

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

LUIZ ALBERTO FERNANDES CORDEIRO

**DEMONSTRAÇÃO DE IRIDESCIÊNCIA EM BACTÉRIAS DE SOLO DO FILO
ACIDOBACTERIOTA**

**PATOS DE MINAS – MG
ABRIL DE 2025**

LUIZ ALBERTO FERNANDES CORDEIRO

**DEMONSTRAÇÃO DE IRIDESCIÊNCIA EM BACTÉRIAS DE SOLO DO FILO
ACIDOBACTERIOTA**

Monografia apresentada ao Instituto de
Biotecnologia da Universidade Federal de
Uberlândia como requisito final para a
obtenção do título de Bacharel em
Biotecnologia

Prof. Dra. Cristine Chaves Barreto

PATOS DE MINAS – MG

ABRIL DE 2025

LUIZ ALBERTO FERNANDES CORDEIRO

Demonstração de iridescência em bactérias de solo do filo Acidobacteriota

Monografia apresentada ao Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito final para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia

Banca examinadora:

Profa. Dra. Cristine Chaves Barreto - Universidade Federal de Uberlândia, campus Patos de Minas
Presidente

Prof. Dr. Guilherme Ramos Oliveira e Freitas - Universidade Federal de Uberlândia, campus Patos de Minas
Membro

Prof. Dr. Rubens Tadeu Delgado Duarte – Universidade Federal de Santa Catarina
Membro

Os membros da Comissão Examinadora acima assinaram a Ata de Defesa que se encontra no Sistema Eletrônico de Informações (SEI) da Universidade Federal de Uberlândia.

Patos de minas, 30 de abril de 2025

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por ter me guiado, e por todas as vitorias conquistadas

Agradeço a minha mãe Iolanda, e ao meu pai Orlando por sempre me incentivarem a estudar e a nunca me contentar, com o que eu conquistei até agora, e me ensinarem que eu sempre posso ser melhor, agradeço a minha irmã, Maria Laura por sempre me motivar.

Agradeço a minha orientadora Dra. Cristine Barreto, por sempre me incentivar e por me guiar nessa caminhada, e agradeço a Ma. Thais Gonzaga, por toda ajuda que me forneceu durante as pesquisas no laboratório.

RESUMO

A iridescência bacteriana é um fenômeno óptico ainda pouco estudado, especialmente em bactérias de solo. Membros do filo Acidobacteriota foram isoladas de solo do Cerrado e apresentaram iridescência em cultura. Este trabalho teve como objetivo investigar os fatores que influenciam a produção de iridescência pela cepa de acidobacteria AB23, isolada do solo do Cerrado. A hipótese testada foi de que a iridescência seria induzida por condições de estresse celular. A bactéria foi cultivada em dois meios diferentes (VL-55 e R2A), sob variações de luz, temperatura e disponibilidade de água, usando diferentes concentrações de ágar e gelana como agentes solidificantes. A presença de iridescência foi avaliada por meio de trans-iluminação, enquanto o crescimento bacteriano foi estimado por contagem de unidades formadoras de colônia (UFC). Os resultados demonstraram que a cepa AB23 apresenta iridescência do tipo *rainbow-diffuse*, mesmo em condições consideradas ideais de crescimento, como no meio VL-55 no escuro. Não houve iridescência observada no meio R2A nem em ágar 2%, sugerindo que a ausência dessa característica pode estar relacionada à opacidade do meio ou inadequação das condições de cultivo, e não necessariamente ao estresse. Conclui-se que a iridescência da cepa AB23 não está diretamente associada ao estresse celular, sendo observada também em condições favoráveis de crescimento. Estudos futuros devem investigar a base genética da iridescência, buscando genes já correlacionados com a iridescência no genoma da cepa AB23, bem como explorar a possível relação com a formação de biofilme, utilizando testes como o *Congo Red Agar*.

Palavras-chave: AB23, Cerrado, estresse bacteriano

ABSTRACT

Bacterial iridescence is an optical phenomenon that has not been well studied, especially in soil bacteria. Members of the phylum Acidobacteriota were isolated from Cerrado soil and showed iridescence in culture. This study aimed to investigate the factors that influence the production of iridescence by the acidobacteria strain AB23, isolated from Cerrado soil. The hypothesis tested was that iridescence would be induced by cellular stress conditions. The bacteria were cultivated in two different media (VL-55 and R2A), under variations in light, temperature and water availability, using different concentrations of agar and gellan as solidifying agents. The presence of iridescence was assessed by transillumination, while bacterial growth was estimated by counting colony forming units (CFU). The results demonstrated that the AB23 strain presents rainbow-diffuse iridescence, even under conditions considered ideal for growth, such as in the VL-55 medium in the dark. No iridescence was observed in R2A medium or in 2% agar, suggesting that the absence may be related to the opacity of the medium or inadequate culture conditions, and not necessarily to stress. It was concluded that the iridescence of strain AB23 is not directly associated with cellular stress, being also observed under favorable growth conditions. Future studies should investigate the genetic basis of iridescence, searching for genes already correlated with iridescence in the genome of strain AB23, as well as exploring the possible relationship with biofilm formation, using tests such as Congo Red Agar.

Keywords: AB23. Cerrado. Bacterial stress.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
1.1 Referencial teórico	8
1.1.1 Iridescência em bactérias.....	8
1.1.2 Estresse em Bactérias	10
1.1.3 Biofilmes bacterianos.....	11
1.1.4 Biofilmes em bactérias de solo	12
1.1.5 Características gerais das Acidobacterias	13
1.2 Hipótese	14
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral	14
3 MATERIAIS E MÉTODOS	14
3.1 Cepa bacteriana	14
3.2 Meios de cultura	15
3.3 Tratamentos	15
3.4 Estimativa de crescimento	15
3.5 Observação de iridescência.....	16
3.6 Análises estatísticas	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
4.1 Avaliação da iridescência	17
4.2 Avaliação do Crescimento	20
5 CONCLUSÃO	21
REFERÊNCIAS	23

1 INTRODUÇÃO

Iridescência é um fenômeno visual onde ocorre a exibição de “cores vivas que mudam com o ângulo de incidência ou visualização devido à interferência de ondas ópticas na estrutura multicamadas presente na escala de comprimento de onda abaixo da superfície” (MERAUD, 2015). Esse fenômeno é comum em animais, mas ainda não é muito bem descrito em procariotos, sendo em geral, observado em bactérias marinhas ou correlacionado com a formação de biofilme (HAMIDJAJA *et al.*, 2020; KIENTZ *et al.*, 2013, 2016).

Biofilmes são uma associação organizada de microrganismos em uma matriz extracelular de polissacarídeos, proteínas, DNA e sais minerais, em geral produzida por uma ou mais bactérias. A formação de biofilme, está ligada à capacidade de sobrevivência da bactéria ao ambiente, dando a ela proteção a diversos fatores, como a falta de nutriente, antimicrobianos, agentes químicos e a predadores (BRIDON, 2024; HALL-STOODLEY; COSTERTON; STOODLEY, 2004). Embora sejam facilmente encontrados em ambientes aquáticos, biofilmes podem se formar em qualquer superfície ou substrato, tanto naturais quanto antropogênicos. Solos apresentam uma variedade de superfícies para formação de biofilmes, não apenas em micro agregados, mas em associação com outros organismos como raízes de plantas. Estima-se que quase toda bactéria de solo esteja associada a algum tipo de biofilme (FLEMMING *et al.*, 2016; FLEMMING; WUERTZ, 2019).

Acidobactérias, pertencem ao filo Acidobacteriota, sendo um dos mais diversos e espalhados pelo mundo habitando ambientes terrestres e aquáticos. Essas bactérias são particularmente abundantes em solos ácidos, turfeiras e ambientes ricos em ferro mineral como o solo do Cerrado. Acredita-se que as acidobactérias sejam fundamentais para o Cerrado pois há evidências de que elas desempenhem funções de degradação de biopolímeros e de contaminantes de solo (PROCÓPIO; BARRETO, 2021; SOUZA *et al.*, 2016).

Entretanto, devido às dificuldades em cultivar acidobactérias, pouco se conhece sobre sua ecofisiologia e os motivos para sua presença em quase todos os ambientes terrestres e aquáticos. Com a observação de iridescência em acidobactérias, podemos sugerir que algumas espécies de solo são formadoras de biofilme, que, aliado a produção de carotenoides, pode fornecer explicação de porque as Acidobacterias são mais resistentes a estresse. Como a iridescência ainda não foi descrita em acidobactérias, no presente trabalho buscamos identificar fatores que inibem ou estimulam a iridescência na cepa AB23 de acidobacteria isolada do Cerrado para entender as condições em que ela acontece. Considerando que essa bactéria é

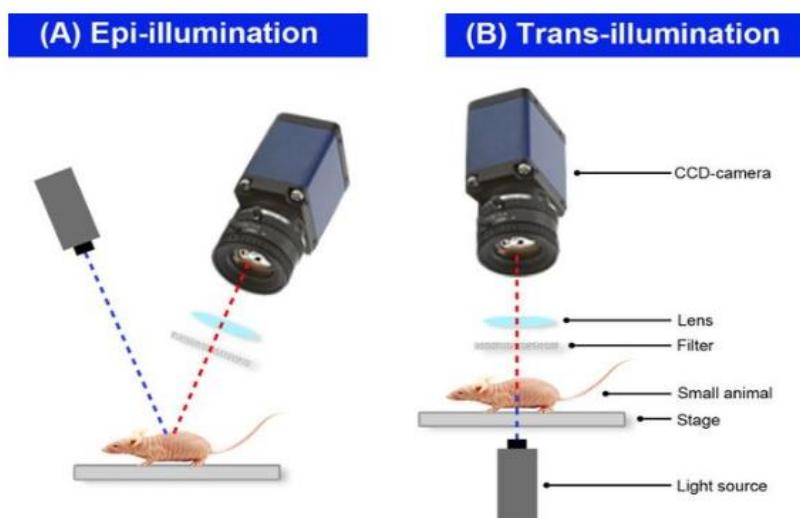
ativa do Cerrado, o presente trabalho se encaixa no Objetivo de Desenvolvimento Sustentável 15 da ONU: "Vida terrestre - Proteger, recuperar e promover o uso sustentável dos ecossistemas terrestres, gerir de forma sustentável as florestas, combater a desertificação, deter e reverter a degradação da Terra e deter a perda da biodiversidade."

1.1 Referencial teórico

1.1.1 Iridescência em bactérias

A iridescência é um fenômeno que já foi observado e bem descrito em animais, principalmente em insetos, sendo correlacionada à seleção sexual, camuflagem ou regulação térmica (BERTHIER; KATTAWAR, 2008; KJERNESMO *et al.*, 2022; SEAGO; OBERPRIELER; SARANATHAN, 2019). A iridescência em bactérias é algo relativamente novo, mas existem casos que ela foi observada, normalmente usando a epi-iluminação ou trans-iluminação. Na primeira, a luz incide sobre a superfície do objeto e é refletida para a observação enquanto na trans-iluminação a fonte de luz é posicionada atrás da amostra (Figura 1) (PLEIJHUIS *et al.*, 2014). Essa coloração é também chamada de estrutural (*structural colours*), pois não é resultado da produção de pigmentos, mas de uma organização estrutural em 2D das células bacterianas (HAMIDJAJA *et al.*, 2020).

Figura 1: Princípio básico dos dois tipos de iluminação usados para observar iridescência: (A) epi-iluminação, em que a fonte de luz e os detectores são posicionados no mesmo lado, e (B) trans-iluminação, em que a fonte de luz está de um lado e os fôtons emitidos que se propagaram pelo tecido são detectados no outro lado.



Fonte: Adaptado de PLEIJHUIS R (2013). Optical Imaging Applications in Cancer Research and Treatment

Os tipos de iridescência são variados, podendo ir de pontilhismo (*glitter*) observado em *Cellulophaga lytica* (KIENTZ *et al.*, 2016), a uma forma metálica observada em *Pseudomonas aeruginosa* (ZIERDT, 1971), ou pela presença de várias cores conhecida como *rainbow*, observada em *Listeria marthii* e *Alcanivorax balearicus* com uma coloração verde-azul (GRAVES *et al.*, 2010; RIVAS *et al.*, 2007). Ainda não é claro se a iridescência tem uma função biológica, porém, a cor metálica, citada anteriormente tem ligação com a lise bacteriana, mas ainda há poucos estudos sobre a função da iridescência em outras bactérias.

Alguns estudos correlacionam a iridescência com a formação de biofilme bacteriano. O estudo de KIENTZ *et al.* (2016) usou de técnicas de microscopia, microbiologia e processamento de imagem demonstrando que a iridescência em *Cellulophaga lytica* é causada pela regularidade e ordem parcial das subcomunidades de bactérias dentro do biofilme da colônia.

Uma das hipóteses para a iridescência em bactérias é a presença de *gliding motility*, em português: motilidade por deslizamento. Esse é um tipo de movimentação ativa de algumas bactérias sobre superfícies sólidas, sem o uso de flagelos ou fímbrias (MCBRIDE, 2001). Essa ligação surgiu do pensamento que a organização das bactérias gerava a iridescência (KIENTZ *et al.*, 2016). No entanto, outros estudos mostraram que embora a *gliding motility* possa ser um fator ela não é causa da iridescência, pois em bactérias nas quais está habilidade foi suprimida, utilizando o 5-hidroxiindol no meio de cultivo, a iridescência ainda ocorreu (CHAPELAIS-BARON *et al.*, 2018).

Em um estudo recente, a iridescência do tipo pontilhismo foi avaliada em nível genômico. Um conjunto de 87 bactérias apresentando iridescência tiveram seu genoma sequenciado com o objetivo de encontrar genes em comum que pudessem estar associados à iridescência. Foram selecionados genes envolvidos na biossíntese de pterina, uroporfirina, metionina, acetolactato e alguns carboidratos, além de genes envolvidos na motilidade por deslizamento (ZOMER *et al.*, 2024). Por fim, esses genes foram usados para treinar um algoritmo em 117 genomas bacterianos e este foi aplicado na busca de 240.981 genomas provenientes do banco de dados PATRIC. Esse modelo fez a previsão da presença de iridescência do tipo pontilhismo em membros de diversos filos bacterianos, especialmente Bacteroidota (Bacteroidetes) e Pseudomonadota (Proteobacteria), que também fazem biofilme (CAI *et al.*, 2023; KOSTEŠIĆ *et al.*, 2023), mas não detectou em Acidobacteriota.

Conforme demonstrado por JOHANSEN *et al.* (2018), a iridescência bacteriana apresenta potencial para aplicações biotecnológicas em duas frentes principais: como biosensor vivo, capaz de responder a estímulos ambientais por meio de alterações ópticas

visíveis, e como material fotônico estático, obtido a partir da desidratação e fixação das colônias bacterianas, preservando sua organização estrutural e, consequentemente, suas propriedades ópticas.

1.1.2 Estresse em Bactérias

Embora estresse seja um termo difícil de definir, em geral, entende-se como condição de estresse em bactérias, qualquer fator ambiental que diminua a taxa de crescimento microbiano do seu ótimo (WESCHE *et al.*; 2009). Fatores físicos e químicos podem gerar estresse em bactérias, agentes usados no controle do crescimento microbiano como desinfetantes ou alta pressão e temperatura causam estresse na célula e possivelmente, sua morte (TORTORA *et al.*, 2024).

Fatores físicos como a temperatura causam estresse às bactérias, no frio os microrganismos precisam fazer o ajuste estrutural de enzimas, manutenção da fluidez da membrana, expressar proteínas de choque frio, adaptar a maquinaria de tradução e transcrição (BARRIA; MALECKI; ARRAIANO, 2013); em altas temperaturas, as enzimas podem ser desnaturadas TORTORA *et al.*, 2024, p.180). O estresse ácido ou alcalino pode alterar o pH intracelular e consequentemente a atividade enzimática. Microrganismos podem se proteger desse tipo de estresse produzindo de moléculas para proteção à esse tipo de estresse (TORTORA *et al.*, 2024). Um exemplo é o estudo de DEKA *et al.*, (2019) onde uma bactéria que crescem em pH neutro (6,5 a 7,2) quando foram cultivadas a um pH de 5 mostraram uma produção de EPS 1.4 vezes maior do que em meios mais básicos.

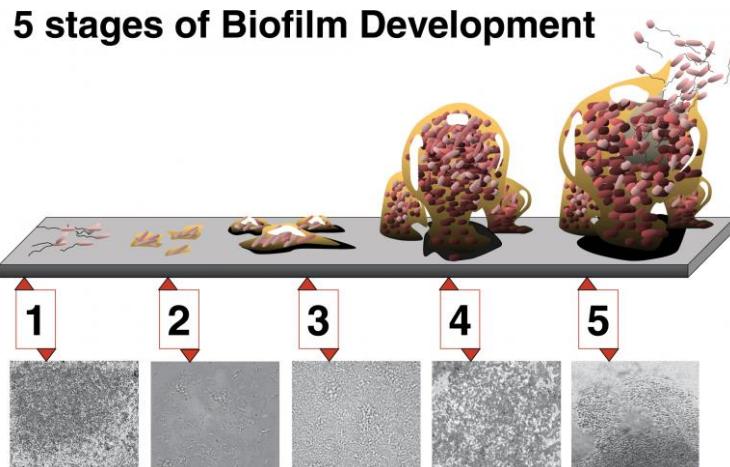
Dessecação é um tipo de fator ambiental que gera estresse celular, pois os microrganismos possuem de 80 a 90% de sua célula formada por água (TORTORA *et al.*, 2024, p. 155) . Um ambiente com alta concentração de sais e solutos pode causar perda de água, levando ao estresse osmótico. Em resposta os microrganismos podem acumular ou importar solutos para equilibrar o meio interno e externo, assim diminuindo a perda de água (BREMER; KRÄMER, 2019). Por fim, há o estresse oxidativo que é gerado quando o microrganismo está em contato com espécies reativas de oxigênio (ROS) que pode danificar várias estruturas celulares, como DNA, proteínas e lipídeos (IMLAY, 2013). Uma forma de proteção à esse tipo de estresse é a produção de pigmentos, como os carotenoides (PINTO *et al.*, 2021). Outra forma de resposta ao estresse ambiental é a formação de biofilmes que será melhor explicado a seguir.

1.1.3 Biofilmes bacterianos

O biofilme é uma matriz produzida pelas próprias bactérias, sendo composto de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) (FLEMMING *et al.*, 2016; FLEMMING; WUERTZ, 2019), em sua maioria são uma comunidade de bactérias que se ligam a uma superfície e após isso passam por mudanças para colonização a esta superfície (O'TOOLE; KAPLAN; KOLTER, 2000). A formação do biofilme é dividida em etapas que mostram as modificações ao longo do tempo (Figura 2).

A primeira etapa é chamada de adesão, onde um pequeno número de bactérias se aderem a uma superfície apropriada, em seguida vem a colonização, as bactérias vão se fixar na superfície formando uma monocamada (Figura 2), para então seguir para a fase de desenvolvimento, em que as bactérias se prolifera para formar o agregado multicelular. Durante essa fase a bactéria aumenta a síntese de EPS criando assim a estrutura final do biofilme com poros para que nutrientes acessem todas as camadas do mesmo (Figura 2) (O'TOOLE; KAPLAN; KOLTER, 2000). Após a fase de maturação vem a de dispersão onde a separação de células da colônia do biofilme, essa etapa é essencial no ciclo de vida das bactérias, contribuindo para sua sobrevivência (KAPLAN, 2010).

Figura 2: Estágios de desenvolvimento do biofilme: adesão, colonização, desenvolvimento, maturação e dispersão.



Fonte: Adaptado de MONROE D (2007) Looking for Chinks in the Armor of Bacterial Biofilms. PLoS Biol 5(11): e307. doi:10.1371/journal.pbio.0050307

Frequentemente nos biofilmes, múltiplas espécies de bactérias estão presentes (BURMØLLE *et al.*, 2006, 2014). Essas espécies possuem técnicas para comunicar entre membros da sua espécie e com outras espécies, usando pequenas moléculas chamadas auto

indutores, em um processo conhecido como *quorum-sensing* (senso de quórum) (FEDERLE; BASSLER, 2003; LI; TIAN, 2012, 2016). Os autoindutores podem ser tanto para eliminar competição (LI; TIAN, 2012) ou estimular interações sinérgicas (BURMØLLE *et al.*, 2006).

Viver em biofilme concede vantagens adaptativas às bactérias, uma delas sendo não precisar mais ficar em constante multiplicação para sua sobrevivência (JEFFERSON, 2004). Além disso, como foi evidenciado no estudo de (BURMØLLE *et al.*, 2006) quando em um ambiente de relação mutualística o desenvolvimento é melhorado, no estudo o crescimento do biofilme aumentou em 167%, devido a cooperação entre 4 bactérias. No entanto, a maior vantagem para as bactérias é a resistência gerada devido ao compartilhamento de genes seja por bacteriófagos ou plasmídeos (JEFFERSON, 2004; MICHAELIS; GROHMANN, 2023).

Em regiões salinas a sobrevivência de bactérias está ligada a disponibilidade de água, os EPS presente no biofilme criam uma camada de proteção que impede a evaporação (FLEMMING *et al.*, 2016). O estudo de BÉRARD *et al.* Descobriu que microrganismos de solo podem responder a ondas de calor com altas temperaturas e com secas severas com a formação de biofilme (BÉRARD *et al.*, 2015). Além de outros estudos que mostram que a um pH de 5.0-5.5 pode acelerar a transformação de açúcar em EPS (KIMMEL; ROBERTS; ZIEGLER, 1998). Adicionalmente EPS pode agir como uma barreira física quem impede o contato das células com íons sódio, e ao mesmo tempo permitir a absorção de água e dos íons sódio como o Na⁺ quando estes são necessários para o controle da pressão osmótica (SUDMALIS *et al.*, 2020).

1.1.4 Biofilmes em bactérias de solo

A produção de biofilme no solo é um processo essencial para bactérias, este confere a elas proteção física, química e biológica (MATZ; KJELLEBERG, 2005; MCDOUGALD *et al.*, 2012). A taxa de respiração de bactérias de solo quando no biofilme é 23 vezes maior do que quando fora do biofilme, aumentando assim a taxa de utilização de nutrientes e ciclagem de moléculas biológicas (WU *et al.*, 2019). Devido a diversidade de microrganismos os biofilmes possuem várias moléculas químicas como carboxila, amido e hidroxila que agem prendendo poluentes na parede do biofilme (MAHTO *et al.*, 2022). Além disso, biofilmes de solo têm a capacidade de transformar poluentes em metabólitos menos tóxicos devido à presença de várias vias enzimáticas (FLEMMING *et al.*, 2016). Alguns exemplos de bactérias de solo que produzem biofilme são *Bacillus subtilis* (MA *et al.*, 2017) (MA *et al.*, 2017), *Pseudomonas aeruginosa* (LENNON; LEHMKUHL, 2016) e *Acinetobacter baylyi* (HENDIANI *et al.*, 2023).

1.1.5 Características gerais das Acidobacterias

As acidobacterias foram detectadas primeiramente no estudo de STACKEBRANDT; LIESACK; GOEBEL, (1993), onde foram recuperadas sequências de DNA do gene de RNA 16S, essas amostras vieram do solo florestal ácido proveniente do Monte Coot-tha, Brisbane, Austrália. No entanto, apenas em 1997 as sequências foram identificadas como do filo Acidobacteria, hoje chamado de Acidobacteriota (KUSKE; BARNS; BUSCH, 1997; LUDWIG *et al.*, 1997). Essas bactérias são Gram-negativas, não formadoras de esporos e exibem uma variedade de morfologias celulares. A maioria das acidobactérias são caracterizadas como quimioheterotróficas, embora membros fotoheterotróficos também tenham sido descritos. (KIELAK *et al.*, 2016).

Os estudos com acidobacterias sugerem que elas fazem parte do ciclo do carbono, decompondo matéria lignocelulósica do solo (DE CASTRO *et al.*, 2013a). Acidobacterias são encontradas em uma variedade de ambientes como solo amazônico, cerrado, mata atlântica, tundra e no oceano (CATÃO *et al.*, 2014; DE CASTRO *et al.*, 2013a; MÄNNISTÖ *et al.*, 2011; NAVARRETE *et al.*, 2013; O'CONNOR-SÁNCHEZ *et al.*, 2014).

Recentes estudos sugerem que as acidobacterias são fundamentais para o Cerrado pois há evidências que elas desempenham funções de degradação de polímeros e de contaminantes de solo, e devido a riqueza em microrganismos existem vários e com várias funções diferentes que podem ser estudadas e exploradas (PROCÓPIO; BARRETO, 2021; SOUZA *et al.*, 2016b). A acidobacteria usada no presente estudo foi isolada de solo do Cerrado, além de crescer bem em meio de cultura quimicamente definido essa bactéria é produtora de carotenoides que facilitam a observação do seu crescimento pela presença da coloração laranja/rosa (DE CASTRO *et al.*, 2013b; PINTO *et al.*, 2021). Embora muitas espécies de acidobacteria produzam carotenoides, até o momento, iridescência não foi descrita em nenhuma acidobactéria.

A iridescência bacteriana tem sido frequentemente associada à formação de biofilmes (CHAPELAIS-BARON *et al.*, 2018; KIENTZ *et al.*, 2016) Como a exposição a condições de estresse ambiental é conhecidamente um fator que leva à formação de biofilmes em diversas espécies bacterianas, como uma estratégia adaptativa para sobrevivência (BRIDON, 2024; BURMØLLE *et al.*, 2006; JEFFERSON, 2004), levantamos a hipótese de que, sob estresse, acidobactérias poderiam formar biofilmes com organização estrutural suficiente para gerar iridescência, possivelmente como subproduto da reorganização celular ou como uma adaptação funcional ainda não compreendida.

1.2 Hipótese

Acidobacteria AB23 produz iridescência em condições de estresse celular.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Identificar fatores de estresse celular que inibem ou estimulam a iridescência na cepa AB23 de Acidobacteria.

2.2 Objetivos específicos

- a. Selecionar condições de estresse aos quais a bactéria AB23 será submetida;
- b. Submeter a bactéria AB23 a diferentes condições de estresse.
- c. Comparar o crescimento da bactéria AB23 em condições de crescimento ideais e condições de estresse;
- d. Avaliar a presença de iridescência da bactéria AB23 em diferentes condições de crescimento.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Cepa bacteriana

A acidobacteria utilizada no presente estudo foi a AB23, obtida de solo do Cerrado (DE CASTRO *et al.*, 2013) usando VL-55, um meio de cultura quimicamente definido com concentrações de sais baseadas nas concentrações encontradas em solos (SAIT; HUGENHOLTZ; JANSSEN, 2002). Xilana de farinha de aveia (*oat spelt*) foi usada como única fonte de carbono para o isolamento a partir das amostras de solo, porém como esse produto foi descontinuado, o presente trabalho utiliza 0,05% (p/v) de xilana de madeira de faia (*Beechwood xylan*, Megazyme/NEOGEN, EUA).

3.2 Meios de cultura

Durante o experimento foram utilizados dois tipos de meio de cultura: o meio VL-55 e o meio complexo R2A (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA).

O meio quimicamente definido VL-55 foi preparado conforme descrito por SAIT; HUGENHOLTZ; JANSSEN, (2002) consistindo em 3,9 g L⁻¹ de ácido 2-(Nmorfolino)etanossulfônico (MES), MgSO₄ 4 mM, CaCl₂ 0,6 mM, (NH₄)₂HPO₄ 0,4 mM, 2 mL L⁻¹ de uma solução de elementos-traço, que ao invés da SL-10 original foi substituída por uma solução de Balch como a usada por DE CASTRO *et al.*, (2013) e 2 mL L⁻¹ de tungstato e selenito (TSCHECH; PFENNIG, 1984) e 2 mL L⁻¹ de solução vitamínica (JANSSEN *et al.*, 2002). O pH do meio foi ajustado para 5,5. Quanto à fonte de carbono, foi usada 0,05% (massa/volume) de xilana de madeira de faia. Placas sem fonte de carbono formam usadas como controle negativo. Como agente solidificante foram utilizados 1,5 % de ágar ultra-puro (SIGMA-Aldrich) ou 0,8% de goma de gelana (Phytigel, SIGMA-Aldrich), dobrando-se o volume final de CaCl₂ para melhorar a solidificação.

O meio de cultura R2A (SIGMA-Aldrich) possui a seguinte composição em g L⁻¹: extrato de levedura 0,5, peptona 0,5, casaminoácidos 0,5, dextrose 0,5, amido 0,5, piruvato de sódio 0,5, fosfato de potássio 0,3, sulfato de magnésio 0,05. Esse meio de cultura foi preparado usando-se o meio em pó sem a presença de agente solidificante, ou seja: o R2A *broth*, o agente solidificante era adicionado a parte.

3.3 Tratamentos

Foram realizados tratamentos em meio R2A e VL-55 variando-se as seguintes condições de cultivo: a) presença de luz e no escuro; b) disponibilidade de água mudando-se a concentração de agente solidificante; para ágar foram utilizadas as concentrações de 1% (menor concentração) 1,5% (concentração normal) e 2% (maior concentração), no caso de gelana foram escolhidas as concentrações de 0,54% (menor concentração), 0,8% (concentração normal) e 1,07% (maior concentração) e c) temperatura usando 28, 33 e 37 °C (28 °C é a temperatura normal de crescimento). Foram avaliados crescimento (UFC/mL) e presença ou ausência de iridescência.

3.4 Estimativa de crescimento

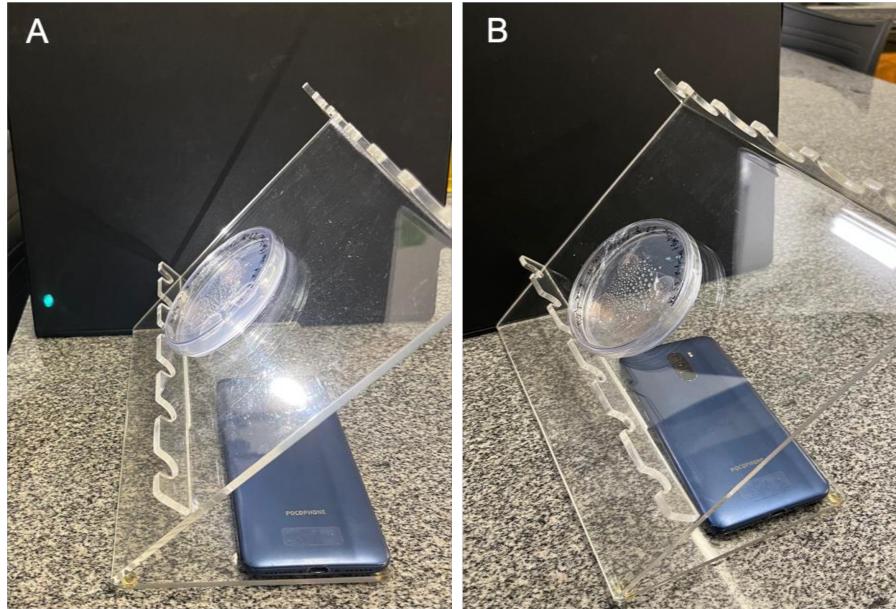
Foi utilizado o método de estimativa por contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) modificada por MILES; MISRA; IRWIN, (1938). A diluição seriada foi preparada a partir da raspagem de células (utilizando uma alça de platina) em meio sólido adicionando 1 mL da solução de sais do meio VL-55 (sem fonte de carbono e soluções de vitaminas e elementos-traço), a diluição foi a mesma para R2-A e VL-55. Essa solução inicial foi misturada em vórtex por 1 minuto e a seguir, centrifugada por 7 minutos a 10.000 x G. O sobrenadante foi removido e foi adicionado 1 mL de solução de sais, repetindo-se a ressuspensão das células em vórtex e a centrifugação. As células foram finalmente ressuspensas em 1 mL de solução de sais e a seguir foi realizada uma diluição seriada até 10^{-8} , adicionando-se 100 μ L da solução primária com as células bacterianas e colocando em um eppendorf com 900 μ L de solução de sais, após ser levado ao vortex 100 μ L da diluição 10^{-1} foi adicionado em outro eppendorf com 900 μ L de solução de sais, criando assim a diluição 10^{-2} , esse processo foi feito sucessivamente até a diluição 10^{-8} .

Após as diluições as placas eram divididas em 8 partes, em cada parte foi inoculada 3 gotas de 10 μ L, referentes a uma das diluições, após isso a bactéria teve um período de crescimento de 3 semanas.

3.5 Observação de iridescência

As placas contendo colônias das acidobactérias foram expostas à luz do tipo trans iluminação, suspendendo-as sobre a luz branca tipo LED emitida por um celular. As imagens foram obtidas utilizando um suporte de acrílico (Figura 3). As fotos foram tiradas em uma câmara escura onde a única fonte de luz vinha do celular posicionado na bancada para cima, com um ângulo de aproximadamente 45° com a placa.

Figura 3: Modelo de uso de transiluminação feito durante o desenvolvimento do trabalho. (A) com iluminação (B) sem iluminação.



Fonte:elaborado pelo autor

3.6 Análises estatísticas

As UFC foram avaliadas em triplicadas, exceto no meio R2A, a média foi calculada com o software Microsoft Excel, que também foi utilizado para obtenção dos gráficos de barra.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação da iridescência

Após três semanas de crescimento a iridescência foi avaliada indicando que a bactéria AB23 apresenta iridescência do tipo *Rainbow-diffuse* (Figura 4). Esse tipo de iridescência (KIENTZ *et al.*, 2012) já foi observada em bactérias Gram positivas e negativas utilizando-se trans-iluminação, como realizada no presente trabalho. Dentre as Gram negativas, como as Acidobacterias, esse tipo de iridescência foi observado na bactéria marinha *Alcanivorax balearicus* e em bactérias patogênicas *Pasteurella mutocida* e *Haemophilus influenzae* (KIENTZ; MARIÉ; ROSENFELD, 2012).

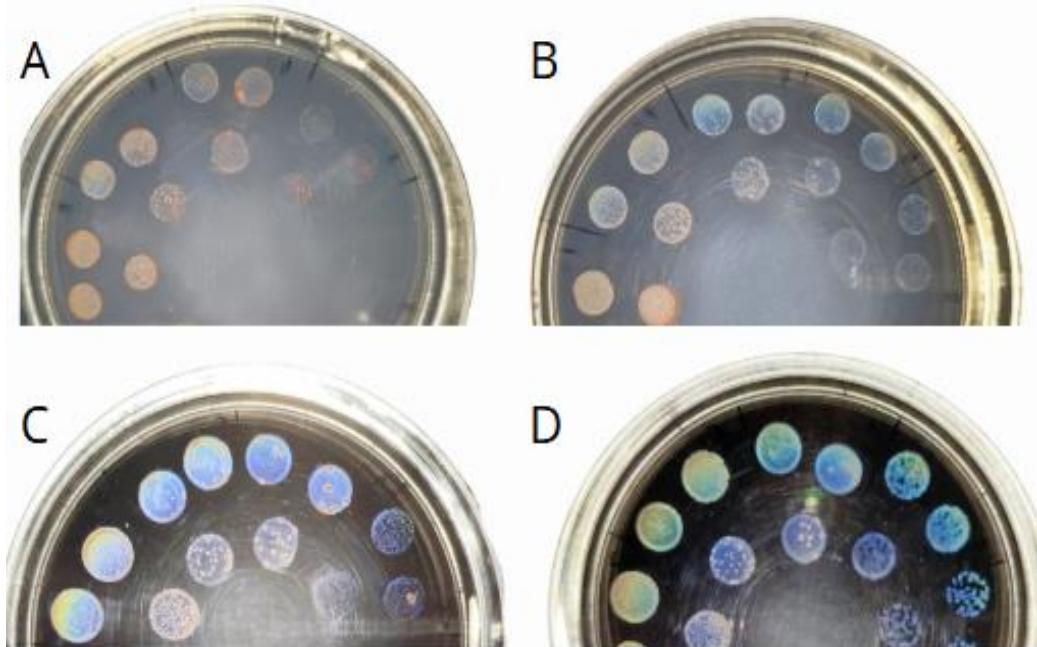
Figura 4. Iridescência tipo “Rainbow” observada na Acidobacteria AB23



Fonte: Elaborada pelo autor

Em relação ao estresse causado pela luz, a bactéria apresentou iridescência após seu crescimento na presença e ausência de (Figura 5), independentemente do agente solidificante usado. No entanto, a iridescência foi mais facilmente observada nas placas incubadas no escuro, devido a presença de pigmentação rosa presente no crescimento sob a luz, que atrapalha a visualização da iridescência. Esse pigmento já foi identificado como carotenoides e é formado na presença de luz como resposta ao estresse oxidativo (PINTO *et al.*, 2021), indicando que o meio R2-A mesmo no escuro pode causar o mesmo estresse na bactéria, levando a essa produção de carotenoide.

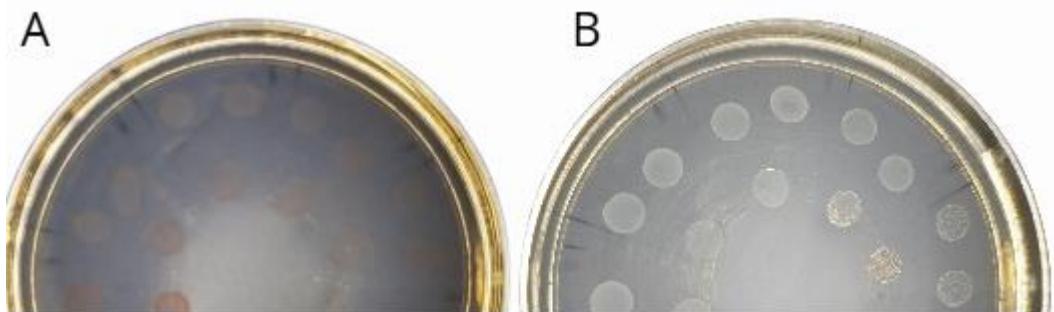
Figura 5: Avaliação de iridescência exibida pela bactéria AB23 em meio VL-55 na presença ou ausência de luz, em diferentes agentes solidificantes. A) agar e luz, B) ágar e escuro, C) gelana e luz e D) gelana e escuro.



Fonte: Elaborada pelo autor.

A disponibilidade de água alterou a produção de iridescência apenas na maior concentração de ágar (2%) (Figura 6), nas demais concentrações de ágar, a iridescência foi observada. Em placas solidificadas com gelana, a iridescência foi observada em todas as concentrações. No entanto, não podemos concluir se a falta de iridescência na placa contendo 2% de ágar foi mesmo devido à falta de água, pelo fato de que o meio VL-55 nessa concentração de agente solidificante ficou opaco e impediu a passagem da luz. O fato do meio VL-55 com ágar ser mais opaco também pode ser visto nas outras concentrações, ficando evidenciado pela forma que as contrapartes de gelana mostram cores mais vivas.

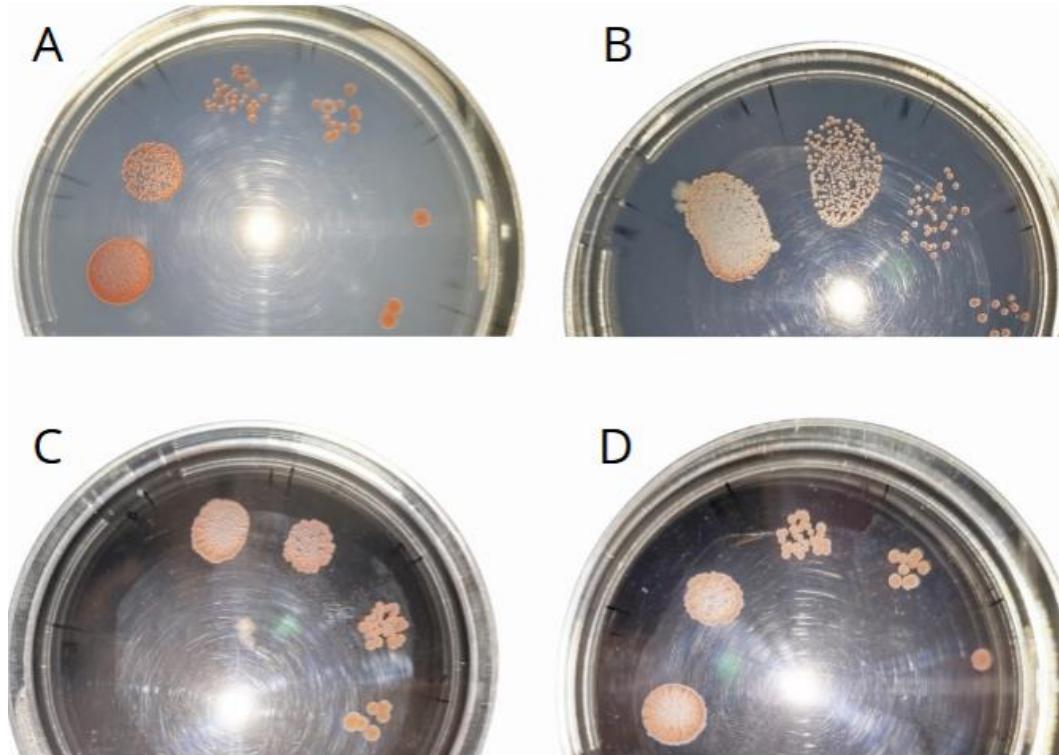
Figura 6: Avaliação de iridescência exibida pela bactéria AB23 em meio VL-55 na presença ou ausência de luz, com ágar 2%, A) Agar 2% no escuro B) Agar 2% no claro



Fonte: Elaborada pelo autor

Bactérias crescidas em meio R2A (Figura 7) não demonstraram iridescência, nem no claro nem no escuro. Esse meio não solidificou corretamente quando feito com gelana nas concentrações de 0,54 e 0,8%. Além disso, as gotas se espalharam muito pelo meio, não permitindo o inóculo de três gotas na área destinada na placa. Por isso, os experimentos em R2A foram avaliados com apenas uma gota por diluição. A dificuldade de crescimento da bactéria AB23 em meio R2A já foi demonstrada por (DE CASTRO *et al.*, 2013) e será melhor discutida a seguir.

Figura 7: Avaliação de iridescência exibida pela bactéria AB23 em meio R2-A na presença ou ausência de luz, em diferentes agentes solidificantes A) ágar no claro, B) ágar no escuro, C) gelana no claro, D) gelana no escuro.



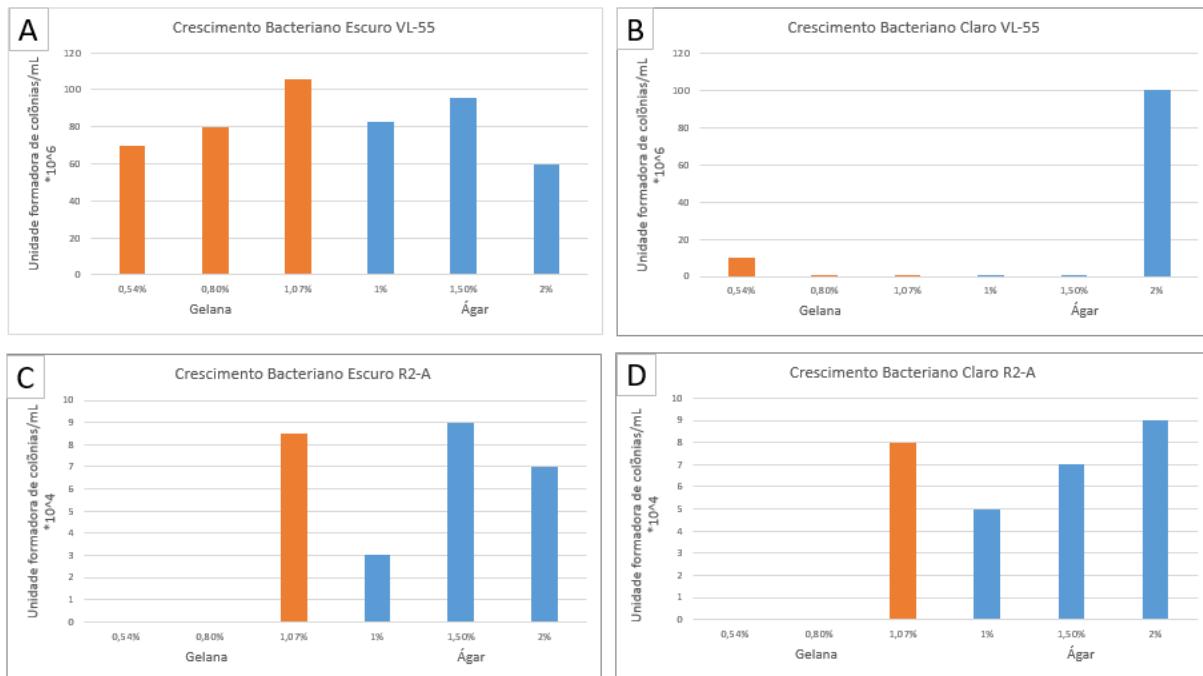
Fonte: Elaborada pelo autor

4.2 Avaliação do Crescimento

Além da presença de iridescência, também foi avaliado o crescimento das bactérias em cada meio, com cada agente solidificador, presença ou ausência de luz. Como demonstra a **Figura 8** o crescimento foi em geral melhor em meio VL-55 e nas placas que foram mantidas no escuro. O maior crescimento em VL-55 comparado ao R2A, tendo em vista quem em VL-55 cresceu ate a diluição 10^{-6} e em R2-A apenas em 10^{-4} (Figura 8), como já foi demonstrado no trabalho de (DE CASTRO *et al.*, 2013). Porém, outras Acidobactérias já foram analisadas nesse meio com sucesso (EICHORST; BREZNAK; SCHMIDT, 2007). Embora o meio R2A seja um meio complexo que possui muitas fontes de carbono e nitrogênio como peptonas e extrato de levedura era de se esperar que as acidobactérias crescessem melhor, mas a cepa AB23 parece não encontrar as condições apropriadas. É possível que a falta de nitrogênio inorgânico, em forma de íon amônio ou nitrato, no meio R2A tenha prejudicado o crescimento, pois a cepa AB23 possui preferência por nitrogênio inorgânico, que já foi observado no trabalho de DE MOURA, (2019). Por outro lado, muitos autores adicionam pequenas quantidades de extrato

de levedura ao meio VL-55 para promover o crescimento de outras Acidobacterias, indicando que esse composto possa fornecer outra fonte de carbono ou vitaminas (KIELAK *et al.*, 2016).

Figura 8: Avaliação de crescimento da bactéria AB23 em meio VL-55 e R2-A na presença ou ausência de luz, em diferentes agentes solidificantes gelana (Laranja) e ágar (Azul). A) VL-55 no escuro, gelana e ágar, B) VL-55 no claro, gelana e ágar, C) R2-A no escuro, gelana e ágar e D) R2-A no claro, gelana e ágar



Fonte: Elaborada pelo autor

O experimento de temperatura teve seu crescimento avaliado após 3 semanas. Foi observado crescimento (incontável, mais de 200 colônias por gota) nas temperaturas 28 e 33 °C até a diluição 10^{-3} . Na temperatura de 28 teve crescimento, mas com menos de duas colônias por gota, na diluição 10^{-4} . Na temperatura de 37 °C, o crescimento foi incontável na diluição 10^{-2} e não foram observadas colônias na diluição 10^{-3} . Nesse período de 3 semanas o crescimento foi baixo comparado aos experimentos anteriores, onde em VL-55 no escuro em 3 semanas a bactéria teve crescimento na diluição 10^{-6} , isso se deve a fatores, como o inóculo inicial ter um baixo número de bactérias e tempo insuficiente para o desenvolvimento das colônias para serem observadas a olho nu. Mesmo com essas dificuldades, foi observada iridescência em todas as placas (Resultado não apresentado).

5 CONCLUSÃO

A acidobacteria AB23, foi exposta a diferentes formas de estresse, entre elas, a diminuição da disponibilidade de água, a presença e ausência de luz, o tipo de meio e a

temperatura. Em todos os ambientes a bactéria produziu iridescência, exceto no meio R2A e ágar 2%. Analisando os dados não podemos dizer que a acidobacteria produz iridescência quando exposta a estresse, uma vez que nas condições mais favoráveis, no escuro em meio VL-55 ela demonstrou iridescência. No experimento de temperatura fica evidenciado o estresse da bactéria ao compararmos o crescimento, onde a 28 °C já existia um crescimento em diluições 10^{-4} enquanto na temperatura 37 °C o crescimento estava em 10^{-2} , e ainda assim apresenta iridescência, logo se a bactéria está produzindo iridescência em suas condições ótimas não podemos dizer que esta é causada por estresse celular.

Uma perspectiva futura consiste em analisar, no genoma da Acidobacteria AB23, os genes identificados por ZOMER *et al.* (2024) como determinantes à probabilidade de ocorrência da iridescência. Também vale buscar estudo para validar a produção de biofilme pela bactéria, seja de forma prática ou no genoma. Para avaliar a produção de biofilme várias técnicas podem ser usadas, uma delas é a demonstrada por ARCIOLA *et al.*, (2002). A técnica é o CRA, ou *congo red agar*, neste meio as bactérias não crescer, e se suas colônias forem vermelhas indica a inabilidade de produzir biofilme, e se forem pretas é um indicativo de produção, e quanto maior a intensidade do preto, seria um indicativo mais forte da presença de biofilme, além de outros testes como a microscopia eletrônica de varredura (MEV).

REFERÊNCIAS

- BARRIA, C.; MALECKI, M.; ARRAIANO, C. M. Bacterial adaptation to coldMicrobiology (United Kingdom), 2013.
- BÉRARD, A.; SASSI, M. Ben; KAISERMANN, A.; RENAULT, P. Soil microbial community responses to heat wave components: Drought and high temperature Climate Research 2015.
- BERTHIER, S.; KATTAWAR, G. Iridescent colors of insects. Optical Engineering, v. 47, n. 2, p. 64–65, 2008.
- BREMER, E.; KRÄMER, R. Responses of microorganisms to osmotic stressAnnual Review of Microbiology, 2019.
- BRIDON, N. H. Biofilm: the invisible fortress of bacteria. Salud, Ciencia y Tecnología - Serie de Conferencias, 2024.
- BURMØLLE, M.; REN, D.; BJARNSHOLT, T.; SØRENSEN, S. J. Interactions in multispecies biofilms: Do they actually matter? Trends in Microbiology 2014.
- BURMØLLE, M.; WEBB, J. S.; RAO, D.; HANSEN, L. H.; SØRENSEN, S. J.; KJELLEBERG, S. Enhanced biofilm formation and increased resistance to antimicrobial agents and bacterial invasion are caused by synergistic interactions in multispecies biofilms. Applied and Environmental Microbiology, v. 72, n. 6, 2006.
- CATÃO, E. C. P.; LOPES, F. A. C.; ARAÚJO, J. F.; DE CASTRO, A. P.; BARRETO, C. C.; BUSTAMANTE, M. M. C.; QUIRINO, B. F.; KRÜGER, R. H. Soil acidobacterial 16s rrna gene sequences reveal subgroup level differences between savanna-like cerrado and atlantic forest brazilian biomes. International Journal of Microbiology, v. 2014, 2014.
- CAI, W.; CAI, L.; ZHAO, J.; YAO, H. Prokaryotic community interchange between distinct microhabitats causes community pressure on anammox biofilm development. Water Research, v. 233, 2023.
- CHAPELAIS-BARON, M.; GOUBET, I.; PÉTERI, R.; PEREIRA, M. de F.; MIGNOT, T.; JABVENEAU, A.; ROSENFELD, E. Colony analysis and deep learning uncover 5-hydroxyindole as an inhibitor of gliding motility and iridescence in *cellulophaga lytica*. Microbiology (United Kingdom), v. 164, n. 3, p. 308–321, 1 mar. 2018.
- DE CASTRO, V. H. L.; SCHROEDER, L. F.; QUIRINO, B. F.; KRUGER, R. H.; BARRETO, C. C. Acidobacteria from oligotrophic soil from the Cerrado can grow in a wide range of carbon source concentrations. Canadian Journal of Microbiology, v. 59, n. 11, p. 746–753, nov. 2013a.
- DE CASTRO, V. H. L.; SCHROEDER, L. F.; QUIRINO, B. F.; KRUGER, R. H.; BARRETO, C. C. Acidobacteria from oligotrophic soil from the Cerrado can grow in a wide range of carbon source concentrations. Canadian Journal of Microbiology, v. 59, n. 11, p. 746–753, nov. 2013b.

DE MOURA, K. S. P. Utilização de nitrato por *Telmatobacter* sp AB60, Acidobacteria. 2019. Universidade Católica de Brasília, 2019.

DEKA, P.; GOSWAMI, G.; DAS, P.; GAUTOM, T.; CHOWDHURY, N.; BORO, R. C.; BAROOAH, M. Bacterial exopolysaccharide promotes acid tolerance in *Bacillus amyloliquefaciens* and improves soil aggregation. *Molecular Biology Reports*, v. 46, n. 1, 2019.

EICHORST, S. A.; BREZNAK, J. A.; SCHMIDT, T. M. Isolation and characterization of soil bacteria that define *Terriglobus* gen. nov., in the phylum Acidobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 73, n. 8, p. 2708–2717, abr. 2007.

FEDERLE, M. J.; BASSLER, B. L. Interspecies communication in bacteria. *Journal of Clinical Investigation* 2003.

FLEMMING, H. C.; WINGENDER, J.; SZEWSZYK, U.; STEINBERG, P.; RICE, S. A.; KJELLEBERG, S. Biofilms: An emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology* 2016.

FLEMMING, H. C.; WUERTZ, S. Bacteria and archaea on Earth and their abundance in biofilms. *Nature Reviews Microbiology*, v. 17, n. 4, 2019.

GRAVES, L. M.; HELSEL, L. O.; STEIGERWALT, A. G.; MOREY, R. E.; DANESHVAR, M. I.; ROOF, S. E.; ORSI, R. H.; FORTES, E. D.; MILILLO, S. R.; DEN BAKKER, H. C.; WIEDMANN, M.; SWAMINATHAN, B.; SAUDERS, B. D. *Listeria marthii* sp. nov., isolated from the natural environment, Finger Lakes National Forest. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 60, n. 6, 2010.

HALL-STOODLEY, L.; COSTERTON, J. W.; STOODLEY, P. Bacterial biofilms: From the natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology* 2004.

HAMIDJAJA, R.; CAPOULADE, J.; CATÓN, L.; INGHAM, C. J. The cell organization underlying structural colour is involved in *Flavobacterium* IR1 predation. *ISME Journal*, v. 14, n. 11, 2020.

HENDIANI, S.; HANSEN, M. F.; KONTOPOULOS, I.; VERMA, T.; PUCETAITE, M.; BURMØLLE, M.; RAMSTEDT, M.; SVENNINGGAARD SAND, K. K. Fundamentals of biofilm formation in soil: From functionalized self-assembled monolayers to rewilding. *bioRxiv*, p. 2023.01.30.526320, 1 jan. 2023.

IMLAY, J. A. The molecular mechanisms and physiological consequences of oxidative stress: Lessons from a model bacterium. *Nature Reviews Microbiology*, 2013.

JANSSEN, P. H.; YATES, P. S.; GRINTON, B. E.; TAYLOR, P. M.; SAIT, M. Improved culturability of soil bacteria and isolation in pure culture of novel members of the divisions Acidobacteria, Actinobacteria, Proteobacteria, and Verrucomicrobia. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, n. 5, p. 2391–2396, 2002.

JEFFERSON, K. K. What drives bacteria to produce a biofilm? *FEMS Microbiology Letters* 2004.

JOHANSEN, V. E.; CATÓN, L.; HAMIDJAJA, R.; OOSTERINK, E.; WILTS, B. D.; RASMUSSEN, T. S.; SHERLOCK, M. M.; INGHAM, C. J.; VIGNOLINI, S. Genetic manipulation of structural color in bacterial colonies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 115, n. 11, 2018.

KAPLAN, J. B. Biofilm dispersal: Mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. *Journal of Dental Research* 2010.

KIELAK, A. M.; BARRETO, C. C.; KOWALCHUK, G. A.; VAN VEEN, J. A.; KURAMAE, E. E. The ecology of Acidobacteria: moving beyond genes and genomes. *Frontiers in Microbiology*, v. 7, n. MAY, p. 744, 31 maio 2016.

KIENTZ, B.; AGOGUÉ, H.; LAVERGNE, C.; MARIÉ, P.; ROSENFELD, E. Isolation and distribution of iridescent *Cellulophaga* and other iridescent marine bacteria from the Charente-Maritime coast, French Atlantic. *Systematic and Applied Microbiology*, v. 36, n. 4, p. 244–251, jun. 2013.

KIENTZ, B.; LUKE, S.; VUKUSIC, P.; PÉTERI, R.; BEAUDRY, C.; RENAULT, T.; SIMON, D.; MIGNOT, T.; ROSENFELD, E. A unique self-organization of bacterial sub-communities creates iridescence in *Cellulophaga lytica* colony biofilms. *Scientific Reports*, v. 6, 2016.

KIENTZ, B.; MARIÉ, P.; ROSENFELD, E. Effect of abiotic factors on the unique glitter-like iridescence of *Cellulophaga lytica*. *FEMS Microbiology Letters*. 2012.

KIMMEL, S. A.; ROBERTS, R. F.; ZIEGLER, G. R. Optimization of exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RR grown in a semidefined medium. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 64, n. 2, 1998.

KJERNESMO, K.; LIM, A. M.; MIDDLETON, R.; HALL, J. R.; COSTELLO, L. M.; WHITNEY, H. M.; SCOTT-SAMUEL, N. E.; CUTHILL, I. C. Beetle iridescence induces an avoidance response in naïve avian predators. *Animal Behaviour*, v. 188, p. 45–50, 1 jun. 2022.

KOSTEŠIĆ, E.; MITROVIĆ, M.; KAJAN, K.; MARKOVIĆ, T.; HAUSMANN, B.; ORLIĆ, S.; PJEVAC, P. Microbial Diversity and Activity of Biofilms from Geothermal Springs in Croatia. *Microbial Ecology*, v. 86, n. 4, 2023.

KUSKE, C. R.; BARNS, S. M.; BUSCH, J. D. Diverse uncultivated bacterial groups from soils of the arid Southwestern United States that are present in many geographic regions. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 63, n. 9, 1997.

LENNON, J. T.; LEHMKUHL, B. K. A trait-based approach to bacterial biofilms in soil. *Environmental microbiology*, v. 18, n. 8, 2016.

LI, Y. H.; TIAN, X. Quorum sensing and bacterial social interactions in biofilms. *Sensors* 2012.

LI, Y. H.; TIAN, X. L. Quorum Sensing and Bacterial Social Interactions in Biofilms: Bacterial Cooperation and Competition. *Em: Stress and Environmental Regulation of Gene Expression and Adaptation in Bacteria*.

LUDWIG, W.; BAUER, S. H.; BAUER, M.; HELD, I.; KIRCHHOF, G.; SCHULZE, R.; HUBER, I.; SPRING, S.; HARTMANN, A.; SCHLEIFER, K. H. Detection and in situ identification of representatives of a widely distributed new bacterial phylum. *FEMS Microbiology Letters*, v. 153, n. 1, 1997.

MA, W.; PENG, D.; WALKER, S. L.; CAO, B.; GAO, C.-H.; HUANG, Q.; CAI, P. *Bacillus subtilis* biofilm development in the presence of soil clay minerals and iron oxides. *npj Biofilms and Microbiomes*, v. 3, n. 1, p. 4, 2017..

MAHTO, K. U.; VANDANA; PRIYADARSHANEE, M.; SAMANTARAY, D. P.; DAS, S. Bacterial biofilm and extracellular polymeric substances in the treatment of environmental pollutants: Beyond the protective role in survivability. *Journal of Cleaner Production*. 2022.

MÄNNISTÖ, M. K.; RAWAT, S.; STAROVOYTOV, V.; HÄGGBLOM, M. M. *Terriglobus saanensis* sp. nov., an acidobacterium isolated from tundra soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 61, n. 8, 2011.

MATZ, C.; KJELLEBERG, S. Off the hook - How bacteria survive protozoan grazing. *Trends in Microbiology*, v. 13, n. 7, 2005.

MCBRIDE, M. J. Bacterial gliding motility: Multiple mechanisms for cell movement over surfaces. *Annual Review of Microbiology*. 2001.

MCDOUGALD, D.; RICE, S. A.; BARRAUD, N.; STEINBERG, P. D.; KJELLEBERG, S. Should we stay or should we go: Mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal. *Nature Reviews Microbiology*. 2012.

MERAUD, T. Iridescence, Intimacies. What's Love (or Care, Intimacy, Warmth, Affection) Got to Do with It, p. 138–162, 2015.

MICHAELIS, C.; GROHMANN, E. Horizontal gene transfer of antibiotic resistance genes in biofilms. *Antibiotics*. 2023.

MILES, A. A.; MISRA, S. S.; IRWIN, J. O. The estimation of the bactericidal power of the blood. *Epidemiology and Infection*, v. 38, n. 6, p. 732–749, 15 nov. 1938.

NAVARRETE, A. A.; KURAMAE, E. E.; DE HOLLANDER, M.; PIJL, A. S.; VAN VEEN, J. A.; TSAI, S. M. Acidobacterial community responses to agricultural management of soybean in Amazon forest soils. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 83, n. 3, 2013.

O'CONNOR-SÁNCHEZ, A.; RIVERA-DOMÍNGUEZ, A. J.; DE LOS SANTOS-BRIONES, C.; LÓPEZ-AGUIAR, L. K.; PEÑA-RAMÍREZ, Y. J.; PRIETO-DAVO, A. Acidobacteria appear to dominate the microbiome of two sympatric Caribbean Sponges and one Zoanthid. *Biological Research*, v. 47, n. 1, 2014.

O'TOOLE, G.; KAPLAN, H. B.; KOLTER, R. Biofilm formation as microbial development. *Annual Review of Microbiology*. 2000.

PINTO, O. H. B.; COSTA, F. S.; RODRIGUES, G. R.; DA COSTA, R. A.; DA ROCHA FERNANDES, G.; JÚNIOR, O. R. P.; BARRETO, C. C. Soil Acidobacteria strain AB23

resistance to oxidative stress through production of carotenoids. *Microbial Ecology*, v. 81, n. 1, p. 169–179, 2 jan. 2021.

PLEIJHUIS, R. G.; CRANE, L.; VAN OOSTEN, M.; VAN DAM, G.; NTZIACHRISTOS, V. Optical imaging applications in cancer research and treatment. *Cancer–Cares, Treatments and Preventions*, 2014.

PROCÓPIO, L.; BARRETO, C. The soil microbiomes of the Brazilian Cerrado. *Journal of Soils and Sediments*, v. 21, n. 6, p. 2327–2342, 2021.

RIVAS, R.; GARCÍA-FRAILE, P.; PEIX, A.; MATEOS, P. F.; MARTÍNEZ-MOLINA, E.; VELÁZQUEZ, E. *Alcanivorax balearicus* sp. nov., isolated from Lake Martel. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 57, n. 6, 2007.

SAIT, M.; HUGENHOLTZ, P.; JANSSEN, P. H. Cultivation of globally distributed soil bacteria from phylogenetic lineages previously only detected in cultivation-independent surveys. *Environmental Microbiology*, v. 4, n. 11, p. 654–666, 9 dez. 2002.

SEAGO, A. E.; OBERPRIELER, R.; SARANATHAN, V. K. Evolution of insect iridescence: Origins of three-dimensional photonic crystals in weevils (Coleoptera: Curculionoidea). Em: *Integrative and Comparative Biology*, 6., 2019, [...]. 2019. v. 59

SOUZA, R. C.; MENDES, I. C.; REIS-JUNIOR, F. B.; CARVALHO, F. M.; NOGUEIRA, M. A.; VASCONCELOS, A. T. R.; VICENTE, V. A.; HUNGRIA, M. Shifts in taxonomic and functional microbial diversity with agriculture: How fragile is the Brazilian Cerrado? *BMC Microbiology*, v. 16, n. 1, 2016.

STACKEBRANDT, E.; LIESACK, W.; GOEBEL, B. M. Bacterial diversity in a soil sample from a subtropical Australian environment as determined by 16S rDNA analysis. *The FASEB Journal*, v. 7, n. 1, p. 232–236, jan. 1993.

SUDMALIS, D.; MUBITA, T. M.; GAGLIANO, M. C.; DINIS, E.; ZEEMAN, G.; RIJNAARTS, H. H. M.; TEMMINK, H. Cation exchange membrane behaviour of extracellular polymeric substances (EPS) in salt adapted granular sludge. *Water Research*, v. 178, 2020.

TORTORA, G. J.; CASE, C. L.; BAIR III, W. B.; WEBER, D.; FUNKE, B. R. *Microbiologia*. [s.l.] Artmed Editora, 2024.

TSCHECH, A.; PFENNIG, N. Growth yield increase linked to caffeate reduction in *Acetobacterium woodii*. *Archives of Microbiology*, v. 137, n. 2, 1984.

WU, Y.; CAI, P.; JING, X.; NIU, X.; JI, D.; ASHRY, N. M.; GAO, C.; HUANG, Q. Soil biofilm formation enhances microbial community diversity and metabolic activity. *Environment International*, v. 132, 2019.

ZIERDT, C. H. Autolytic nature of iridescent lysis in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 37, n. 1, 1971.

ZOMER, A.; INGHAM, C. J.; MEIJENFELDT, F. A. B. von; DONCEL, Á. E.; VAN DE KERKHOF, G. T.; HAMIDJAJA, R.; SCHOUTEN, S.; SCHERTEL, L.; MÜLLER, K. H.;

CATÓN, L.; HAHNKE, R. L.; BOLHUIS, H.; VIGNOLINI, S.; DUTILH, B. E. Structural color in the bacterial domain: The ecogenomics of a 2-dimensional optical phenotype. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 121, n. 29, 16 jul. 2024.