

EFEITO INIBIDOR DAS BACTÉRIAS ISOLADAS DA RAIZ E DO SOLO RIZOSFÉRICO DO MANDACARU.

Rodolpho Stephan Santos Braga (1); Luanda Bárbara Ferreira Canário de Souza (2); Maria José de Britto Costa Fernandes (3).

(1) Universidade Federal do Rio Grande do Norte. rodolpho.stephan@gmail.com

(2) Universidade Federal do Rio Grande do Norte. luanda.canario@hotmail.com

(3) Universidade Federal do Rio Grande do Norte. majofernandes@gmail.com

Introdução

O mandacaru é uma cactácea encontrada nas caatingas nordestinas de grande importância para a sustentabilidade e conservação da biodiversidade do bioma. Seus frutos servem de alimentos para pássaros e animais silvestres da caatinga. Em períodos de seca, esta cactácea é largamente utilizada pelos agricultores para alimentação dos animais. Lima (1996), afirma que o mandacaru se desenvolve nas áreas mais secas da região semiárida do Nordeste, em solos rasos, em cima de rochas e se multiplica regularmente, cobrindo extensas áreas local. Sua distribuição ocorre principalmente nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Bahia (Cavalcanti et al., 2007).

Embora a caatinga seja considerada a pastagem nativa mais densa do mundo, isto é, a pastagem com a maior densidade de árvores e arbustos com um total de 13.230 plantas/ha registrados no município de Petrolina, PE (ALBUQUERQUE, 1999), na seca os agricultores cortam o mandacaru e queimam seus espinhos para alimentar seus rebanhos de caprinos, ovinos e bovinos. Essa, entre outras cactáceas nativas da caatinga tem sido utilizado nos períodos de seca prolongada, como um dos principais suportes forrageiros dos ruminantes (SILVA et al., 2005).

O solo é o principal reservatório de agentes microbianos de controle biológico, sendo o solo rizosférico preferido para isolamento de bactérias colonizadoras de raízes. E dentre essas bactérias encontram-se dois grupos que possuem razoável eficiência no controle, o primeiro é da família *Pseudomonadaceae*, onde se destaca o gênero *Pseudomonas*, e o segundo da família *Bacillaceae*, que são bactérias com capacidade de esporular, onde se destaca o gênero *Bacillus*.

Pseudomonas spp. fluorescentes são bactérias Gram-negativas e produzem um pigmento verde-amarelado fluorescente em meio B de KING et al. (1954). De acordo com STANIER (1969), esses organismos podem ser encontrados na água e no solo. As espécies mais importantes desse grupo são *P. fluorescens* e *P. putida*, geralmente estudadas com o objetivo de avaliar a promoção

de crescimento em plantas. A sua diversidade metabólica dá a essas bactérias uma grande habilidade para adaptação a vários ambientes, tais como solo e rizosfera.

Já o gênero *Bacillus* são bacilo Gram-positivas e podem oxidar uma ampla faixa de compostos orgânicos, resistentes ao calor e a outros agentes destrutivos (STANIER, 1969). Formam endósporos, característica que as coloca entre os esporulados, e apresentam a habilidade de produzir antibiótico (FREITAS & PIZZINATTO, 1997). A formação de endósporos aumenta a resistência aos fatores adversos. Dessa forma, podem ser armazenados, como inoculantes, por um período mais longo, e possuem maior tempo de permanência no solo, além da facilidade de aplicação.

Dessa forma, este trabalho, teve como objetivo pesquisar o efeito inibidor de bactérias presente no mandacaru, tanto da raiz como do solo, das espécies, *Bacillus* sp., Bacilo Gram negativo (não identificado) e a *Pseudomonas* sp.

Metodologia

Para a atividade do efeito inibidor das cepas isoladas da raiz e do solo rizosférico do *Cereus jamacaru* (mandacaru), foram usadas as seguintes bactérias: *Escherichia coli* 135 (LABMED); *Klebsiella pneumoniae* (LABMED); *Citrobacter diversus* (LABMED); *Enterococcus spp.* (LABMED), oriundas da coleção de Microrganismos do Laboratório de Bacteriologia Médica do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, além das cepas padrão: *Escherichia coli* ATCC-25923 e o *Staphylococcus aureus* ATCC-25922. Enquanto os microrganismos testes foram isolados do mandacaru e classificados como Bacilo Gram-positivo (*Bacillus* sp.) e Bacilo Gram-negativo do solo e a *Pseudomonas* sp.

A atividade antimicrobiana dos isolados foi testada pelo ensaio bloco de gelose (Ichikawa, Ishikura e Ozaki, 1971), utilizamos uma suspensão da bactéria com crescimento de 24 horas a 37°C. Cada suspensão, foi semeada por distensão no meio (EYTa) Ágar Extrato Levedura Triptona (Triptona 4,0g; Extrato de Levedura 4,0g; K₂HPO₄ 0,01g; Agar 25g; Água Destilada 1000mL), incubadas por 24/48hs a 37°C. Enquanto o crescimento das bactérias a serem testadas, utilizamos o (EYTc) Caldo Extrato de Levedura Triptona, para todas as amostras com crescimento de 24hs a 37°C, e as suspensões preparadas com turvação correspondente ao tubo N^o 01 da Escala de Mac Farland (FERNANDES, MJBC., 2001)

Em seguida, blocos de gelose do crescimento em forma de tapete, foram removidos com um

furador metálico de 10mm de diâmetro e transferidos para as placas com os microrganismos indicados, seguida de incubadas com observação por 24/48hs a 37°C. Após esse período foram realizadas as leituras dos halos de inibição. Neste estudo serão considerados somente resultados com halo de inibição maior ou igual 12mm. Todos os testes foram realizados em duplicata.

Resultado

Na Tabela 1, observamos a atividade inibitória dos microrganismos isolados do mandacaru no ensaio bloco de gelose, frente a seis bactérias teste selecionadas: Gram negativas (*Escherichia coli* 135; *Klebsiella pneumoniae*; *Citrobacter diversus*; *Escherichia coli* ATCC 25922) e Gram positivas (*Enterococcus sp*; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923).

Azuma (2011) também isolou bactérias de uma região de condições extremas e observaram que essas condições podem favorecer o desenvolvimento e a disseminação desses microrganismos em processos fisiológicos e metabólicos especiais. Melo (2008) verificou que dos 60 isolados de bactérias do solo, 68% apresentaram atividade contra a pelo menos um dos microrganismos testados. Em relação ao grupo de microrganismos testadas nesse trabalho, observamos que as bactérias Gram negativas tiveram uma melhor atividade quando comparadas com as Gram positivas. Essa maior atividade apresentada pelas bactérias Gram negativas, provavelmente seja devido à natureza de sua parede, que possui uma membrana externa lipídica além de uma fina camada de peptidoglicano 10% (principal constituinte da parede) e lipopolissacarídeos, fazendo com que as substâncias atravessem a barreira lipídica mais eficazmente, enquanto nas Gram positivas o peptidoglicano corresponde a 90% da estrutura de parede.

Na figura 1, observamos o Ensaio em meio sólido, bloco gelose, mostrando a atividade do *Bacillus* sp (nº 1 e 2); BGN do solo (nº 3 e 4) e da *Pseudomonas* sp (nº 5 e 6) sobre as bactérias, *Escherichia coli* 135, *Klebsiella pneumoniae* e *Citrobacter diversus*. A figura 2, nos mostra a coloração de Gram, que classifica os microrganismos segundo a forma, arranjo e cor em bacilo Gram-positivo e bacilo Gram-negativo. Enquanto que na figura 3, observamos a bacterioteca dos microrganismos isolados do solo e da raiz do mandacaru analisados nesse trabalho.

Na Tabela 1 – Efeito inibidor dos microrganismos isolados da raiz e do solo rizosférico do mandacaru, sobre as bactérias testes.

Bactérias teste	Microrganismos isolada do Mandacaru Halo de inibição		
	<i>Bacillus sp</i>	BGN extraído do solo	<i>Pseudomonas</i> do solo
<i>Escherichia coli</i> 135 - LABMED	12mm	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> – LABMED	13mm	12mm	12mm
<i>Citrobacter diversus</i> – LABMED	18mm	-	12mm
<i>Enterococcus sp</i> – LABMED	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	15mm	13mm
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	-

ATCC = American Type Culture Collection, USA; LABMED = Laboratório de Bacteriologia Médica; BGN= Bacilo Gram Negativo. (-) = indica sem atividade.

Figura 1. Ensaio em meio sólido, bloco gelose mostrando a atividade do *Bacillus sp* (nº 1 e 2); BGN – solo (nº 3 e 4); *Pseudomonas sp* (nº 5 e 6) sobre as bactérias; *Escherichia coli* 135, *Klebsiella pneumoniae* e *Citrobacter diversus* (Foto: Fernandes, MJBC. & Braga, RSS., 2017).

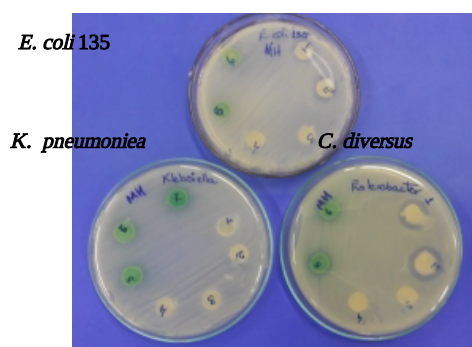


Figura 2. Coloração de Gram dos microrganismos testes: (1) bacilo Gram-positivo; (2) bacilo Gram-negativo. (Foto: Fernandes, MJBC. & Braga, RSS., 2017)

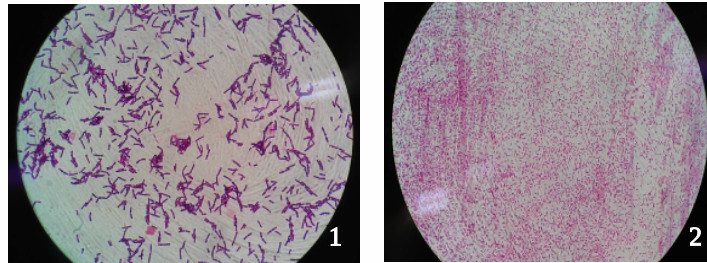
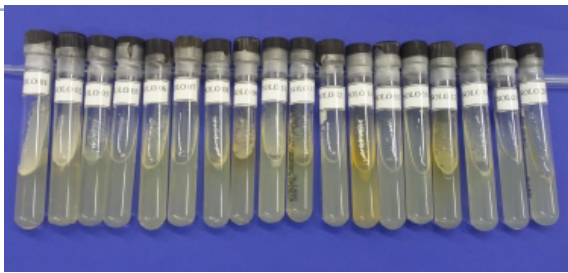
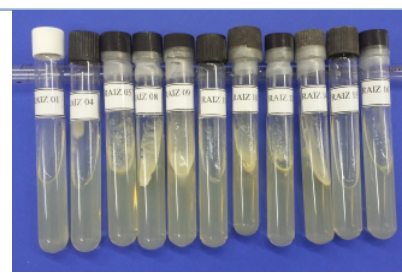


Figura 3. Bacterioteca dos microrganismos do solo rizosférico (a) e da raiz (b) isolados do mandacaru utilizados nesse trabalho. (Foto: Fernandes, MJBC. & Braga, RSS., 2017)



a) Solo rizosférico



b) Raiz

Conclusão

Este trabalho evidência a importância de estudos da microbiota do solo rizosférico e da raiz do mandacaru da catinga e mostra a necessidade da continuidade com mais experimentos para a caracterização das bactérias isoladas, assim como dos produtos do seu metabolismo secundário. Em relação ao tamanho dos halos de inibição podemos inferir o potencial biotecnológico das amostras isoladas.

Referências

ALBURQUERQUE, S. G. **Caatinga vegetation dynamics under various grazing intensities by strees in the Semi-Arid Northeast, Brazil.** Journal of Range Management, Denver, v. 48, n.3, p.502, 1999.

AZUMA, M. V. P. **Actinobactérias com potencial biotecnológico isoladas da região entre -marés da ilha do mel.** Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

CAVALCANTE, N. B.; RESENDE, G. M. **Efeito de diferentes substratos no desenvolvimento de**

Mandacaru (Cereus jamacaru P. DC.), Facheiro (Pilosocereus pachycladus RITTER), Xiquexique (Pilosocereus gounellei (A. WEBWR EX K. SCHUM.) BLY. EX ROWL.) e Coroa-de-frade (Melocactus bahiensis BRITTON & ROSE). Revista Caatinga, vol. 20, núm. 1, enero-marzo, pp. 28-35, 2007.

FERNANDES, M. J. B. C. Efeito antibiótico de linhagens selvagens de *Actinomycetos* isolados do solo do Rio Grande do Norte - Brasil. Natal: UFRN, 2001. 90p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Biociências.

FREITAS, S.S; PIZZINATTO, M.A. Ação de rizobactérias sobre a incidência de *Colletotricum gossypii* e promoção de crescimento de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*). Summa Phytopathologica., v. 23, p.36-41, 1997.

ICHIKAWA, T.; ISHIKURA, T.; OZAKI, A. Improvement of Kasugamycin-producing strain by the agar piece method and the phototroph method. Folia Microbiológica, 16: 1262-1265, 1971.

KING, E.O.; WARD, M.K. e RANEY, D.E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. Journal of Laboratory and Clinical Medicine, St. Louis, v. 44, n. 2, p. 301-307, 1954.

LIMA, J. L. S. Plantas forrageiras das caatingas – usos e potencialidades. Petrolina – PE: Embrapa-CPATSA/PNE/RBG-KEW. 1996. 44p. il.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J.L. Microbiologia ambiental. 2. ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008. 647 p.

SILVA, J. G. M.; SILVA, D. S.; FERREIRA, M. A.; LIMA, G. F. C.; MELO, A. A. S.; DINIZ, M. C. N. M. Xiquexique (*Pilosocereus gounellei* (A. Weber ex K. Schum.) Bly. Ex Rowl.) em substituição à silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) na alimentação de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia, v.34, n.4, p.1408-1417, 2005.**

STANIER, R.Y. Grupos importantes de eubactérias unicelulares. In: Mundo dos Micróbios. Cap.18, 1969.