

Isolamento de Bactérias Associadas a Plantas do Bioma Caatinga no Semiárido Nordeste

Luana Lira-Cadete¹; Andreza Raquel Barbosa de Farias¹; Danubia Ramos Moreira de Lima²; Andresa Priscila de Sousa Ramos²; Itamar Soares de Melo³; Júlia Kuklinsky-Sobral⁴

Resumo

A Caatinga é um bioma exclusivamente brasileiro e corresponde a 70% do território nordestino. Esse bioma caracteriza-se pela distribuição irregular das chuvas e pelas características sazonais de sua vegetação, que apresenta forte endemismo. Arelada a essa rica vegetação e adaptada às condições peculiares desta região, está a microbiota, em especial as rizobactérias. Este trabalho teve por objetivo isolar bactérias e avaliar a densidade destes micro-organismos associados à raiz e rizosfera de plantas de cinco famílias botânicas da Caatinga. As amostras foram separadas em solo da rizosfera e raiz, sendo as amostras de tecido radicular submetidas a um processo de desinfecção superficial. As bactérias associadas à raiz e da rizosfera foram isoladas em meio TSA acrescido de 5% de NaCl. A densidade populacional bacteriana associada à raiz variou de $9,3 \times 10^3$ (*Cobretum* sp.) a $1,9 \times 10^8$ (*Terminalia* sp.) UCF/g TVF e da rizosfera a variação foi de $3,3 \times 10^8$ (*Schinus* sp.) e $8,3 \times 10^4$ (*Cobretum* sp.) UCF/g TVF. A variabilidade morfológica encontrada neste trabalho sugere uma ampla diversidade de genótipos bacterianos associados à rizosfera e raízes de plantas destes gêneros encontrados na Caatinga.

Palavras-chave: bactérias endofíticas, interação bactéria-plantas, rizobactérias, salinidade.

Introdução

O Semiárido abrange uma área de aproximadamente 970 mil Km², o que corresponde a 90% do território nordestino, somado à região setentrional de Minas Gerais (SILVA, 2006). A maior parte desse território é coberta pelo Bioma Caatinga, perfazendo uma área de mais de 800 mil Km² (IBGE, 2011), correspondendo a mais 11% do território nacional e 70% do nordestino (GONÇALVES, 2011). O clima do Semiárido caracteriza-se pela má distribuição pluviométrica, com médias anuais de 268 mm a 800 mm, temperaturas elevadas e altas taxas de evapotranspiração (SILVA, 2006). Lima (2011) ressalta o fato de a Caatinga possuir cerca de 70% de sua área sujeita ao antropismo, causando um avançado processo de degradação, pelo desmatamento e outros usos inadequados dos recursos naturais. Tanto o Semiárido quanto a Caatinga, passam por um acentuado processo de desertificação (PACHÊCO et al.,

¹Estudante de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG), Garanhuns, PE, luanalirac@gmail.com.

²Mestranda em Ciências do Solo, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG), Garanhuns, PE.

³Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP.

⁴ Professora Adjunta, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns, LGBM/UAG, Garanhuns, PE.

2006). Segundo Oliveira (2004) a Caatinga é um dos biomas mais antropizados e onde se encontram as maiores áreas que sofrem o processo de desertificação.

Além das Cactáceas, destacam-se espécies arbóreas, herbáceas e arbustivas; muitas delas endêmicas da Caatinga. Lima (2011) também faz referência ao elevado número de espécies vegetais nativas deste bioma. Levando-se em consideração que a Caatinga tem um alto grau de endemismo, é de se esperar que a microbiota associada a esse bioma expresse uma diversidade biológica rica e peculiar. Oliveira (2004) relata a falta de informações sobre a biodiversidade dos micro-organismos do solo dessa região. Portanto, o isolamento desses micro-organismos com o intuito de se estudar sua ecologia e buscar novas espécies e novas moléculas com potencial de uso na biotecnologia, especialmente em biomas com forte endemismo, como a Caatinga, é importante para a boa utilização da biodiversidade endêmica desses ambientes. Neste sentido, este trabalho teve como objetivo isolar e quantificar a densidade bacteriana halotolerante associada a raízes de plantas da Caatinga.

Material e Métodos

As amostras vegetais foram compostas com três plantas representando cada espécie, de cinco famílias, Anacardiaceae (*Myracrodruon urundeuva*), Apocynaceae (*Aspidosperma pyrifolium*), Caesalpinaceae (*Caesalpinia pyramidalis*), Cobretaceae (espécie vegetal não identificada) e Rhamnaceae (*Ziziphus joazeiro*), foram coletadas no Parque do Seridó, em Sousa, RN (S 06°34'41.3" e W 37°15'17.1"). As amostras foram levadas ao Laboratório de Biotecnologia e Genética Microbiana, da UAG/UFRPE, onde se separou o solo da região rizosférica e raiz em três amostras por planta. As amostras de raízes foram lavadas em água corrente. As amostras de solo foram pesadas e colocadas em frascos com tampão PBS (fosfato salino) e colocados na mesa agitadora por 30 min a 90 rpm. As amostras de tecido radicular passaram por um processo de desinfestação superficial, com as seguintes etapas: 1min em álcool 70%, 3 min em hipoclorito de sódio, 30 seg em álcool 70%, duas lavagens em água destilada autoclavada. As amostras de bactérias associadas à raiz e da rizosfera foram diluídas em PBS e semeadas em placas de Petri contendo meio TSA acrescido de 5% de NaCl, suplementado com o fungicida Cercobyn 700 (50 µg/mL), incubadas a 28 °C por até 15 dia.

A densidade bacteriana foi estimada por meio da contagem das colônias em placas com meio de cultura. Os dados obtidos foram avaliados com o auxílio do software estatístico SISVAR 5.3 (FERREIRA, 1999), sendo realizada a análise de média dos valores de unidades formadoras de colônias por grama de tecido vegetal ou de solo (UFC/g TVF), utilizando-se como método estatístico o teste de Skott-Knott a 5% de significância. Colônias bacterianas foram selecionadas aleatoriamente, sendo em seguida purificadas e estocadas em meio TSA líquido com 20% de glicerol.

Resultados e Discussão

Foram isoladas 130 linhagens bacterianas expressando vários tipos culturais como a coloração rosa, amarela, bege e branca. Quanto ao aspecto, foram observadas colônias com brilho característico de sua superfície, sendo denominadas colônias "leitosas", também foram selecionadas colônias opacas e secas (Figura1). Foi observado o predomínio de colônias brancas e aspecto leitoso, no entanto, a morfologia das

colônias bacterianas é expressa em função do meio ao qual estão acondicionadas, uma vez que o fenótipo é resultado da interação do genótipo e do meio. A variabilidade cultural encontrada neste trabalho sugere uma ampla diversidade de genótipos bacterianos associados à rizosfera e raiz das plantas dos gêneros *Ziziphus* sp., *Aspidosperma* sp., *Terminalia* sp., *Caesalpinia* sp., *Cobretum* sp., *Myracrodruon* sp., comumente encontrados na Caatinga. Contudo, análises de identificação genotípica devem ser realizadas para confirmação da variabilidade.

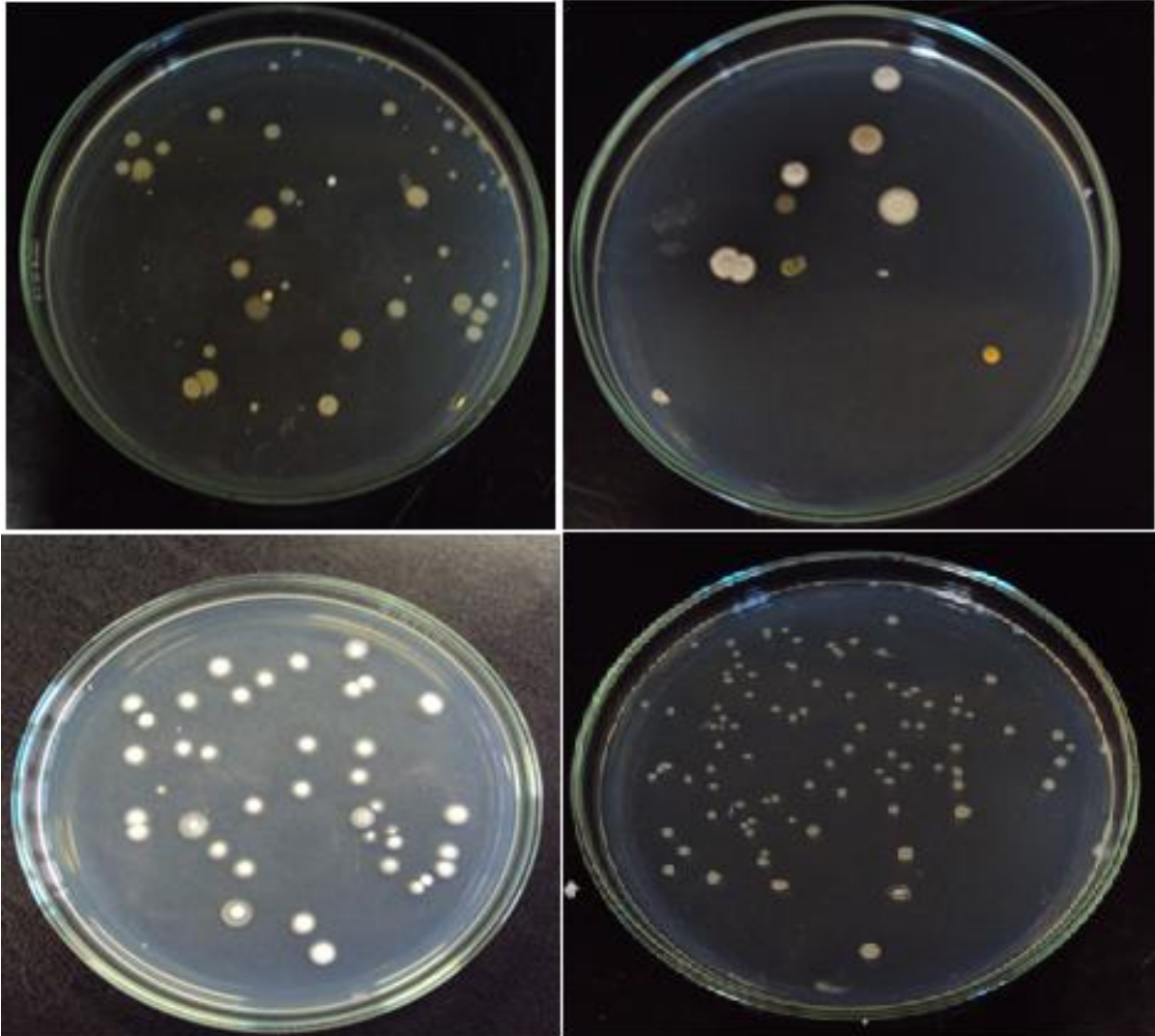


Figura 1. Placas de isolamento de bactérias associadas a plantas da Caatinga apresentando diferentes tipos morfológicos.

(Fotos: Luana Lira-Cadete).

A densidade populacional bacteriana associada à raiz (endofítica e epifítica) variou de $9,3 \times 10^3$ (*Cobretum* sp.) a $1,9 \times 10^8$ (*Terminalia* sp.) UFC/g TVF. Essa grande variação pode ser resultado da especificidade das plantas estudadas, mas pode ter sido acentuada pelas dificuldades de se obter amostras de raízes de algumas espécies arbóreas, dado o porte da planta e o vigor e tamanho das raízes que não permitiram obter amostras com o interior intacto (sem expor os tecidos internos) das raízes, o que pode ter influenciado a densidade de bactérias associadas a raízes. Quanto a rizosfera, a variação foi de $3,3 \times 10^8$ (*Schinus* sp.) e $8,3 \times 10^4$ (*Cobretum* sp.) (Tabela 1).

Tabela 1. Densidade populacional de bactérias associadas à raiz e rizosfera de espécies vegetais da Caatinga. Amostras seguidas de mesma letra não diferenciam estatisticamente pelo teste de Skott-Knott a 5% de significância.

Nome Comum	Espécie	Família	Log10 UFC/g TVF	
			Raiz	Rizosfera
juá	<i>Ziziphus joazeiro</i>	Rhamnaceae	7,89 b	7,66 A
pereiro	<i>Aspidosperma pyrifolium</i>	Apocinaceae	2,51 a	7,94 A
-		Cobretaceae	1,48 a	7,88 A
catingueira	<i>Caesalpinia pyramidalis</i>	Caesalpinaceae	5,6 a	7,48 A
-	<i>Cobretum</i> sp.	Cobretaceae	6,12 b	2,7 A
-	<i>Cobretum</i> spp.	Cobretaceae	6,28 b	7,61 A
-	<i>Cobretum</i> spp.	Cobretaceae	8,28 b	6,84 A
pereiro	<i>Aspidosperma pyrifolium</i>	Apocynaceae	7,97 b	7,14 A
aroeira	<i>Myracrodruon urundeuva</i>	Anacardiaceae	7,62 b	7,84 A
aroeira	<i>Myracrodruon urundeuva</i>	Anacardiaceae	7,07 b	8,47 A

Neste trabalho, houve uma grande densidade populacional associada à raiz e rizosfera de plantas da Caatinga. Essa comunidade pode variar respondendo a condições ambientais. Neroni et al. (2006), investigando a ocorrência e densidade de bactérias diazotróficas em florestas de araucárias, em São Paulo, avaliaram a floresta nativa com predominância de araucárias e reflorestamento com esse mesmo tipo de vegetação. Observaram que não houve diferença significativa na densidade destes micro-organismos. Segundo esses autores, estes resultados podem não ser representativos, pois os dados são referentes a apenas um período amostral e, portanto, relativos às condições daquele momento específico. Além disso, existe a dinâmica dos micro-organismos no solo e na rizosfera e as flutuações numéricas destes ao longo do tempo. Portanto, é necessário realizar coletas em diferentes épocas do ano para verificar a ocorrência de diferença na densidade da população bacteriana.

Pereira et al. (1999), avaliando o efeito das condições ambientais sobre populações microbianas, verificaram que na rizosfera, de modo geral, encontram-se maiores números de UFC/g de solo das populações microbianas, comparando-se com o solo não rizosférico, em amostras coletadas no Cerrado com vegetação nativa. A variação foi atribuída a condições climáticas, principalmente a distribuição desuniforme das chuvas. Essa desuniformidade da distribuição pluviométrica é, também, uma característica do Bioma Caatinga, portanto, a população microbiana pode sofrer influência do regime hídrico dessa região.

Conclusões

Todas as plantas avaliadas apresentaram interação com bactérias cultivadas em meio com 5% de NaCl.

As plantas da Caatinga avaliadas apresentaram intensa colonização bacteriana associadas a zonas radiculares.

Agradecimentos

Agradecemos ao Senhor João Luiz da Silva, Embrapa Meio Ambiente, pela coleta e fornecimento do material vegetal; às agências de fomento, CNPq e FACEPE, pelo apoio financeiro; e à equipe que faz o Laboratório de Genética e Biotecnologia Microbiana da UAG/UFRPE.

Referências

FERREIRA, D. F. **SISVAR**: sistema de análise de variância para dados balanceados. Lavras: UFLA, 1999. 19 p.

GONÇALVES, G. S. **Estratégias de controle de invasão biológica por *Prosopis juliflora*, na Caatinga e ecossistemas associados**. 2011. 81 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Areia.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 17 jun. 2011.

LIMA, C. R. **Avaliação ecofisiológica em sementes de *Caesalpinia Pyramidalis***. 2011. 93 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Areia.

NERONI, R. F.; TIZATO, G. H.; CARDOSO, E. J. B. N.; BARETTA, D.; MESCOLOTTI, D. L. C. Ocorrência e densidade de bactérias diazotróficas em florestas de *Araucaria angustifolia* em Campos do Jordão. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 27.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 11.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 9.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 6., 2006, Bonito, MS. **A busca das raízes**: anais. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 82). 1 CD-ROM.

OLIVEIRA, V. C. **Atividade enzimática, população e análise de DNA da biodiversidade microbiana do solo em agroecossistemas do Semi-Árido**. 2004. 106 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão.

PACHÊCO, A. P.; FREIRE, N. C. F.; BORGES, U. N. **A Transdisciplinaridade da desertificação**. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 2006. 30 p.

PEREIRA, J. C.; NEVES, M. C. P.; DROZDOWICZ, A. Dinâmica das populações bacterianas em solos de Cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, DF, v. 34, n. 5, p. 801-811, 1999.

SILVA, M. A. **Entre o combate a seca e a convivência com o Semi-Árido**: transições parágnicas e sustentabilidade do desenvolvimento. 2006. 298 f. Tese (Doutorado em Desenvolvimento Sustentável) – Universidade de Brasília, Centro de Desenvolvimento Sustentável, Brasília, DF.