícil, a já mencionada *J. lividum* já foi testada como probiótico algumas vezes, aumentando a sobrevivência de anfíbios infectados com *Bd* (BECKER *et al.*, 2009; HARRIS *et al.*, 2009; KUENEMAN *et al.*, 2016).

2.3 Relevância das bactérias cultiváveis

As ferramentas de metagenômica permitiram uma perspectiva aprofundada e muito mais completa da riqueza e diversidade microbiana em diversos ecossistemas (WOOLEY, GODZIK & FRIEDBERG, 2010), o que pode dar a impressão de que a microbiologia clássica, baseada no cultivo de microrganismos, estaria obsoleta. Contudo, o ideal é a utilização das duas abordagens de forma complementar, uma vez que os estudos de fisiologia, bioquímica e biotecnologia muitas vezes requerem culturas puras. Bactérias cultiváveis também podem

representar táxons raros que não seriam detectados por metodologias moleculares. E, além disso, culturas puras servem de cepas de referência para os bancos de dados utilizados pelas técnicas metagenômicas (STEWART, 2012; PRAKASH *et al.*, 2013).

As culturas puras são muito importantes para terem seus atributos explorados, como é o caso de seus metabólitos. Mendoza *et al.* (2012), por exemplo, lidaram com a problemática das bactérias multirresistentes a antibióticos na ranicultura, trabalhando com as bactérias cultiváveis de *Lithobates catesbeianus*, com o objetivo de selecionar cepas com potencial antimicrobiano para serem usadas como probióticos. Já em uma linha mais ecológica, Rebollar *et al.* (2019) testaram o sobrenadante de culturas bacterianas de três espécies de anuros contra o *Bd*, gerando dados importantes tanto para entender a influência da filogenia na abundância de cepas anti-*Bd*, quanto para enriquecer a discussão sobre uma terapia bacteriana para remediar os impactos da quitridiomicose.

A necessidade de cultivar bactérias também se sustenta naqueles microrganismos considerados “não-cultiváveis”. A maioria dos ecossistemas da Terra não são ricos em nutrientes como um meio de cultura de laboratório (VITOUSEK *et al.*, 1997). Portanto, os microrganismos mais ecologicamente relevantes são aqueles oligotróficos, de crescimento lento, mais desafiadores para o cultivo (OVERMANN, 2006; PRAKASH *et al.*, 2013). A prospecção e novas tentativas de isolar bactérias não antes cultivadas gera espaço para a descoberta de novas espécies, que enriquecem os bancos de dados genômicos e podem trazer à luz da ciência novos recursos naturais (STEWART, 2012; GREEN *et al.*, 2010; YAN *et al.*, 2024).

No caso de *A. maranguapensis*, seu microbioma foi avaliado recentemente por técnicas de metagenômica. Dentre os resultados, não se pôde identificar quase 30% das bactérias a nível de gênero, podendo indicar novas espécies bacterianas em meio à microbiota cutânea do anfíbio (RODRIGUES, 2025). Portanto, o estudo das cultiváveis da pele desse anuro pode ser um primeiro passo para a descrição de novos táxons microbianos. Além de consistirem em possíveis microrganismos anti-*Bd*, que podem estar contribuindo com a proteção do animal, que, até o presente momento, não foi registrado como hospedeiro do fungo.

2.4 Adelophryne maranguapensis

O gênero *Adelophryne* foi estabelecido em 1984, incluindo anuros amazônicos diminutos, que possuem, dentre outras características, dígitos planos com discos

assimetricamente pontudos, lateralmente sulcados e alongados. A descrição do gênero revelou duas espécies: *A. adiastola* e *A. gutturosa* (HOOGMOED & LESCURE, 1984).

Dez anos depois, três novas espécies de *Adelophryne* foram descritas, mas não em território amazônico. *A. pachidactyla*, *A. baturitensis* e *A. maranguapensis* ocorrem em regiões florestais do nordeste brasileiro, a pelo menos 1600 km de distância das espécies amazônicas já mencionadas. Tal distribuição esparsa se dá provavelmente pela separação da Floresta Amazônica e da Mata Atlântica, após um longo histórico de conexões. Isso deixou certos grupos restritos a refúgios úmidos, como a Serra de Maranguape, onde *A. maranguapensis* habita (HOOGMOED, BORGES & CASCON, 1994; LEDO & COLLI, 2017).

Adelophryne maranguapensis é endêmico da Serra de Maranguape, Ceará. A espécie compartilha a região com *A. baturitensis*, mas se diferencia morfologicamente deste principalmente por ser maior e por todos os seus dedos possuírem um disco terminal (HOOGMOED, BORGES & CASCON, 1994). O anuro é bromelígeno, isto é, associa-se profundamente às bromélias, sendo elas necessárias para a sua reprodução (PEIXOTO, 1977). As espécies mais utilizadas são *Guzmania lingulata* e *Vriesea cearenses*, por serem as mais abundantes das regiões mais úmidas e altas da serra. Nas axilas das folhas, as fêmeas depositam 3 a 8 ovos que passam por um breve cuidado parental e desenvolvem-se de forma direta até a liberação dos juvenis (CASSIANO-LIMA *et al.*, 2011 & CASSIANO-LIMA *et al.*, 2020). Estes, ao longo de sua vida, apresentarão hábitos diurnos, alimentando-se principalmente de formigas e ácaros na serrapilheira (ARAÚJO *et al.*, 2023).

Atualmente, rã de Maranguape enfrenta um grande risco de extinção, sendo categorizada como ‘Criticamente em Perigo (CR)’ pela lista vermelha da IUCN (2023). A espécie é característica de floresta primária, tendo sua área consideravelmente restrita, em torno de apenas 4 km². Somando isso ao fato de a região ser uma Área de Uso Sustentável, onde é permitido o cultivo de monoculturas e outras atividades antrópicas, tem-se como consequência a redução da população de *A. maranguapensis* (IUCN, 2023; CAMPOS, BRITO & SOLÉ, 2013). Outra possível preocupação está na redução da população das próprias bromélias, essenciais para a reprodução do anfíbio. Dentre as espécies utilizadas pelo animal, *Guzmania sanguinea* e *Vriesea cearenses* encontram-se classificadas como ‘Em Perigo (EN)’ na literatura científica (FREITAS, 2023). Tal contexto evidencia a necessidade de medidas de conservação direcionadas à rã.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

Isolar e identificar bactérias cultiváveis associadas a pele de *Adelophryne maranguapensis*, uma rã criticamente ameaçada e endêmica de um enclave úmido da Caatinga.

3.2 Objetivos específicos

- Isolar os morfotipos bacterianos provenientes da pele de *Adelophryne maranguapensis*.
- Extrair o DNA dos isolados para realizar a PCR do gene 16S rRNA
- Sequenciar os produtos da PCR do gene 16S rRNA e analisar os resultados para identificação molecular.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta

Três indivíduos de *A. maranguapensis* foram coletados manualmente a partir do interior de bromélias pertencentes às espécies *Vriesea cearensis* e *Aechmea pernambucensis* (Tabela 1). Para garantir a biossegurança e evitar contaminações entre amostras, foram utilizadas luvas nitrílicas descartáveis, substituídas a cada novo espécime manipulado (Figura 1).

Figura 1 – Indivíduo de *A. maranguapensis* manipulado com luvas de nitrila



Fonte: Autoral

Tabela 1 – Dados dos espécimes que tiveram as amostras coletadas

Identificação das amostras	Data da coleta	Período	Sexo	Bromélia
A51	Abril / 2024	Chuvoso	Fêmea	<i>Aechmea pernambucensis</i>
A52	Abril / 2024	Chuvoso	Macho	<i>Vriesea cearensis</i>
A53	Abril / 2024	Chuvoso	Macho	<i>Aechmea pernambucensis</i>

Fonte: Autoral

Após a captura, os animais passaram por um processo de limpeza com água destilada, a fim de remover resíduos sólidos e partículas de solo aderidas ao corpo. Posteriormente, realizou-se a amostragem da microbiota cutânea por meio de swabs estéreis, aplicados nas regiões dorsal, ventral e nos dígitos.

Os swabs foram então acondicionados em microtubos contendo uma solução conservante composta por partes iguais de meio TSB e glicerol, adequada tanto para o transporte quanto para o armazenamento das amostras, de acordo com Rebollar et al (2019). Cada tubo foi rotulado e mantido sob refrigeração em caixas térmicas com gelo até a chegada ao laboratório, onde as amostras foram armazenadas a -20 °C até o momento de serem processadas para o cultivo microbiano.

4.2 Isolamento das bactérias

Para o isolamento dos morfotipos, seguiu-se o protocolo estabelecido por Rebollar et al. (2019) com algumas modificações. Após a coleta, as amostras contidas em TSB:glicerol foram deixadas em temperatura ambiente até o completo descongelamento. Em seguida, foram agitadas levemente em *vortex* por 5 segundos e submetidas a diluições em proporções de 1:5 e 1:50, com o objetivo de minimizar o risco de crescimento excessivo de microrganismos. A partir dessas diluições, foram aplicados 20 µl de cada amostra em placas de meio ágar R2A.

As placas foram mantidas em temperatura ambiente, variando entre 24 e 26 °C, e observadas diariamente durante um período de 14 dias. Colônias com características morfológicas distintas foram selecionadas das placas originais e repicadas em novas placas de ágar R2A para obtenção de culturas isoladas.

Após a purificação, os isolados passaram por extração de DNA e, posteriormente, foram preservados a -80 °C em microtubos Eppendorf contendo TSB:glicerol.

4.3 Extração de DNA, PCR e Sequenciamento

A extração do DNA genômico foi realizada com base em um protocolo de termólise adaptado de Da Conceição Aquino de Sá et al. (2013), com algumas modificações.

Colônias bacterianas cultivadas foram suspensas em 400 µL de água ultrapura estéril, em microtubos tipo Eppendorf, e homogeneizadas utilizando *vortex*. As amostras foram então submetidas a aquecimento em banho-maria com água fervente por 11 minutos, seguido de um choque térmico em refrigerador a -80 °C por 4 minutos. Após esse processo, os tubos foram centrifugados a 12.000 rpm durante 5 minutos, e 300 µL do sobrenadante contendo o DNA foram transferidos para novos microtubos.

A quantificação do DNA extraído foi realizada por meio da absorbância a 260 nm (A260), utilizando o espectrofotômetro Nanodrop ND100 (Nanodrop, Wilmington, DE, EUA). As razões A260/280 e A260/230 foram utilizadas para avaliar a pureza do DNA. Em seguida, as amostras foram diluídas em água ultrapura até atingirem uma concentração final de 5 ng/µL e armazenadas a -20 °C até sua utilização.

A amplificação do gene do RNA ribossomal 16S foi conduzida utilizando os pares de primers 27F (5'-AGAGTTGATCMTGGCTCAG-3') e 1525R (5'-AGAAAGGAGGTGATCCAGCC-3'), conforme descrito por Wawrik et al. (2005) e Syukur et al. (2014). As reações de PCR foram realizadas em um volume final de 25 µL, contendo a concentração final de tampão *GoTaq* 1X (Promega), MgCl₂ 3 mM, dNTPs 0,2 mM, Primer 27F 0,5 mM, Primer 1525R 0,5 mM, GoTaq DNA polimerase 1U e DNA 60 ng. As amplificações ocorreram em um termociclador Eppendorf Mastercycler (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha), com o seguinte protocolo térmico: desnaturação inicial a 95 °C por 2 minutos, seguida por 30 ciclos compostos de desnaturação a 95 °C por 1 minuto, anelamento a 55 °C por 1 minuto e extensão a 72 °C por 1 minuto, finalizando com uma extensão final a 72 °C por 10 minutos.

A verificação da especificidade da PCR e do tamanho esperado dos fragmentos amplificados foi feita por meio de eletroforese em gel de agarose a 1% (m/v), corado com SYBR™ Safe. Os géis foram submetidos à corrida eletroforética em tampão TAE 0,5X e

visualizados sob luz ultravioleta. A presença de bandas na região de aproximadamente 1500 pares de bases confirmou o sucesso da amplificação, sendo essa comparação realizada com base em um marcador molecular de 1 kb.

O sequenciamento do DNA foi realizado por meio da técnica de Sanger, empregando os primers 518F (5'-CCAGCAGCCGCGTAATACG-3') e 800R (5'-TACCAGGGTATCTAATCC-3') para amplificação de uma região do gene 16S rRNA, conforme protocolo da empresa BPI Biotecnologia (<https://bpibiotecnologia.com.br>). As sequências geradas foram posteriormente processadas no software CodonCode Aligner 12.0.3 (www.codoncode.com), no qual foram removidas as bases localizadas nas extremidades com qualidade inferior a Phred 30. Após essa filtragem, as leituras foram alinhadas para formar uma sequência contígua (contig).

A sequência contig resultante foi submetida à análise de similaridade por meio do algoritmo BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (ALTSCHUL, 1990), utilizando o banco de dados “nucleotide collection”. Os isolados que apresentaram alinhamento com apenas um gênero bacteriano, com porcentagem de identidade superior a 97%, foram considerados como pertencentes a esse respectivo gênero.

5 RESULTADOS

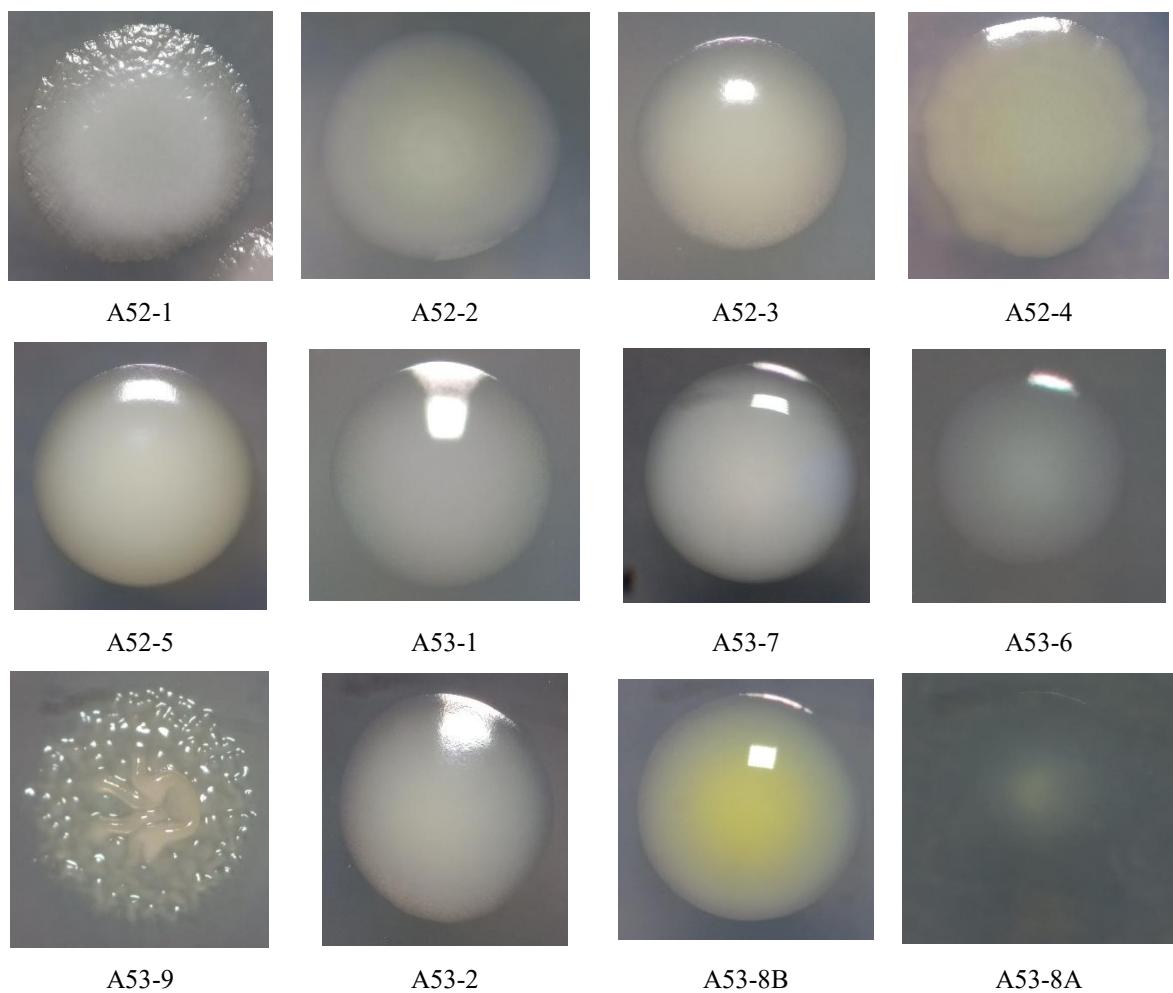
5.1 Isolamento

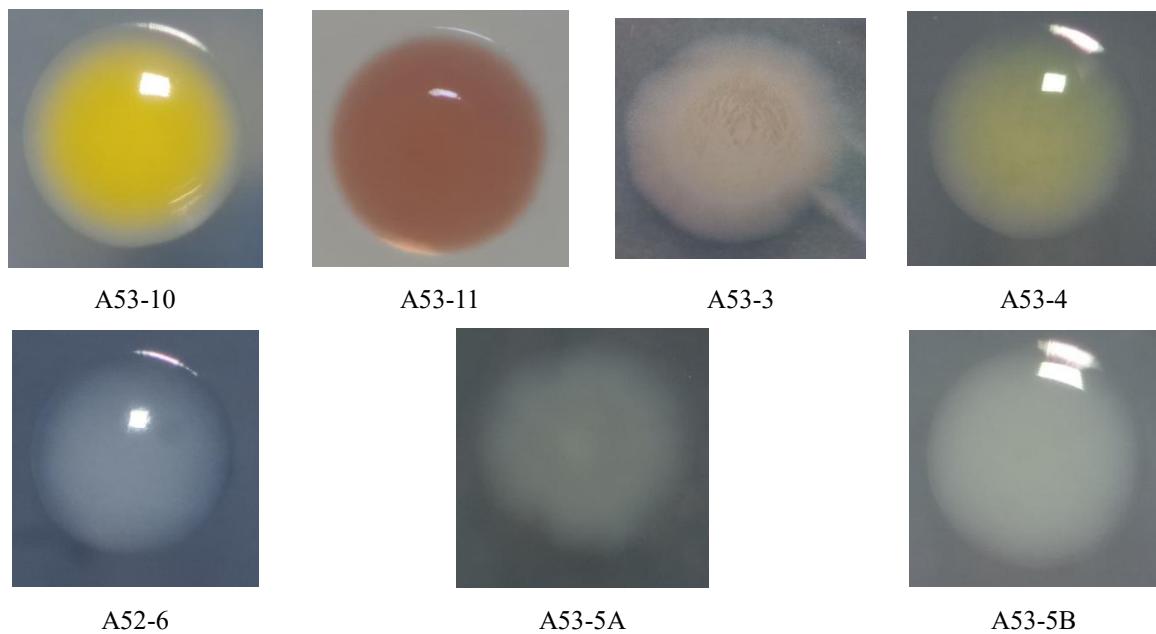
As três amostras, A51, A52 e A53, apresentaram respectivamente uma quantidade de 150, 375 e 425 UFC/mL, compreendendo 4, 8 e 21 morfotipos respectivamente.

5.2 Caracterização morfológica dos morfotipos

A Figura 2 mostra a diversidade da morfologia das colônias da pele de *Adelophryne maranguapensis*. Elas foram diferenciadas com base nas suas características macroscópicas como cores, tamanho, relevo, opacidade, bordas, entre outras.

Figura 2 – Diversidade morfológica das colônias





Fonte: Autoral

5.3 Identificação molecular dos morfotipos

Dos 33 morfotipos isolados submetidos às metodologias de extração e PCR, resultou-se em 13 amostras aptas ao sequenciamento. Uma delas não resultou em um sequenciamento de qualidade, gerando, portanto, 12 isolados sequenciados, com uma cobertura de 769 a 1107 pares de base do gene RNAr 16S (Tabela 1).

Tabela 2 – Estirpes identificadas por sequenciamento do gene RNAr 16S

Estirpe	Identificação	Espécie mais relacionada no GenBank (Consenso ID)	ID (%)	Tamanho (pb)	Números de Acesso Genbank
A51-2	<i>Dermacoccus</i> sp.	<i>Dermacoccus nishinoiyaensis</i>	99,89%	873	CP147844.1
A51-3	Bacillaceae	<i>Cytobacillus kochii;</i> <i>Bacillus</i> sp.; <i>Neobacillus pochoensis</i>	100%	898	OR431994.1; MH671860.1; KX981403.1
A52-1	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Bacillus mycoides;</i> <i>B. cereus;</i> <i>B. paranthracis</i>	100%	1077	MN710438.1; KU160382.1; ON150906.1
A52-2	<i>Paenibacillus</i> sp.	<i>Paenibacillus</i> sp. HS16-12; <i>P. radicibacter</i>	99,60%; 98,89%	992	AM162321.1; OP402864.1

A52-5	<i>Kocuria</i> sp.	<i>Kocuria palustres;</i> <i>K. assamensis</i>	100%	1086	OP389235.1 e MZ203713.1
		<i>Orlajensenia flava;</i>	98,91%;		OZ241748.1;
		<i>Microbacterium</i> sp.;	97,92%;		KF194339.1;
A53-5A	Microbacteriaceae	<i>Microterricola</i> sp.; <i>Leifsonia</i> sp.;	97,82%; 97,43%;	1010	JN597284.1; MN901216.1;
		<i>Cryobacterium</i> sp.	97,03%		MW296059.1
		<i>Orlajensenia flava;</i>	98,83%;		NR_180471.1;
		<i>Microbacterium</i> sp.;	97,98%;		KF194339.1;
A53-5B	Microbacteriaceae	<i>Microterricola</i> sp.; <i>Leifsonia</i> sp.;	97,86%; 97,47%;	1039	JN597284.1; MN901216.1;
		<i>Cryobacterium</i> sp.	97,06%		MW296059.1
		<i>Leifsonia shinshuensis;</i>	100%;		MZ296758.1;
		<i>L. aquática;</i>	100%;		KC952983.1;
A53-6	<i>Leifsonia</i> sp.	<i>L. virtsii;</i> <i>L. lichenia;</i> <i>L. xyli</i>	99,88%; 99,88%; 99,88%	811	OQ836671.1; KY908321.1; OP986524.1
		<i>Leifsonia aquática;</i>			
A53-8B	Microbacteriaceae	<i>Lysinimonas</i> sp. LM-2018	100%	889	OL614685.1; MG934602.1
		<i>Mycobacterium</i> sp.			
A53-10	Mycobacteriaceae	<i>FI</i> 1033; <i>Mycolicibacterium madagascariense</i>	99,53%; 99,24%	1057	JQ691552.1; NR_104690.1
A53-15	<i>Jatrophihabitans</i> sp.	<i>Jatrophihabitans</i> sp. L2.3_R_3	98,95%	953	OR799528.1
		<i>Orlajensenia flava;</i>	98,73%;		OZ241748.1;
A53-19	Microbacteriaceae	<i>Microbacterium</i> sp.; <i>Microterricola</i> sp.; <i>Leifsonia</i> sp.	98,10%; 97,73%; 97,37%	1107	KF194339.1; JN597284.1; MN901216.1

Fonte: Autoral

As bactérias encontradas estão divididas entre dois filos: Actinobacteria (9/12) e Firmicutes (3/12), sendo a família Microbacteriaceae a mais abundante, correspondendo a 50% das cepas (6/12).

Apesar de algumas terem alto percentual de similaridade (> 97%) a nível de espécie, a própria natureza desta análise, utilizando apenas parte do gene 16S, só torna confiável identificações à nível de gênero. Contudo, três cepas de Microbacteriaceae só puderam ser

registradas a nível de família. Este foi o caso de A53-5A, A53-5B e A53-19, que obtiveram similaridades relativamente próximas com múltiplos gêneros da família.

A53-8B também obteve 100% de similaridade para outro gênero além de *Leifsonia*: *Lysinimonas*. Enquanto A53-10 apresentou uma similaridade muito alta com *Mycolicibacterium* (99,24%), apesar de ligeiramente maior com *Mycobacterium* (99,53%).

Por fim, também foi observado o mesmo percentual de similaridade entre os gêneros *Cytobacillus*, *Neobacillus* e *Bacillus* para A51-3, o que gera certeza apenas de sua família: Bacilaceae.

6 DISCUSSÃO

Dentre os 34 isolados da pele da *A. maranguapensis*, metade foi identificada como pertencente à família Microbacteriaceae. O grupo pode ser encontrado em uma variedade de ambientes terrestres e aquáticos, podendo se associar a plantas, animais, fungos, algas, além de espécimes clínicos (EVTUSHENKO, 2015).

Com base na literatura científica, diversos representantes dessa família já demonstraram alto potencial biotecnológico, incluindo a participação na estrutura de bioagregados no tratamento de esgoto (DING *et al.*, 2015) e a biodegradação de hidrocarbonetos poliaromáticos (KAVAMURA & ESPOSITO *et al.*, 2010), além de atividades antibióticas (WANG *et al.*, 2021) e antitumorais (VALLIAPPAN, SUN & LI, 2014).

Além disso, algumas bactérias da família Microbacteriaceae associadas a plantas já demonstraram ser promotoras de crescimento vegetal (HAMMEDI & MOHAMMADIPANAH, 2015), enquanto um *Curtobacterium* isolado do solo já foi registrado com ação celulolítica (KOECK *et al.*, 2014). Ambos os atributos são valiosos na perspectiva biotecnológica. Tendo em vista que *A. maranguapensis* é uma rã profundamente associada a plantas (CASSIANO-LIMA *et al.*, 2011), que costuma habitar a serrapilheira (ARAÚJO *et al.*, 2023) e que tem um microbioma cutâneo profundamente associado ao ambiente a sua volta (RODRIGUES, 2025), o isolamento das microbactérias do presente trabalho é um avanço na exploração dessas cepas e das suas possíveis aplicações biotecnológicas.

Esse grupo de actinobactérias também pode estar associado a sistemas cutâneos, com espécies descritas e já cultivadas da pele humana (BOXBERGER *et al.*, 2021; BOXBERGER *et al.*, 2023). A espécie *Microbacterium oxydans* já foi isolada da pele do peixe *Salvelinus fontinalis*, e foi testada em consórcio contra a doença fúngica columnaris, reduzindo a mortalidade em quatro famílias diferentes de peixe, o que configura um potencial probiótico para esses microrganismos (BOUTIN *et al.*, 2012). A possibilidade de uma microbactéria com potencial antifúngico e capaz de agir como probiótico reforça a importância de se estudar as estirpes da família Microbacteriaceae recém-isoladas, especialmente no contexto da quitridiomicose.

Estudos que avaliam o microbioma da pele de anfíbios já registraram representantes dessa família (PROENÇA *et al.*, 2021; TONON *et al.*, 2021; RAJPUT, ZHOU & MEEGASKUMBURA, 2021). Alguns deles, inclusive, quando avaliados contra o *Bd*, apresentando microbactérias inibidoras e facilitadoras do crescimento do fungo (HOLDEN *et*

al., 2015). Em Becker *et al.* (2015), o gênero *Microbacterium* teve a maior proporção de isolados que contribuíram com o crescimento do *Bd*, em meio a 450 isolados de 67 anuros distribuídos em 11 espécies diferentes. Isso indica que essas bactérias podem não representar os melhores artifícios contra o quitrídio, mas têm o potencial de ajudar no entendimento da infecção em si, como a sensibilidade diferencial das espécies ao *Bd*.

Leifsonia faz parte da família Microbacteriaceae, podendo estar associada a animais e plantas, além de incluir espécies oportunistas e patogênicas (EVTUSHENKO, 2015), como é o caso de *L. xyli*, um patógeno obrigatório e restrito da cana-de-açúcar (MONTEIRO-VITORELLO *et al.*, 2004). Já *L. aquatica*, a espécie tipo do gênero, foi inicialmente isolada de água destilada, sendo conhecida por inúmeros registros de infecções oportunistas em pacientes imunossuprimidos, especialmente através de cateteres contaminados (CARVALHO *et al.*, 2021).

Assim como outros exemplos da família, representantes do gênero *Leifsonia* podem ter propriedades úteis para a indústria. Um exemplo se encontrar no trabalho de He *et al.* (2022), onde uma *Leifsonia*, que havia sido isolada de uma larva, produziu uma Beta-glucosidase tolerante à inibição por glicose, característica relevante para o processamento de alimentos, bebidas e biocombustíveis. Enquanto Velmurugan *et al.* (2015) isolou uma espécie de *Leifsonia* da minhoca *Eisenia fetida*, e o microrganismo se demonstrou sintetizador de celulose bacteriana, universalmente almejada e útil para as indústrias alimentícia, têxtil, médica, ambiental e papeleira. Os dois exemplos além de evidenciarem a importância de se estudar exemplares do gênero, também demonstram a possibilidade dessas bactérias estarem associadas a animais, como as cepas isoladas no presente trabalho.

Contudo, esse gênero já foi identificado anteriormente na pele de anfíbios. Costa *et al.* (2016) registrou a microbactéria em *Pelophylax perezi* de ambiente contaminado por metais. Já Piccinni *et al.* 2021 identificou o gênero dentre os mais abundantes em um anuro estritamente aquático: *Xenopus laevis*. Entretanto, diferente de outros membros da família, a literatura não tem *Leifsonia* como um microrganismo eficaz contra o *Bd* (LOYAL *et al.*, 2024). Também vale ressaltar que o gênero foi identificado com uma abundância acima de 7% na folha de *Vriesea cearensis*, regularmente utilizada por *A. maranguapensis* durante sua reprodução (RODRIGUES, 2025). Isso pode indicar a origem das cepas registradas no presente trabalho.

Vale mencionar que “*Leifsonia*” não é um grupo historicamente coerente. Apesar de haverem espécies filogeneticamente bem relacionadas, formando o grupo “*Leifsonia sensu*

stricto”, como *L. aquatica*, *L. xyli*, *L. shinshuensis* e *L. naganoensis*, existem outras que se encontram distribuídas de forma polifilética (EVTUSHENKO, 2015). Essas, que não contribuem para a formação de um grupo coerente, vêm sendo atribuídas a gêneros diferentes, como é o caso de *L. ginsengi* e *L. pindariensis*, convertidas, respectivamente, a *Herbiconiux ginsengi* (BEHRENDT *et al.*, 2011) e *Microterricola pindariensis* (DHOTRE *et al.*, 2017). Outro exemplo é o trabalho de Jang *et al.* (2013), que isola um gênero novo do solo, sendo *Lysinimonas soli* a espécie tipo, e então transfere a espécie *Leifsonia kribbensis* para esse gênero (*Lysinimonas kribbensis*).

Atualmente, após outras atualizações (HEO *et al.*, 2019; LEE *et al.*, 2021), *Lysinimonas* corresponde oficialmente apenas a sua espécie tipo. Contudo, há outras possíveis espécies novas no banco de dados do GenBank, identificadas apenas a nível de gênero. A53-8B obteve 100% de similaridade com duas delas, com os seguintes números de acesso: MG934602.1 e MG934606.1. Caso a cepa seja realmente desse gênero, este seria o primeiro registro da bactéria em pele de anfíbio. Além disso, ela poderia ter algum potencial agroecológico, semelhante a *Lysinimonas* sp. M4, uma estirpe isolada da rizosfera de *Pinus thunbergii* que apresentou atividade nematicida contra o parasita *Bursaphelenchus xylophilus* (SUN, *et al.*, 2022).

Apesar de A53-5A, A53-5B e A53-19 só poderem ser identificadas com confiança apenas a nível de família, as três cepas tiveram os maiores percentuais de similaridade com a bactéria *Orlajensenia flava*. Essa espécie foi primeiramente descrita como *Glaciibacter flavus*, isolada de amostras de liquens (AN *et al.*, 2020). Bactérias associadas a liquens são potencialmente responsáveis pela aquisição de nutrientes para o nicho simbótico, especialmente nitrogênio e fósforo (BATES *et al.*, 2011).

Ainda no filo Actinomycetota, A53-15 apresentou o maior percentual de similaridade para *Jatrophihabitans* sp., uma bactéria que se demonstrou um dos gêneros mais abundantes na pele de *A. maranguapensis* por análises independentes de cultivo (RODRIGUES, 2025), representando o único registro desse microrganismo associado à pele de um anfíbio. Este é um gênero inicialmente descrito com uma espécie tipo endofítica: *Jatrophihabitans endophiticus* (MADHAIYAN *et al.* 2013), e, desde então, diversas novas espécies têm sido descobertas associadas a solos, rizosferas e tecidos de plantas (SUH *et al.*, 2024; JIN *et al.*, 2015; GONG *et al.*, 2016; KIM *et al.*, 2015; LEE *et al.*, 2018). Rodrigues (2025) também identificou o gênero na superfície das folhas das bromélias habitadas pela rã,

possuindo uma abundância ainda maior nesse microbioma, o que pode indicar uma possível origem da bactéria.

Em adição, *A. maranguapensis* não é o primeiro exemplo de uma associação entre *Jatrophihabitans* e um membro da fauna. O gênero já foi identificado no conteúdo intestinal do peixe *Ctenopharyngodon idella* (ZHAO *et al.*, 2022) e em amostras cloacais do pássaro *Melospiza melodia* (VAZIRI *et al.*, 2021), dois animais cuja dieta envolve espécies vegetais, o que pode indicar a origem dessas bactérias no trato digestivo dos mesmos. Além disso, a relação de *Jatrophihabitans* com animais também pode ser desarmônica. O trabalho de Barros (2023) correlacionou negativamente a presença de *Jatrophihabitans* e a densidade populacional do nematódeo parasita de plantas *Meloidogyne javanica*, além de identificar uma correlação positiva do gênero com parâmetros de crescimento vegetal, o que também demonstra o potencial agrícola e ecológico do microrganismo.

A53-10 apresentou a maior similaridade com uma bactéria do gênero *Mycobacterium*, majoritariamente encontrado como microrganismos de vida livre em água e solo. Contudo, o gênero é largamente conhecido e estudado pelo seu potencial patogênico, protagonizando doenças caracterizadas por lesões granulomatosas nos tecidos, como é o caso da tuberculose, causada por *Mycobacterium tuberculosis* e da lepra, *Mycobacterium leprae* (MAGGE & WARD, 2015).

Rodrigues (2025) registrou o gênero *Mycobacterium* tanto na pele de *A. maranguapensis* quanto no fitotelmo de *Vrisea cearensis*, a água acumulada nas axilas da bromélia. Existem inúmeras espécies mycobacterianas que podem infectar animais pela água, incluindo humanos, anfíbios e répteis (MABONI, PRAKASH & MOREIRA). No caso dos anfíbios, a mycobacteriose desenvolve-se lentamente, podendo se manifestar na pele através de lesões miliares, especialmente nos dígitos e na boca (DENSMORE & GREEN, 2007). Dado que o gênero não costuma aparecer de forma simbiótica nesses animais, esses registros podem representar uma possível ameaça adicional à frágil população de *A. maranguapensis*. Portanto, se faz necessária uma investigação maior a respeito dessa questão em futuros trabalhos.

Contudo, “*Mycobacterium*” não é a única possibilidade de gênero para A53-10. Houve uma similaridade quase tão alta para *Mycolicibacterium*, um dos outros quatro gêneros separados de “*Mycobacterium*” por Gupta, Lo & Son (2018). O trabalho definiu *Mycolicibacterium* como um gênero primariamente ambiental, diferente de *Mycobacterium*, que representa a maioria das mycobactérias patógenas de humanos. Além disso, os cinco gêneros

são divididos em dois grupos geralmente aceitos: mycobactérias de crescimento lento, necessitando de mais de sete dias para formar colônias, e as de crescimento rápido, que precisam de até sete dias. Dado que A53-10 foi isolada de uma amostra ambiental, e que formou colônias em torno de três dias, o pertencimento da cepa ao gênero *Mycolicibacterium* é uma hipótese convincente, que poderá ser comprovada com um estudo mais aprofundado. E isso não eximiria o possível papel patogênico da estirpe para anfíbios, uma vez que o gênero já foi relacionado a infecções em outras espécies da herpetofauna (MURILLO *et al.*, 2024; GONZAGA *et al.*, 2024)

Em adição, *Mycolicibacterium* tem demonstrado alto potencial biorremediador, degradando hidrocarbonetos poliaromáticos (YANG *et al.*, 2021; AHMAD *et al.*, 2025), oxitetraciclina (XIA *et al.*, 2023) e apresentando genes associados ao catabolismo de derivados do plástico (JIMÉNEZ *et al.*, 2025). As suas propriedades não-patogênicas a seres humanos também tornam o gênero útil na área da saúde. *Mycolicibacterium smegmatis*, por exemplo, serve como um modelo muito mais preciso para estudar mycobacterioses, em comparação com a clássica *E. coli* (SPARKS *et al.*, 2023). Já *Mycolicibacterium brumae* tem o potencial de se envolver em possível tratamento para câncer de bexiga, superando em termos de segurança e toxicidade o tratamento convencional que utiliza *Mycobacterium bovis* (BACH-GRIERA *et al.*, 2020). Essas questões levantam o potencial biotecnológico da estripe A53-10 que pode ser explorado futuramente.

Para A52-5, há confiança a nível de gênero: *Kocuria*. As espécies do grupo são reconhecidas como comensais da pele e mucosas humanas, podendo se envolver em infecções oportunistas em pacientes imunossuprimidos (SAHIN, AY & HAYRETTIN, 2015; ZIOGOU *et al.*, 2023). Essas interações podem ocorrer também com animais silvestres, uma vez que uma espécie de *Kocuria* já foi registrada em uma lesão de pele da serpente *Epicrates angulifer*. A estirpe se demonstrou multirresistente a antibióticos, representando um potencial patógeno de animais silvestres (MARQUES *et al.*, 2023). Já o trabalho de Abarca *et al.* (2021) testou as bactérias cultiváveis da pele de 12 espécies de anuros contra uma cepa hipervirulenta do *Bd* (*Bd*-GPL-2), registrando o gênero *Kocuria* com atividade contra o fungo. Isso pode indicar o papel de A52-5 não só como comensal, mas como parte da defesa de *A. maranguapensis*.

Apesar de não haver certeza a nível de espécie, houve 100% de similaridade com inúmeras sequências de *Kocuria palustres*, uma bactéria originalmente isolada do rizoplano de *Typha angustifolia* (KOVÁCS *et al.*, 1999). Uma cepa dessa bactéria já foi identificada com genes para redutases de arsenatos, podendo contribuir com a biorremediação de solo e água

(VITAL *et al.*, 2018), enquanto outra, isolada do solo da Caatinga, se demonstrou produtora de um raro carotenoide com propriedades antioxidantes e fotoprotetoras (MENDES-SILVA *et al.*, 2021). A53-5 também teve similaridade total com algumas sequências de *Kocuria assamensis*, uma espécie que já foi registrada com alto potencial de degradação de pesticidas em solos contaminados (MEHTA *et al.*, 2021). Tais exemplos podem apontar futuros estudos com essa cepa.

Finalizando o filo Actinomycetota, A51-2 foi identificada como pertencente ao gênero *Dermacoccus*, conhecido por ser uma bactéria comensal da pele, podendo até servir como um biomarcador da dermatite atópica, uma vez que a condição leva à redução da abundância do gênero (KOH, ONG & COMMON, 2022). E não só na pele humana esse microrganismo pode ser comensal. Ellison *et al.* (2019) identificaram *Dermacoccus* como o segundo gênero mais abundante no núcleo do microbioma cutâneo do anuro *Plectrohyla*. Šrut *et al.* (2019) também demonstraram a associação de *Dermacoccus* com a fauna, mas não na pele, e sim no intestino do anelídeo *Lumbricus terrestris*. O trabalho demonstrou a utilidade do gênero como bioindicador de metais pesados, uma vez que sua abundância aumentou durante tratamentos com cádmio.

Além de sequências identificadas apenas a nível de gênero, A51-2 obteve alta similaridade com sequências de *Dermacoccus nishinomiyaensis*. A espécie já possui um histórico como patógeno oportunista (TANAKA *et al.*, 2019; JORON *et al.*, 2019; TRIGUYA *et al.*, 2023), contudo a mesma também tem alto potencial clínico, em razão da produção de manosinas, compostos que já tiveram atividades antivirais, antifúngicas, antiparasitárias, anti-inflamatórias e antitumorais reportadas (ALMATAR *et al.*, 2017). Além disso, *D. nishinomiyaensis* e uma espécie de *Kocuria* já foram usados em consórcio com o fungo *Nocardiopsis lucentensis* para a remoção de fenol da água do esgoto de Beni-Suef, Egito (HASSOUNA, ABDEL-TAWAB & ABDEL-ALEEM, 2024), evidenciando o potencial dos dois gêneros em conjunto para a biorremediação.

Entrando nas estirpes do filo Bacillota, A52-2 foi identificada como um *Paenibacillus*, uma bactéria típica de solo que contribui com a compostagem da matéria orgânica (PRIEST, 2015). Contudo, o gênero também já foi registrado na pele de anfíbios (PROENÇA *et al.*, 2021), além de se demonstrar um dos mais abundantes nos ninhos de espuma de três espécies de leptodactylídeos (MONTEIRO *et al.*, 2023). Representantes de *Paenibacillus* isolados da pele de anfíbios não só já demonstraram ação antifúngica (LAUER *et al.*, 2008; SUSILAWATI *et al.*, 2021), como já inibiram o crescimento do *Bd* (HARRIS *et al.*,

al., 2006). Além disso, o gênero é conhecido por suas aplicações em diversos setores, como na indústria agrícola e médica (GRADY *et al.*, 2016). Isso demonstra múltiplos potenciais para a estirpe em questão, em especial a capacidade de inibir o fungo quitrídio, que poderá ser testada futuramente.

A família Bacillaceae contou com duas estirpes: A52-1 e A51-3. A primeira é do gênero *Bacillus*, largamente conhecido e diverso, geralmente bem cultivado em meios complexos de rotina, como ágar nutritivo e TSA (LOGAN & VOS, 2015). O gênero tem inúmeras utilidades, suas proteases são aplicadas nas indústrias têxtil, farmacêutica, alimentícia e de detergentes (CONTESINI, MELO & SATO, 2017). Além disso, diversos antimicrobianos, incluindo antifúngicos, já foram isolados de espécies de *Bacillus* (MONGKOLTHANARUK, 2012). Um exemplo é *B. thuringiensis*, utilizado como biopesticida, que teve seus compostos orgânicos voláteis testados contra o *Bd*, resultando na inibição de crescimento do quitrídio (KLOSER, STOCKTON & WEEKS, 2024). *Bacillus* também já foram registrados como comensais da pele de anfíbios, sendo identificados tanto como inibidores de *Bd* (HARRIS *et al.*, 2006; LOUDON *et al.*, 2014), quanto de outros fungos potencialmente prejudiciais a esses animais (LAUER *et al.*, 2008).

A52-1 apresentou 100% de similaridade com sequências registradas apenas a nível de gênero, com uma de *B. cereus* e uma de *B. paramyoides*. Contudo, essa mesma similaridade se deu com múltiplas sequências de *B. mycoides*, uma espécie encontrada principalmente em solo (LOGAN & VOS, 2015). O trabalho de Magalhães (2016) estudou as bactérias cultiváveis do ranídeo *Pelophylax perezi*, incluindo uma cepa de *B. mycoides*. O estudo não só demonstrou a atividade antibiótica da estirpe, como a usou como probiótico para a proteção de girinos em solução com a patogênica *Aeromonas salmonicida*, reduzindo a mortalidade dos animais. Futuros estudos com A52-1 podem verificar tanto o seu potencial anti-*Bd*, quanto a capacidade de utilizar a cepa como probiótico no contexto da quitridiomicose.

Já A51-3 apresentou máxima similaridade com três gêneros filogeneticamente próximos: *Bacillus*, *Cytobacillus* e *Neobacillus*. Os três só foram separados de “*Bacillus*” a pouco tempo, pelo trabalho de Patel & Gupta (2020). *Neobacillus* já foi registrada em diversos ambientes, de rizosferas (SANTOYO, 2021) à pele de morcegos (COLLEY, 2022). Alguns estudos demonstraram a síntese de enzimas de interesse para a indústria no gênero (EJAZ *et al.*, 2023; RASHID *et al.*, 2024), além de nanopartículas com ação antibiótica e anticâncer (EL-SAPAGH *et al.*, 2024) e antifúngicos (ROUTHU *et al.*, 2021). Enquanto *Cytobacillus* já demonstrou potencial como probiótico humano (YADAV *et al.*, 2022), detoxificador de

agroprodutos (YANG *et al.*, 2023), degradador de poluentes derivados do petróleo (PANDEY *et al.*, 2025), biocontrolador de nematódeos parasitas de plantas (PIRES *et al.*, 2022) e na biocimentação (MOQSUD & GOCHI *et al.*, 2023), além se envolver na síntese de nanopartículas com atividade catalítica, antimicrobiana e antioxidante (VADIVEL *et al.*, 2023). Portanto, tais informações demonstram a importância de fazer estudos mais aprofundados que estabeleçam o táxon de A51-3 e explorem seu potencial biotecnológico.

7 CONCLUSÃO

A pele de *A. maranguapensis* apresenta bactérias cultiváveis que foram identificadas como pertencentes a gêneros já relatados por estarem amplamente presente em amostras ambientais, como espécies características de solo e outras conhecidamente associadas a plantas. A literatura demonstra o potencial não só biotecnológico dessas estirpes, mas também a possível contribuição delas com a saúde do anfíbio, com a produção de antimicrobianos, o que pode incluir antifúngicos e, mais especificamente, metabólitos anti-*Bd*.

Faz necessário estudos mais aprofundados que busquem explorar esses potenciais, podendo elucidar os mecanismos de interação entre essas bactérias e seu hospedeiro anfíbio, bem como desenvolver produtos de interesse biotecnológico, o que pode incluir probióticos para uma terapia bacteriana contra o fungo quitrídio.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABARCA, Juan G. *et al.* Genotyping and differential bacterial inhibition of *Batrachochytrium dendrobatidis* in threatened amphibians in Costa Rica. *Microbiology*, v. 167, n. 3, p. 001017, 2021.
- AHMAD, Manzoor *et al.* Unraveling the genomic and metabolic mechanisms of pyrene and phenanthrene degradation by *Mycolicibacterium* sp. SCSIO 43805: A high-Efficiency bacterium isolated from seagrass sediment. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 202, p. 106101, 2025.
- ALMATAR, Manaf *et al.* Are there any other compounds isolated from *Dermacoccus* spp at all?. *Current microbiology*, v. 74, n. 1, p. 132-144, 2017.
- AN, De-Feng *et al.* *Glaciibacter flavus* sp. nov., isolated from a lichen sample. *Archives of Microbiology*, v. 203, n. 5, p. 2439-2444, 2021.
- BACH-GRIERA, Marc *et al.* *Mycolicibacterium brumae* is a safe and non-toxic immunomodulatory agent for cancer treatment. *Vaccines*, v. 8, n. 2, p. 198, 2020.
- BARRANTES MURILLO, Daniel Felipe *et al.* Coinfection by *Mycobacterium marinum* and *Mycolicibacterium fortuitum* in a captive adult diamondback water snake causing disseminated mycobacteriosis with acute cutaneous ulceration. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 36, n. 2, p. 269-273, 2024.
- BATAILLE, Arnaud *et al.* Microbiome variation across amphibian skin regions: implications for chytridiomycosis mitigation efforts. *Microbial ecology*, v. 71, n. 1, p. 221-232, 2016.
- BATES, Scott T. *et al.* Bacterial communities associated with the lichen symbiosis. *Applied and environmental microbiology*, v. 77, n. 4, p. 1309-1314, 2011.
- BECKER, Matthew H. *et al.* Phylogenetic distribution of symbiotic bacteria from Panamanian amphibians that inhibit growth of the lethal fungal pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Molecular ecology*, v. 24, n. 7, p. 1628-1641, 2015.
- BECKER, Matthew H. *et al.* The bacterially produced metabolite violacein is associated with survival of amphibians infected with a lethal fungus. *Applied and environmental microbiology*, v. 75, n. 21, p. 6635-6638, 2009.

BEHRENDT, Undine *et al.* **Reclassification of *Leifsonia ginsengi* (Qiu *et al.* 2007) as *Herbiconiux ginsengi* gen. nov., comb. nov. and description of *Herbiconiux solani* sp. nov., an actinobacterium associated with the phyllosphere of *Solanum tuberosum* L.** International journal of systematic and evolutionary microbiology, v. 61, n. 5, p. 1039-1047, 2011.

BELDEN, Lisa K. *et al.* **Panamanian frog species host unique skin bacterial communities.** Frontiers in microbiology, v. 6, p. 1171, 2015.

BENNICE, Chelsea O. *et al.* **Unique skin microbiome: insights to understanding bacterial symbionts in octopuses.** Frontiers in Marine Science, v. 11, p. 1448199, 2024.

BERGER, Lee *et al.* **Life cycle stages of the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis*.** Diseases of aquatic organisms, v. 68, n. 1, p. 51-63, 2005.

BLETZ, Molly C. *et al.* **Host ecology rather than host phylogeny drives amphibian skin microbial community structure in the biodiversity hotspot of Madagascar.** Frontiers in microbiology, v. 8, p. 1530, 2017.

BLETZ, Molly C. *et al.* **Mitigating amphibian chytridiomycosis with bioaugmentation: characteristics of effective probiotics and strategies for their selection and use.** Ecology letters, v. 16, n. 6, p. 807-820, 2013.

CALLEWAERT, Chris; RAVARD HELFFER, Katia; LEBARON, Philippe. **Skin Microbiome and its Interplay with the Environment.** American Journal of Clinical Dermatology, v. 21, n. Suppl 1, p. 4-11, 2020.

CAMPOS, Felipe S.; BRITO, Daniel; SOLÉ, Mirco. **Threatened amphibians and their conservation status within the protected area network in Northeastern Brazil.** Journal of Herpetology, v. 47, n. 2, p. 277-285, 2013.

CASSIANO-LIMA, Daniel *et al.* **Reproductive biology of direct developing and threatened frog *Adelophryne maranguapensis* (Anura, Eleutherodactylidae) reveals a cryptic reproductive mode for anurans and the first record of parental care for the genus.** Journal of Natural History, v. 54, n. 27-28, p. 1721-1733, 2020.

CASSIANO-LIMA, Daniel *et al.* **The reproductive mode of *Adelophryne maranguapensis* Hoogmoed, Borges & Cascon, 1994,(Anura, Eleutherodactylidae) an endemic and**

threatened species from Atlantic Forest remnants in northern Brazil. North-Western Journal of Zoology, v. 7, n. 1, 2011.

CASTRO ARAÚJO, Kássio et al. What the minute shield frogs *Adelophryne* eat at a humid forest relict in Ceará state, northeastern Brazil. North-Western Journal of Zoology, v. 19, n. 1, 2023.

CHRISTENSEN, G. J. M.; BRÜGGEMANN, H. Bacterial skin commensals and their role as host guardians. Benef Microbes 5: 201–215 [em linha]. 2014.

COLLEY, Dana E. Investigating how bat ectoparasites influence the skin microbiome diversity and composition in Washington State bats. 2022.

CONTESINI, Fabiano Jares; MELO, Ricardo Rodrigues de; SATO, Hélia Harumi. An overview of *Bacillus* proteases: from production to application. Critical reviews in biotechnology, v. 38, n. 3, p. 321-334, 2018.

COSTA, Sara et al. Diversity of cutaneous microbiome of *Pelophylax perezi* populations inhabiting different environments. Science of the Total Environment, v. 572, p. 995-1004, 2016.

DA CONCEIÇÃO AQUINO DE SÁ, M. et al. Distribution of PLD and FagA, B, C and D genes in *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates from sheep and goats with caseus lymphadenitis. Genetics and Molecular Biology, v. 36, n. 2, p. 265–268, 2013.

DA COSTA SANTOS, Lara Valesca Mendonça et al. First characterization of cultivable skin bacteria in the synanthropic anuran *Scinax x-signatus* (ANURA: HYLIDAE) in northeast Brazil. 2024.

DAVY, Christina M. et al. Revisiting ophidiomycosis (snake fungal disease) after a decade of targeted research. Frontiers in Veterinary Science, v. 8, p. 665805, 2021.

DE CARVALHO, Ricardo Vianna et al. *Leifsonia aquatica*: Case report and literature review. Molecular and Clinical Oncology, v. 15, n. 5, p. 224, 2021.

DENSMORE, Christine L.; GREEN, David Earl. Diseases of amphibians. ILAR journal, v. 48, n. 3, p. 235-254, 2007.

DHOTRE, Dhiraj Prakash et al. Reclassification of *Phycicola gilvus* (Lee et al. 2008) and *Leifsonia pindariensis* (Reddy et al. 2008) as *Microterricola gilva* comb. nov. and

***Microterricola pindariensis* comb. nov. and emended description of the genus *Microterricola*.** International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 67, n. 8, p. 2766-2772, 2017.

DIERKING, K.; PITA, L. **Receptors mediating host-microbiota communication in the metaorganism: the invertebrate perspective.** Front Immunol 11: 1251 [em linha]. 2020.

DING, Zhiji *et al.* **Role of extracellular polymeric substances (EPS) production in bioaggregation: application to wastewater treatment.** Applied microbiology and biotechnology, v. 99, n. 23, p. 9883-9905, 2015.

DO RÊGO BARROS, Felipe Martins *et al.* **Interação entre o microbioma do solo e a atividade de nematoides na cultura da soja.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo (USP). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALA/BC).

EJAZ, Uroosa *et al.* **Characterization of a novel end product tolerant and thermostable cellulase from *Neobacillus sedimentimangrovi* UE25.** Enzyme and Microbial Technology, v. 162, p. 110133, 2023.

EL-SAPAGH, Shimaa H. *et al.* **Harnessing the power of *Neobacillus niaci* AUMC-B524 for silver oxide nanoparticle synthesis: optimization, characterization, and bioactivity exploration.** Microbial Cell Factories, v. 23, n. 1, p. 220, 2024.

ELLISON, Silas *et al.* **The influence of habitat and phylogeny on the skin microbiome of amphibians in Guatemala and Mexico.** Microbial Ecology, v. 78, n. 1, p. 257-267, 2019.

EVTUSHENKO, Lyudmila I. ***Leifsonia*.** Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria, p. 1-32, 2015.

EVTUSHENKO, Lyudmila I. ***Microbacteriaceae*.** Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria, p. 1-14, 2015.

FINDLEY, Keisha; GRICE, Elizabeth A. **The skin microbiome: a focus on pathogens and their association with skin disease.** Plos pathogens, v. 10, n. 11, p. e1004436, 2014.

FREITAS, Mateus de Sousa. **Caracterização da família Bromeliaceae em uma região de mata úmida do cristalino no estado do Ceará.** 2023.

GONG, Zhi-Lian *et al.* ***Jatrophihabitans huperziae* sp. nov., an endophytic actinobacterium isolated from surface-sterilized tissue of the medicinal plant *Huperzia serrata***

(Thunb.). International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 66, n. 10, p. 3972-3977, 2016.

GONZAGA, Cássia Regina Ramos *et al.* ***Mycolicibacterium fortuitum* Infection in Ex Situ Emerald Tree Boa (*Corallus Batesii*)**. Brazilian Journal of Microbiology, v. 55, n. 3, p. 3021-3025, 2024.

GRADY, Elliot Nicholas *et al.* **Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: a review**. Microbial cell factories, v. 15, n. 1, p. 203, 2016.

GREEN, Stefan J. *et al.* **Denitrifying bacteria isolated from terrestrial subsurface sediments exposed to mixed-waste contamination**. Applied and environmental microbiology, v. 76, n. 10, p. 3244-3254, 2010.

GRICE, Elizabeth A. **The skin microbiome: potential for novel diagnostic and therapeutic approaches to cutaneous disease**. In: Seminars in cutaneous medicine and surgery. 2014. p. 98.

GUPTA, Radhey S.; LO, Brian; SON, Jeen. **Phylogenomics and comparative genomic studies robustly support division of the genus *Mycobacterium* into an emended genus *Mycobacterium* and four novel genera**. Frontiers in microbiology, v. 9, p. 67, 2018.

HAMEDI, Javad; MOHAMMADIPANAH, Fatemeh. **Biotechnological application and taxonomical distribution of plant growth promoting actinobacteria**. Journal of industrial microbiology and biotechnology, v. 42, n. 2, p. 157-171, 2015.

HARRIS, Reid N. *et al.* **Amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* is inhibited by the cutaneous bacteria of amphibian species**. EcoHealth, v. 3, n. 1, p. 53-56, 2006.

HARRIS, Reid N. *et al.* **Skin microbes on frogs prevent morbidity and mortality caused by a lethal skin fungus**. The ISME journal, v. 3, n. 7, p. 818-824, 2009.

HASSOUNA, Mohamed El-Kassem M.; ABDEL-TAWAB, Marzooka Shaban; ABDEL-ALEEM, Adel Ahmed Mohamed. **Use of biokaolinite clay for the microbial removal of phenol from real industrial wastewater samples by *Dermacoccus nishinomiyaensis* and *Kocuria rosea***. Environmental Quality Management, v. 34, n. 1, p. e22181, 2024.

HE, Yi *et al.* **Biochemical characterization of a novel glucose-tolerant GH3 β -glucosidase (Bgl1973) from *Leifsonia* sp. ZF2019**. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 106, n. 13, p. 5063-5079, 2022.

HEO, Jun *et al.* **Protaetibacter intestinalis gen. nov., of the family Microbacteriaceae, isolated from gut of *Protaetia brevitarsis seuensis*, reclassification of *Lysinimonas kribbensis* Jang et al. 2013 as *Pseudolysinimonas kribbensis* gen. nov., comb. nov. and emended description of the genus *Lysinimonas* Jang et al. 2013.** International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 69, n. 7, p. 2101-2107, 2019.

HERNÁNDEZ-GÓMEZ, Obed *et al.* **Characterization of the cutaneous bacterial communities of two giant salamander subspecies.** Microbial ecology, v. 73, n. 2, p. 445-454, 2017.

HOFFMANN, Aline Rodrigues. **The cutaneous ecosystem: the roles of the skin microbiome in health and its association with inflammatory skin conditions in humans and animals.** Advances in Veterinary Dermatology, v. 8, p. 71-83, 2017.

HOLDEN, Whitney M. *et al.* **Skin bacteria provide early protection for newly metamorphosed southern leopard frogs (*Rana sphenocephala*) against the frog-killing fungus, *Batrachochytrium dendrobatidis*.** Biological Conservation, v. 187, p. 91-102, 2015.

HOOGMOED, M. S.; BORGES, D. M.; CASCON, P. **Three new species of the genus *Adelophryne* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae) from northeastern Brazil, with remarks on the other species of the genus.** Zoologische Mededelingen, v. 68, n. 24, p. 271-300, 1994.

HOOGMOED, Marinus Steven; LESCURE, Jean. **A new genus and two new species of minute leptodactylid frogs from northern South America, with comments upon *Phyzelaphryne* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae).** Zoologische Mededelingen, v. 58, n. 6, p. 85-115, 1984.

HOOPER, Rebecca *et al.* **Host-derived population genomics data provides insights into bacterial and diatom composition of the killer whale skin.** Molecular Ecology, v. 28, n. 2, p. 484-502, 2019.

HUGHEY, Myra C. *et al.* **Short-term exposure to coal combustion waste has little impact on the skin microbiome of adult spring peepers (*Pseudacris crucifer*).** Applied and Environmental Microbiology, v. 82, n. 12, p. 3493-3502, 2016.

IUCN SSC Amphibian Specialist Group & Instituto Boitatá de Etnobiologia e Conservação da Fauna. 2023. ***Adelophryne maranguapensis*.** The IUCN Red List of Threatened Species 2023: e.T56302A180648528.

JAMES, Timothy Y. *et al.* **Disentangling host, pathogen, and environmental determinants of a recently emerged wildlife disease: lessons from the first 15 years of amphibian chytridiomycosis research.** Ecology and evolution, v. 5, n. 18, p. 4079-4097, 2015.

JAMES, Timothy Y. *et al.* **Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny.** Nature, v. 443, n. 7113, p. 818-822, 2006.

JANG, Yun-Hee *et al.* ***Lysinimonas soli* gen. nov., sp. nov., isolated from soil, and reclassification of *Leifsonia kribbensis* Dastager et al. 2009 as *Lysinimonas kribbensis* sp. nov., comb. nov.** International journal of systematic and evolutionary microbiology, v. 63, n. Pt_4, p. 1403-1410, 2013.

JIMÉNEZ, Diego Javier *et al.* **Engineering the mangrove soil microbiome for selection of polyethylene terephthalate-transforming bacterial consortia.** Trends in biotechnology, v. 43, n. 1, p. 162-183, 2025.

JIMÉNEZ, Randall R. *et al.* **Moving beyond the host: unraveling the skin microbiome of endangered Costa Rican amphibians.** Frontiers in microbiology, v. 10, p. 2060, 2019.

JIN, Long *et al.* ***Jatrophihabitans fulvus* sp. nov., an actinobacterium isolated from grass soil.** International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 65, n. Pt_10, p. 3476-3480, 2015.

JORON, C. *et al.* ***Dermacoccus nishinomiyaensis* as a cause of persistent paediatric catheter-related bacteraemia.** Clinical Microbiology and Infection, v. 25, n. 8, p. 1054-1055, 2019.

KAVAMURA, Vanessa Nessner; ESPOSITO, Elisa. **Biotechnological strategies applied to the decontamination of soils polluted with heavy metals.** Biotechnology advances, v. 28, n. 1, p. 61-69, 2010.

KEARNS, Patrick J. *et al.* **Fight fungi with fungi: antifungal properties of the amphibian mycobiome.** Frontiers in Microbiology, v. 8, p. 2494, 2017.

KIM, Soo-Jin *et al.* ***Jatrophihabitans soli* sp. nov., isolated from soil.** International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 65, n. Pt_6, p. 1759-1763, 2015.

KLOSER, Heidi; STOCKTON, Emily M.; WEEKS, Denita M. ***Bacillus thuringiensis* volatile organic compounds (VOCs) inhibit the growth of the pathogenic amphibian fungus,**

***Batrachochytrium dendrobatidis* while autoclaved secondary metabolites promote fungal growth.** The Microbe, v. 4, p. 100118, 2024.

KOECK, Daniela E. *et al.* **Genomics of cellulolytic bacteria.** Current opinion in biotechnology, v. 29, p. 171-183, 2014.

KOH, Li Fang; ONG, Ruo Yan; COMMON, John E. **Skin microbiome of atopic dermatitis.** Allergology International, v. 71, n. 1, p. 31-39, 2022.

KOUETE, Marcel T. *et al.* **Parental care contributes to vertical transmission of microbes in a skin-feeding and direct-developing caecilian.** Animal Microbiome, v. 5, n. 1, p. 28, 2023.

KOVÁCS, Gabor *et al.* ***Kocuria palustris* sp. nov. and *Kocuria rhizophila* sp. nov., isolated from the rhizoplane of the narrow-leaved cattail (*Typha angustifolia*).** International journal of systematic and evolutionary microbiology, v. 49, n. 1, p. 167-173, 1999.

KUENEMAN, Jordan G. *et al.* **Probiotic treatment restores protection against lethal fungal infection lost during amphibian captivity.** Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, v. 283, n. 1839, p. 20161553, 2016.

KUENEMAN, Jordan G. *et al.* **The amphibian skin-associated microbiome across species, space and life history stages.** Molecular ecology, v. 23, n. 6, p. 1238-1250, 2014.

LAUER, Antje *et al.* **Diversity of cutaneous bacteria with antifungal activity isolated from female four-toed salamanders.** The ISME journal, v. 2, n. 2, p. 145-157, 2008.

LEDO, Roger Maia Dias; COLLI, Guarino Rinaldi. **The historical connections between the Amazon and the Atlantic Forest revisited.** Journal of biogeography, v. 44, n. 11, p. 2551-2563, 2017.

LEE, Keun Chul *et al.* ***Jatrophihabitans telluris* sp. nov., isolated from sediment soil of lava forest wetlands and the emended description of the genus *Jatrophihabitans*.** International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 68, n. 4, p. 1107-1111, 2018.

LEE, Shin Ae *et al.* ***Protaetibacter larvae* sp. nov. and *Agromyces intestinalis* sp. nov., isolated from the gut of larvae of *Protaetia brevitarsis seulensis*, reclassification of *Lysinimonas yzui* as *Pseudolysinimonas yzui* comb. nov. and emended description of the genus *Pseudolysinimonas*.** International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 71, n. 4, p. 004669, 2021.

- LIPS, Karen R. **Overview of chytrid emergence and impacts on amphibians.** Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, v. 371, n. 1709, p. 20150465, 2016.
- LOGAN, Niall A.; VOS, Paul De. ***Bacillus.*** Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria, p. 1-163, 2015.
- LONGO, Ana V. *et al.* **Seasonal and ontogenetic variation of skin microbial communities and relationships to natural disease dynamics in declining amphibians.** Royal Society open science, v. 2, n. 7, p. 140377, 2015.
- LOUDON, Andrew H. *et al.* **Microbial community dynamics and effect of environmental microbial reservoirs on red-backed salamanders (*Plethodon cinereus*).** The ISME journal, v. 8, n. 4, p. 830-840, 2014.
- LOYAU, Adeline *et al.* **The commensal skin microbiome of amphibian mountain populations and its association with the pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis*.** Environmental Microbiology, v. 26, n. 10, p. e16699, 2024.
- MABONI, Grazieli; PRAKASH, Niharika; MOREIRA, Maria Aparecida S. **Review of methods for detection and characterization of non-tuberculous mycobacteria in aquatic organisms.** Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v. 36, n. 3, p. 299-311, 2024.
- MADHAIYAN, Munusamy *et al.* ***Jatrophihabitans endophyticus* gen. nov., sp. nov., an endophytic actinobacterium isolated from a surface-sterilized stem of *Jatropha curcas* L.** International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 63, n. Pt_4, p. 1241-1248, 2013.
- MADIGAN, Michael T. *et al.* **Microbiologia de Brock-14^a Edição.** Artmed Editora, 2016.
- MAGALHÃES, Andreia Filipa Afonso. **Assessment of the Antimicrobial Activity of Bacterial Isolates from Frogs' Skins From Urban Zones.** 2016. Dissertação de Mestrado. Universidade de Aveiro (Portugal).
- MAGEE, John G.; WARD, Alan C. ***Mycobacterium.*** Bergey's manual of systematics of Archaea and Bacteria, p. 1-84, 2015.
- MARQUES, Inês *et al.* **First Report of *Kocuria kristinae* in the Skin of a Cuban Boa (*Epicrates angulifer*).** Life, v. 13, n. 11, p. 2133, 2023.

- MARTINS, Renato A. *et al.* **Signatures of functional bacteriome structure in a tropical direct-developing amphibian species.** Animal Microbiome, v. 4, n. 1, p. 40, 2022.
- MCGRATH-BLASER, Sarah E. *et al.* **Cutaneous bacterial microbiome description and new locality record of the poorly known striped caecilian *Ichthyophis asplenioides* Taylor, 1965 in Bruneian Borneo.** Journal of Natural History, v. 59, n. 1-4, p. 29-43, 2025.
- MCKENZIE, Valerie J. *et al.* **Co-habiting amphibian species harbor unique skin bacterial communities in wild populations.** The ISME journal, v. 6, n. 3, p. 588-596, 2012.
- MEHTA, Akshita *et al.* **Isolation, characterization and identification of pesticide degrading bacteria from contaminated soil for bioremediation.** Biologia Futura, v. 72, n. 3, p. 317-323, 2021.
- MENDES-SILVA, Tayane de Cássia Dias *et al.* **Production of carotenoid sarcinaxanthin by *Kocuria palustris* isolated from Northeastern Brazil Caatinga soil and their antioxidant and photoprotective activities.** Electronic Journal of Biotechnology, v. 53, p. 44-53, 2021.
- MENDOZA, Gabriela Montel *et al.* **Cultivable microbiota of *Lithobates catesbeianus* and advances in the selection of lactic acid bacteria as biological control agents in raniculture.** Research in Veterinary Science, v. 93, n. 3, p. 1160-1167, 2012.
- MONGKOLTHANARUK, Wiyada. **Classification of *Bacillus* beneficial substances related to plants, humans and animals.** Journal of microbiology and biotechnology, v. 22, n. 12, p. 1597-1604, 2012.
- MONTEIRO, Felipe Augusto Correia *et al.* **Neotropical frog foam nest's microbiomes.** Microorganisms, v. 11, n. 4, p. 900, 2023.
- MONTEIRO-VITORELLO, Claudia B. *et al.* **The genome sequence of the gram-positive sugarcane pathogen *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*.** Molecular Plant-Microbe Interactions, v. 17, n. 8, p. 827-836, 2004.
- MOQSUD, M. Azizul; GOCHI, Takuya. **Biocementation of slope soil by using native *Cytobacillus horneckiae*.** Bioresource Technology Reports, v. 23, p. 101520, 2023.
- OVERMANN, Jörg. **Principles of enrichment, isolation, cultivation, and preservation of prokaryotes.** In: The prokaryotes. Springer, Berlin, Heidelberg, 2013. p. 149-207.

PANDEY, R. *et al.* Isolation and characterization of a novel bacterial strain *Cytobacillus firmus* RP5 for the degradation of petroleum hydrocarbons. International journal of Environmental Science and Technology, v. 22, n. 3, p. 1849-1864, 2025.

PATEL, Sudip; GUPTA, Radhey S. A phylogenomic and comparative genomic framework for resolving the polyphyly of the genus *Bacillus*: Proposal for six new genera of *Bacillus* species, *Peribacillus* gen. nov., *Cytobacillus* gen. nov., *Mesobacillus* gen. nov., *Neobacillus* gen. nov., *Metabacillus* gen. nov. and *Alkalihalobacillus* gen. nov. International journal of systematic and evolutionary microbiology, v. 70, n. 1, p. 406-438, 2020.

PEIXOTO, Oswaldo Luiz. Anfíbios anuros associados às bromeliáceas nos Estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo. 1977.

PICCINNI, Maya Z. *et al.* The skin microbiome of *Xenopus laevis* and the effects of husbandry conditions. Animal Microbiome, v. 3, n. 1, p. 17, 2021.

PIRES, David *et al.* The fight against plant-parasitic nematodes: Current status of bacterial and fungal biocontrol agents. Pathogens, v. 11, n. 10, p. 1178, 2022.

PRAKASH, Om *et al.* Microbial cultivation and the role of microbial resource centers in the omics era. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 97, n. 1, p. 51-62, 2013.

PRIEST, Fergus G. *Paenibacillus*. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria, p. 1-40, 2015.

PROENÇA, Diogo Neves *et al.* Characterization of the skin cultivable microbiota composition of the frog *Pelophylax perezi* inhabiting different environments. International Journal of Environmental Research and Public Health, v. 18, n. 5, p. 2585, 2021.

RAJPUT, Amrapali Prithvisingh; ZHOU, Shipeng; MEEGASKUMBURA, Madhava. A contribution to the larval amphibian microbiome: characterization of bacterial microbiome of *Ichthyophis bannanicus* (Order: Gymnophiona) and comparison with the other two amphibian orders. bioRxiv, p. 2021.09. 20.461075, 2021.

RASHID, Rozina *et al.* Xylanase from *Neobacillus sedimentimangrovi* UE25: characterization, purification and applications. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, v. 60, p. 103331, 2024.

REBOLLAR, Eria A. *et al.* Integrating the role of antifungal bacteria into skin symbiotic communities of three Neotropical frog species. *The ISME Journal*, v. 13, n. 7, p. 1763-1775, 2019.

REBOLLAR, Eria A.; MARTÍNEZ-UGALDE, Emanuel; ORTA, Alberto H. The amphibian skin microbiome and its protective role against chytridiomycosis. *Herpetologica*, v. 76, n. 2, p. 167-177, 2020.

RODRIGUES, Victor Lucas Moraes. Diversidade taxonômica do microbioma associado à pele de *Adenophryne maranguapensis* (Eleutherodactylidae): uma rã bromelígena, endêmica e criticamente ameaçada. 2025.

ROSS, Ashley A.; RODRIGUES HOFFMANN, Aline; NEUFELD, Josh D. The skin microbiome of vertebrates. *Microbiome*, v. 7, n. 1, p. 79, 2019.

ROUTHU, Sunitha Rani *et al.* Identification, characterization and evaluation of novel antifungal cyclic peptides from *Neobacillus drentensis*. *Bioorganic Chemistry*, v. 115, p. 105180, 2021.

RUBY, Edward G.; LEE, Kyu-Ho. The *Vibrio fischeri-Euprymna scolopes* light organ association: current ecological paradigms. *Applied and environmental microbiology*, v. 64, n. 3, p. 805-812, 1998.

SAHIN, Nevzat; AY, Hilal; SAYGIN, Hayrettin. *Kocuria*. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria, p. 1-31, 2015.

SANTOYO, Gustavo *et al.* Rhizosphere colonization determinants by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Biology*, v. 10, n. 6, p. 475, 2021.

SPARKS, Ian L. *et al.* *Mycobacterium smegmatis*: the vanguard of mycobacterial research. *Journal of bacteriology*, v. 205, n. 1, p. e00337-22, 2023.

STEWART, Eric J. Growing unculturable bacteria. *Journal of bacteriology*, v. 194, n. 16, p. 4151-4160, 2012.

SUH, Min Kuk *et al.* *Jatrophihabitans cynanchi* sp. nov., isolated from rhizosphere soil of *Cynanchum wilfordii*. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 117, n. 1, p. 19, 2024.

SUN, Yixiu *et al.* Two nematicidal compounds from *Lysinimonas M4* against the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Forests*, v. 13, n. 8, p. 1191, 2022.

SUSILAWATI, Lela *et al.* **Antifungal activity of bacteria isolated from Japanese frog skin against plant pathogenic fungi.** Biological Control, v. 153, p. 104498, 2021.

SUZUKI, Ken-ichiro *et al.* ***Leifsonia* gen. nov., a genus for 2, 4-diaminobutyric acid-containing actinomycetes to accommodate “*Corynebacterium aquaticum*” Leifson 1962 and *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis* Davis *et al.* 1984.** The Journal of general and applied microbiology, v. 45, n. 5, p. 253-262, 1999.

SYUKUR, S. *et al.* **Isolation and molecular characterization of lactic acid bacteria by using 16s rRNA from fermented buffalo milk (Dadih) in Sijunjung, West Sumatera.** Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences, v. 5, n. 6, p. 871 876, 2014.

TANAKA, Akihito *et al.* **Successful treatment of peritoneal dialysis-related peritonitis caused by *Dermacoccus nishinomiyaensis*.** CEN case reports, v. 8, n. 3, p. 183-187, 2019.

TONON, Luciane A. Chimento *et al.* **Microbiome associated with the tetrodotoxin-bearing anuran *Brachycephalus pitanga*.** Toxicon, v. 203, p. 139-146, 2021.

TRIGUYA, Jesica *et al.* ***Dermacoccus nishinomiyaensis* brain abscesses as the first manifestation of chronic granulomatous disease.** Arch. Argent Pediatr, v. 121, p. e202202804, 2023.

VADIVEL, Meyappan *et al.* **Isotropic silver nanoparticles from *Cytobacillus kochii* strain SW6 isolated from bay of bengal sea sediment water and their antimicrobial, antioxidant, and catalytic potential.** Current Microbiology, v. 80, n. 2, p. 74, 2023.

VALLIAPPAN, Karuppiah; SUN, Wei; LI, Zhiyong. **Marine actinobacteria associated with marine organisms and their potentials in producing pharmaceutical natural products.** Applied microbiology and biotechnology, v. 98, n. 17, p. 7365-7377, 2014.

VAN ROOIJ, Pascale *et al.* **Amphibian chytridiomycosis: a review with focus on fungus-host interactions.** Veterinary research, v. 46, n. 1, p. 137, 2015.

VAZIRI, Grace J. *et al.* **Anthelmintic drugs modulate the acute phase immune response but not the microbiota in wild Song Sparrows.** Ornithology, v. 138, n. 1, 2021.

VELMURUGAN, Palanivel *et al.* **Production and characterization of bacterial cellulose by *Leifsonia* sp. CBNU-EW3 isolated from the earthworm, *Eisenia fetida*.** Biotechnology and bioprocess engineering, v. 20, n. 3, p. 410-416, 2015.

- VITOUSEK, Peter M. *et al.* **Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences.** Ecological applications, v. 7, n. 3, p. 737-750, 1997.
- VOYLES, Jamie; ROSENBLUM, Erica B.; BERGER, Lee. **Interactions between *Batrachochytrium dendrobatidis* and its amphibian hosts: a review of pathogenesis and immunity.** Microbes and infection, v. 13, n. 1, p. 25-32, 2011.
- WALKE, Jenifer B. *et al.* **Amphibian skin may select for rare environmental microbes.** The ISME journal, v. 8, n. 11, p. 2207-2217, 2014.
- WAN, Bowen *et al.* **Environmental factors and host sex influence the skin microbiota structure of Hong Kong newt (*Paramesotriton hongkongensis*) in a coldspot of chytridiomycosis in subtropical East Asia.** Integrative Zoology, v. 20, n. 2, p. 236-255, 2025.
- WANG, Ting *et al.* **Diversity, novelty, antimicrobial activity, and new antibiotics of cultivable endophytic actinobacteria isolated from psammophytes collected from Taklamakan Desert.** Journal of pharmaceutical analysis, v. 11, n. 2, p. 241-250, 2021.
- WANG, Ziyi *et al.* **Research Status and Prospect of Amphibian Symbiotic Microbiota.** Animals, v. 15, n. 7, p. 934, 2025.
- WAWRIK, B. *et al.* **Identification of unique type II polyketide synthase genes in soil.** Applied and Environmental Microbiology, v. 71, n. 5, p. 2232–2238, 2005.
- WOODHAMS, Douglas C. *et al.* **Managing amphibian disease with skin microbiota.** Trends in microbiology, v. 24, n. 3, p. 161-164, 2016.
- WOODHAMS, Douglas C. *et al.* **Prodigiosin, violacein, and volatile organic compounds produced by widespread cutaneous bacteria of amphibians can inhibit two *Batrachochytrium* fungal pathogens.** Microbial Ecology, v. 75, n. 4, p. 1049-1062, 2018.
- WOOLEY, John C.; GODZIK, Adam; FRIEDBERG, Iddo. **A primer on metagenomics.** PLoS computational biology, v. 6, n. 2, p. e1000667, 2010.
- XIA, Mengmeng *et al.* **Simultaneous adsorption and biodegradation of oxytetracycline in wastewater by *Mycolicibacterium* sp. immobilized on magnetic biochar.** Environmental Pollution, v. 339, p. 122728, 2023.
- XU, Liangliang *et al.* **The behavior of amphibians shapes their symbiotic microbiomes.** Msystems, v. 5, n. 4, p. 10.1128/msystems. 00626-20, 2020.

- YADAV, Monika *et al.* **Isolation and characterization of human intestinal bacteria *Cytobacillus oceanisediminis* NB2 for probiotic potential.** Frontiers in Microbiology, v. 13, p. 932795, 2022.
- YAMAZAKI, Yuriko; NAKAMURA, Yuumi; NÚÑEZ, Gabriel. **Role of the microbiota in skin immunity and atopic dermatitis.** Allergology International, v. 66, n. 4, p. 539-544, 2017.
- YAN, Yi *et al.* **Metagenomic and Culturomics analysis of microbial communities within surface sediments and the prevalence of antibiotic resistance genes in a Pristine River: the Zaqu River in the Lancang River source region, China.** Microorganisms, v. 12, n. 5, p. 911, 2024.
- YANG, Jie *et al.* **Colonization and performance of a pyrene-degrading bacterium *Mycolicibacterium* sp. Pyr9 on root surfaces of white clover.** Chemosphere, v. 263, p. 127918, 2021.
- YANG, Yan *et al.* **Isolation and identification of a *Cytobacillus oceanisediminis* strain with ochratoxin A detoxification ability.** Food Control, v. 151, p. 109797, 2023.
- YAP, Tiffany A. *et al.* ***Batrachochytrium salamandrivorans* and the risk of a second amphibian pandemic.** EcoHealth, v. 14, n. 4, p. 851-864, 2017.
- ZACARIA VITAL, Tania *et al.* **An endophytic *Kocuria palustris* strain harboring multiple arsenate reductase genes.** Archives of Microbiology, v. 201, n. 9, p. 1285-1293, 2019.
- ZHAO, Na *et al.* **Heterogeneity of the tissue-specific mucosal microbiome of normal grass carp (*Ctenopharyngodon idella*).** Marine Biotechnology, v. 24, n. 2, p. 366-379, 2022.
- ZIOGOU, Afroditi *et al.* ***Kocuria* species infections in humans—a narrative review.** Microorganisms, v. 11, n. 9, p. 2362, 2023.
- ŠRUT, Maja *et al.* **Earthworms and cadmium–heavy metal resistant gut bacteria as indicators for heavy metal pollution in soils?.** Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 171, p. 843-853, 2019.