



O SOLO

estrutura e composição

SÉRIE RECURSO SOLO: PROPRIEDADES E USOS

Ramom Rachide Nunes
Maria Olímpia de Oliveira Rezende

editora  cubo

O SOLO

estrutura e composição

Série RECURSO SOLO: PROPRIEDADES E USOS

Ramom Rachide Nunes

Maria Olímpia de Oliveira Rezende

(organizadores)

© 2022

Qualquer parte desta publicação pode ser reproduzida, desde que citada a fonte. Todos os direitos desta edição são reservados aos Autores.

O solo: estrutura e composição / Ramom Rachide Nunes e Maria Olímpia Oliveira Rezende (organizadores). – 1. ed. . – São Carlos : Editora Cubo, 2022.

E-BOOK

EPUB

ISBN: 978-65-86819-26-7

1. Ciência do Solo. I. Título.

A transferência de genes entre as bactérias

Fernanda Canduri

A presença de plasmídeos, DNA circular extracromossomal, está presente em vários gêneros de bactérias do solo, como *Rizobium*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter* e *Pseudomonas*. As bactérias compartilham estes plasmídeos, os quais podem ser transferidos vertical ou horizontalmente. A transferência vertical envolve a divisão celular, e dentre as possibilidades de transferência horizontal, pode-se considerar a transformação natural (obtenção do plasmídeo a partir da sua presença no meio), ou transdução (obtenção a partir de bacteriófagos), além da conjugação (transferência de material genético entre duas bactérias) (Fig. 1). A transferência de plasmídeos conjugativos entre espécies desempenha papel importante e vital na adaptabilidade das populações bacterianas do solo, pois transferem genes (transposons) que oferecem vantagens adaptativas (Thomas & Nielsen, 2005).

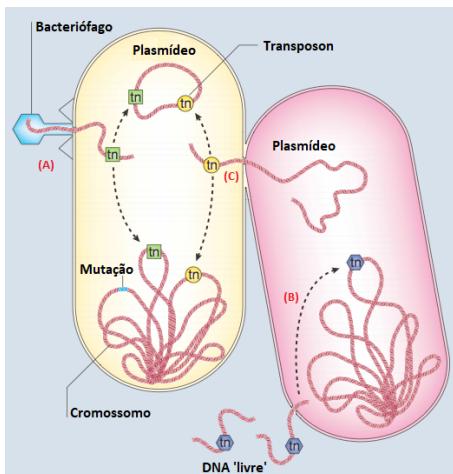


Figura 1. Transferência horizontal: (A) transdução a partir de um bacteriófago; (B) transformação a partir da presença de plasmídeos ou fragmentos de DNA no meio extracelular; (C) conjugação, transferência mais comum dentre as bactérias do solo. Os transposons são genes saltadores ou sequências de inserção, elementos genéticos móveis que podem oferecer vantagens adaptativas.

FONTE: Adaptado de Levy & Marshall, 2004

Em condições ambientais normais o novo DNA não terá vantagem dentro do contexto ecológico do hospedeiro, e neste caso, o plasmídeo, ou fragmento de DNA, será eliminado pela bactéria. Numa situação oposta, onde o plasmídeo oferece vantagens readaptativas devido a alterações do meio, então provavelmente irá permanecer na célula ou será integrado ao DNA cromossômico, com a perda do plasmídeo, o que elimina o custo associado à sua manutenção e transferência, facilitando a propagação da informação genética. Portanto, a variação genética mediada por plasmídeos permite respostas adaptativas rápidas, quando as bactérias do solo são desafiadas por alterações drásticas, como presença de antibióticos no solo (Fig. 2), metais, ou compostos xenobióticos, como herbicidas, inseticidas e fungicidas a base de tolueno, xileno, naftaleno, antraceno, fenanreno e salicilato, os quais, neste caso, quando desafiadas poderão expressar proteínas cujos genes foram trazidos pelo plasmídeo (transposons), promovendo um ganho de função (Kim & Park, 2018). A degradação de hidrocarbonetos aromáticos, como os citados acima, pode ser dividida em três etapas: (1) o hidrocarboneto é convertido em um catecol di-hidroxiaromático por mono ou di-oxigenases, que introduzem grupos hidroxil ao substrato; (2) o anel é aberto por di-oxigenases, que adiciona uma molécula de oxigênio, rompendo uma das ligações carbono-carbono (Williams e Sayers, 1994). Essa quebra do anel ocorre entre os grupos hidroxil (quebra intradiol ou *ortho*) ou adjacentemente a eles (quebra extradiol ou *meta*). A adição intradiol é feita por di-oxigenases que produzem ácido *cis,cis*-mucônico ou derivado, e aquelas que fazem a adição extradiol, produzindo o semialdeído 2-hidroximucônico, ou derivado (Harayama et al., 1992; Martins dos Santos et al., 2004); (3) após a abertura do anel, o produto resultante é convertido em intermediários do metabolismo central, como acetil-CoA, piruvato e oxaloacetato (<http://e-escola.tecnico.ulisboa.pt/>). Portanto, as enzimas codificadas pelos plasmídeos poderão conduzir à transformação e/ou degradação de xenobióticos, os quais poderiam se acumular no solo, e comprometer a população bacteriana ali presente.

É observado uma relação entre poluição ambiental e abundância de plasmídeos dentre as bactérias do solo, porém informações ainda são escassas na literatura (Top et al., 1994; Top et al., 1995; Heuer et al., 2009, Heuer & Smalla, 2012), as quais são baseadas principalmente nas observações de que os genes que codificam para enzimas que permitem às bactérias

degradar/modificar moléculas de xenobióticos, antibióticos ou mesmo metais pesados, são frequentemente presentes em plasmídeos, os transposons (Top & Springael, 2003; Smets & Barkay, 2005). Muitos autores constataram o fato pelo isolamento de cepas a partir de solos poluídos, as quais contém plasmídeos (Top et al., 1995; de Lipthay et al., 2008).

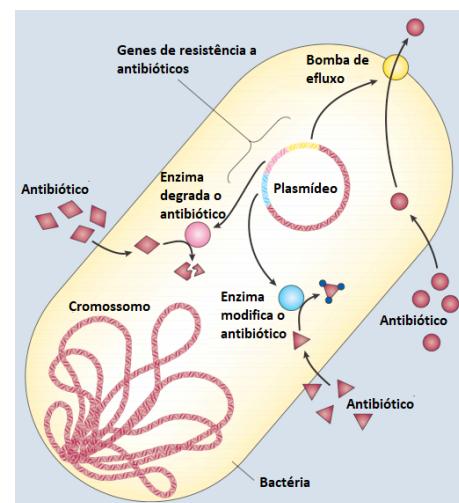


Figura 2. Célula bacteriana resistente a antibiótico devido à presença de plasmídeo conjugativo. Este plasmídeo pode conter genes que expressam proteínas que atuam como bombas de efluxo na membrana, as quais ligam-se ao antibiótico levando-o para fora da célula, enzimas que degradam o antibiótico, ou ainda enzimas que o modificam, tornando-o inócuo.

FONTE: Adaptado de Levy & Marshall, 2004

Um mecanismo de resistência bacteriana muito comum e importante é a degradação de antimicrobianos pelas enzimas β -lactamases (Fig. 3A), as quais hidrolisam a ligação amida do anel β -lactâmico, modificando o grupo responsável pela interação dos antimicrobianos β -lactâmicos às proteínas ligadoras de penicilina (ou análogos) (PBPs) inibindo, portanto, a interação (Bradford, 2001) (Fig. 3B).

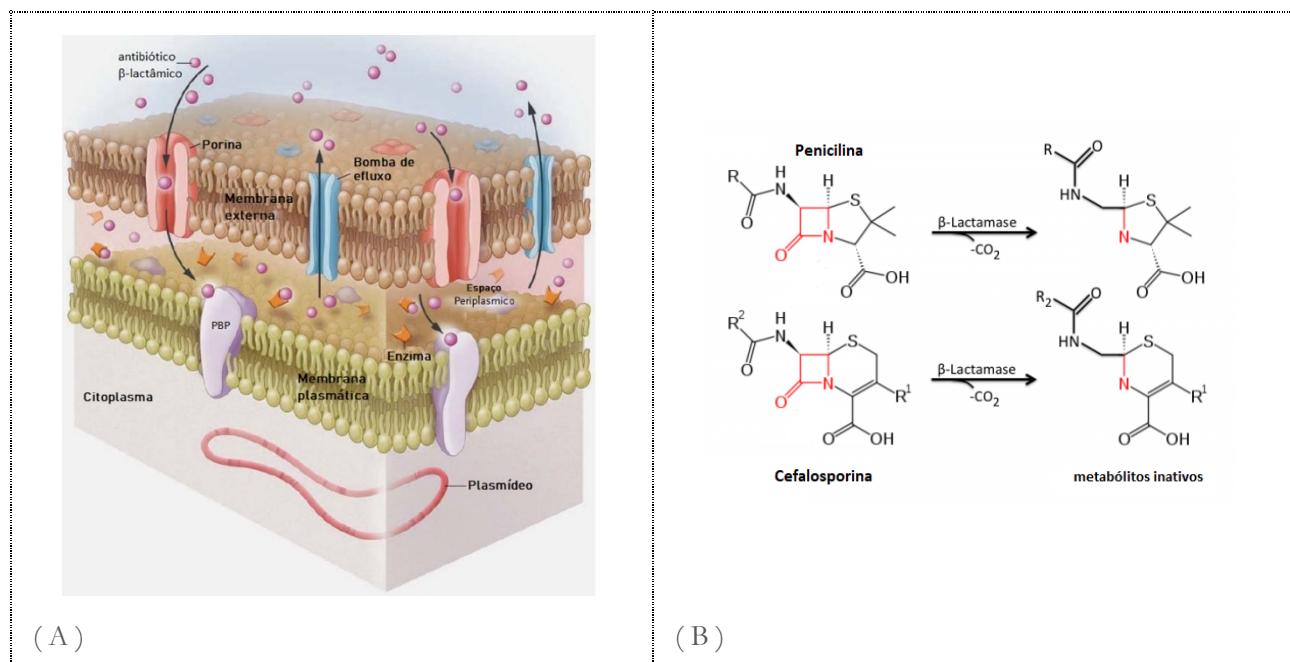


Figura 3. Mecanismo de resistência bacteriana. (A) Membrana plasmática e externa de uma bactéria gram-negativa. As proteínas ligadoras de penicilina (PBP) fazem parte da membrana plasmática e atua na interação com um antibiótico β -lactâmico. A β -lactamase (em laranja no espaço periplasmático) interage e modifica o antibiótico, evitando sua interação com PBP. Em azul e vermelho estão as proteínas da membrana externa que atuam como bombas de efluxo e as porinas, respectivamente, proteínas transmembrânicas de transporte, por onde o antibiótico adentra o espaço periplasmático. No citoplasma está o plasmídeo que contém o gene que oferece resistência ao antibiótico. A parede celular não está representada. (B) Reação da β -lactamase: a enzima hidrolisa a ligação amida do anel β -lactâmico (em vermelho), liberando CO_2 e metabólitos inativos.

FONTES: Adaptado de Munoz-Price & Weinstein (2008); http://tmedweb.tulane.edu/pharmwiki/doku.php/betalactam_pharm.

Coutinho e colaboradores, estudando bactérias de solos contaminados com metais pesados, encontraram várias espécies de bactérias, principalmente do gênero *Pseudomonas*, resistentes a estes metais. Cultivaram as linhagens na presença de meios de cultura enriquecidos com estes metais, e de 82 isolados bacterianos, 11 foram resistentes ao Cd²⁺, 6 ao Zn²⁺, 4 ao Ni²⁺, 4 ao Cu²⁺, 2 ao Co²⁺ e 1 ao Hg²⁺. Observaram que plasmídeos que possuem resistência a metais, geralmente também carregam determinantes de resistência aos antibióticos (Coutinho et al., 1999; Schmidt e Schlegel, 1994). A resistência à maioria dos metais pesados geralmente ocorre por efluxo. Como exemplo, no caso do mercúrio, as bactérias utilizam o sistema *mer*. O plasmídeo contém o *operon mer*, conjunto de genes regulados, o qual compreende de quatro a cinco genes estruturais que codificam proteínas de sua própria regulação ou modificação, e proteínas de transporte de mercúrio (Silver & Hobman, 2007). Sendo assim, são expressos quando da exposição ao mercúrio. A enzima mercúrio redutase pode participar do processo de detoxificação, transformando Hg²⁺ em Hg⁰, forma menos tóxica do mercúrio (Verbel & Restrepo, 2002; Graziotin, 2015). O metilmercúrio também pode ser produzido pelo metabolismo bacteriano, tanto aeróbicos quanto anaeróbicos, e é influenciada também, por fatores ambientais. Na demetilação, a enzima mercúrio liase catalisa a quebra da ligação entre o mercúrio e o carbono, dando origem a Hg²⁺ e CH₄. Dessa forma, a enzima mercúrio redutase transforma Hg²⁺ em Hg⁰ (Graziotin, 2015; Barkay & Wagner-Döbler, 2005; Silver & Hobman, 2007). Gallo et al. (2019) isolaram cepas de *Arthrobacter* sp. de solos e detectaram a presença de genes de resistência a fluoroquinolonas e metais pesados como cádmio, cobalto, zinco e cobre em plasmídeos, os quais podem ser explorados inclusive, para colaborar em estudos da área médica, já que bactérias do gênero *Arthrobacter* é capaz de causar infecções.

Neste contexto, as bactérias podem ser utilizadas para determinar a biodisponibilidade de um determinado composto químico no solo e sedimento, pela análise da presença de plasmídeos e sua sequência genética, por reação em cadeia da polimerase (PCR), uma vez que genes que oferecem resistência são, frequentemente, codificados nestes plasmídeos, servindo, portanto, como indicadores da presença de contaminantes no solo.

LITERATURA RECOMENDADA

- Barkay, T, Wagner-Dobler, I. Microbial Transformations of Mercury: Potentials, Challenges, and Achievements in Controlling Mercury Toxicity in the Environment. **Advances in Applied Microbiology** 2005, 57:1-52.
- Bradford PA. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. **Clin Microbiol Rev.** 2001, 14(4):933-51.
- Coutinho, HDM., Lima, TCS., Grisi, BM, Pessoa, HLF. Ocorrência de plasmídios em bactérias resistentes a metais pesados, isoladas de solos contaminados pelas atividades da agroindústria canavieira no estado da Paraíba. **Revista Nordestina de Biologia** 1999, 13(1/2):87-104.
- Gallo, IFL, Furlan, JPR, Sanchez, DG, Stehling, EG. Heavy metal resistance genes and plasmid-mediated quinolone resistance genes in *Arthrobacter* sp. isolated from Brazilian soils. **Antonie Van Leeuwenhoek**, 2019, 112(10):1553-1558.
- Graziotin, PG. Caracterização de bactérias resistentes ao mercúrio e estratégias para biorremediação de ambientes contaminados. Tese de doutorado, UFRGS, 2015.
- Harayama S, Kok M, Neidle EL. Functional and evolutionary relationships among diverse oxygenases. **Annu Rev Microbiol.** 1992, 46:565-601.
- Heuer, H., Smalla, K. Plasmids foster diversification and adaptation of bacterial populations in soil. **FEMS Microbiol Ver.** 2012, 36(6):1083-104.
- Kim, J, Park, W. Genome Analysis of Naphthalene-Degrading *Pseudomonas* sp. AS1 Harboring the Megaplasmid pAS1. **J Microbiol Biotechnol.** 2018, 28(2):330-337.
- Levy, SB, Marshall, B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. **Nature Med.** 2004, 10(12 Suppl):S122-9.
- Martins Dos Santos, VAP, Heim, S, Moore, ERB, Strätz, M, Timmis, KN. Insights into the genomic basis of niche specificity of *Pseudomonas putida* KT2440. **Environ Microbiol.** 2004 ,6(12):1264-86.
- Munoz-Price, LS, Weinstein, RA. *Acinetobacter* infection. **N Engl J Med.** 2008, 358(12):1271-81.