

DIVERSIDADE CULTURAL DE RIZÓBIOS ORIUNDOS DO PARQUE NACIONAL DE UBAJARA COMO FERRAMENTA DIDÁTICA NO ENSINO DE MICROBIOLOGIA

Clara Yohana Maia (1); Daniel Fontinele Albuquerque (2); Jessica Silva Lopes (3); Niédila Nascimento Alves (4); Claudia Miranda Martins (5)

(1) Estudante do Curso de Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, cmaia1892@gmail.com. (2) Estudante do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, danielfontinelea201555@gmail.com. (3) Estudante do Curso de Engenharia Química da Universidade Federal do Ceará, jessyk090@gmail.com. (4) Técnica Doutora em Microbiologia da Universidade Federal do Ceará, niedila@gmail.com. (5) Professora Doutora do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, claudia.miranda.martins@gmail.com.

Introdução

Rhizobium é um gênero de alfa-Proteobactérias, Gram-negativos (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006), presentes no solo que fixam nitrogênio e apresentam ampla variabilidade quanto à eficiência simbiótica (SOARES et al., 2006). Esses microrganismos apresentam características culturais peculiares como a capacidade de alterar o pH do meio e a produção de muco (COSTA JÚNIOR et al., 2009), que fornecem informações importantes para sua identificação e agrupamento. Segundo Moreira e Siqueira (2006), muitos gêneros de rizóbios podem ser diferenciados com base em características culturais e morfológicas em meio YMA (extrato de levedura, manitol, sais e ágar). As características culturais têm um papel importante na sistemática microbiana, sendo um dos primeiros passos para a identificação taxonômica de um microrganismo (MARTINS et al., 1997).

Tendo em vista a importância das características culturais para identificação e o estudo dos microrganismos, além da diversidade de caracteres morfológicos que os rizóbios apresentam, este trabalho teve por objetivo a inserção de quatro cepas de rizóbios oriundas do norte do Estado do Ceará, nas aulas prática de características culturais nas disciplinas de Microbiologia da Universidade Federal do Ceará (UFC).

Ao introduzir essas cepas à bacterioteca do Laboratório Didático de Microbiologia (LADMI), alunos de quatro diferentes cursos (Agronomia, Biotecnologia, Engenharia de Alimentos e Engenharia Química) poderão ampliar seu conhecimento prático em microbiologia e observar características antes vistas apenas na teoria. Outro fator é a inserção de um gênero novo, obtido em condições exclusivas no interior do estado, valorizando a riqueza e biodiversidade local, que por

apresentar tal riqueza no quesito morfológico, incrementa a bacterioteca, tornando a experiência prática em microbiologia mais completa e didática.

Metodologia

A coleta e isolamento das cepas do gênero *Rhizobium* foi realizada pelo Laboratório de Microbiologia Ambiental (LAMAB), e aquelas consideradas visualmente interessantes, R1, R2, R3 e R4, foram cedidas ao LADMI. As cepas são nativas do solo do Parque Nacional de Ubajara (PNU), uma unidade de conservação localizada no planalto da Ibiapaba, ao norte do Estado do Ceará, limitando-se com o Estado do Piauí (CUNHA e ARAÚJO, 2014). Tais cepas foram repicadas em duplicata em meio YMA, pH 6,8, contendo o indicador de pH azul de bromotimol (VINCENT, 1970). Após esse procedimento, as placas foram incubadas a 28°C por duas semanas. Foram avaliados os seguintes parâmetros: tamanho da colônia, forma, elevação, bordos, alteração do pH do meio, produção de muco, tempo de crescimento e cor da colônia.

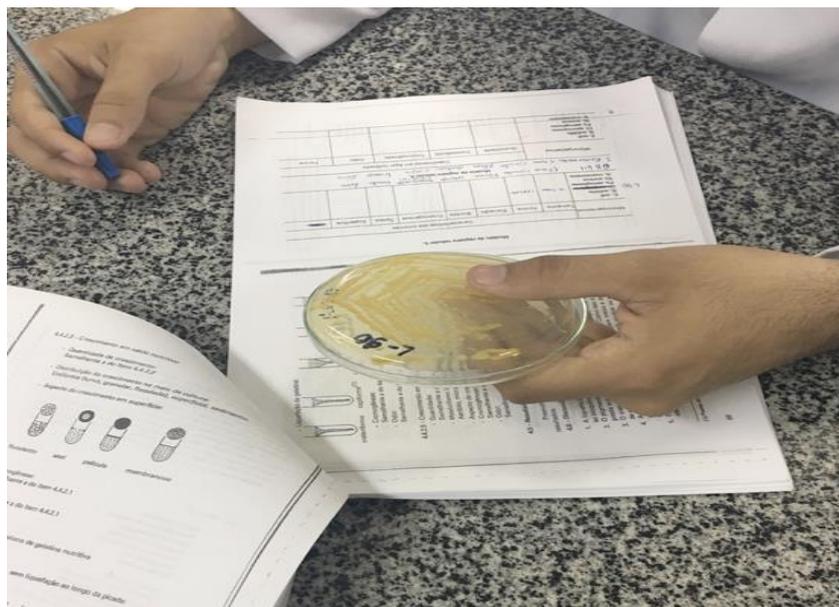


Figura 1 – Alunos observando a cepa R2, através da metodologia de Soares et al. (1991).

As cepas foram repicadas para uso em sala de aula, e juntamente com as outras culturas utilizadas na prática (fungos filamentosos, leveduras, enterobactérias e actinobactérias), foram dispostas em todas as bancadas para visualização. Os alunos realizaram a caracterização das cepas da bancada utilizando o livro *Microbiologia Básica* (SOARES et al., 1991) como referencial (FIGURA 1). Durante a prática foi passado um questionário, para se avaliar a relevância do uso dos rizóbios

na prática de características culturais para os alunos. Nesse questionário foram feitas perguntas sobre a existência de conhecimento prévio sobre o rizóbios, quais características apresentadas são consideradas relevantes e quais aquelas presentes nos rizóbios que os diferenciava das demais bactérias. Questionou-se ainda a relevância para os discentes do fato das cepas serem oriundas do semiárido e qual, entre todas as culturas utilizadas na aula, despertou o maior interesse e por quê.

Resultados e discussão

As cepas de rizóbios estudadas apresentam características culturais marcantes e diferentes das bactérias presentes na bacterioteca do LADMI no que diz respeito a tamanho e formato da colônia, mudança na coloração do meio e a produção de muco em diferentes níveis. A alteração do pH do meio de cultura pode ser usada para dividir os isolados em três classes: os que apresentam reação ácida, reação básica ou reação neutra em meio de cultura (MELLONI et al., 2006).

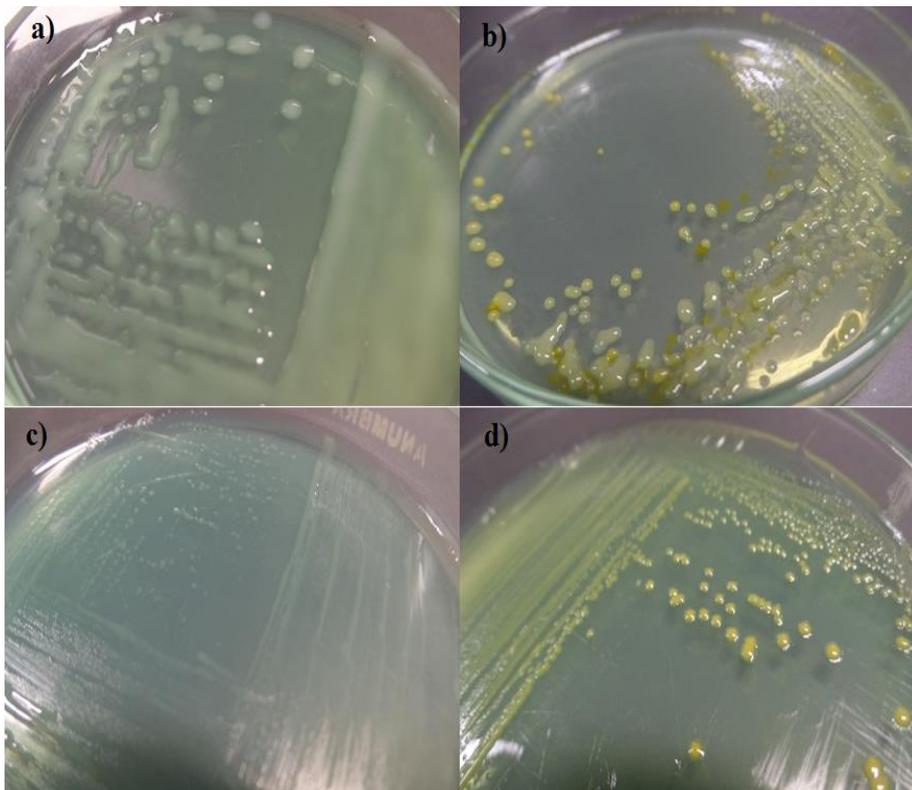


Figura 2 – Características das colônias: a) R1; b) R2; c) R3; d)R4.

Rizóbios de crescimento lento tendem a produzir metabólitos que alcalinizam o meio contendo o indicador azul de bromotimol, modificando a cor para azul, enquanto os rizóbios de crescimento rápido tendem a produzir metabólitos que acidificam o meio, alterando a cor para amarelo. Já quando a reação é neutra, o meio permanece com a coloração verde inicial (MARTINS et al., 1997).

Das quatro cepas avaliadas, duas acidificaram o meio, R2 e R4. Já R1 não alterou a coloração do meio. Já R3, alcalinizou levemente o meio, em harmonia com as informações dispostas na literatura. Acerca da coloração das colônias e do muco, R1 apresentou colônias brancas com produção de muito muco; R2 apresentou colônias alaranjadas com muito muco também; R3 apresentou-se translúcida com pouco muco e R4 com colônias amarelas com muito muco (TABELA 1). Como é possível observar na Figura 2.

Tabela 1: Caracterização cultural das cepas de rizóbios.

Cepa	Tamanho (mm)	Forma	Alteração do Meio de Cultura	Elevação	Coloração	Prod. de Muco	Detalhes Ópticos
R1	5	Irregular	Neutro	Convexa	Branca	Muito	Opaco
R2	3	Irregular	Ácido	Pulviniforme	Alaranjada	Muito	Opaco
R3	> 1	Irregular	Alcalino	Plana	Branca	Pouco	Translúcido
R4	1,5	Rizoide	Ácido	Convexa	Amarela	Muito	Opaco

Durante a aula prática de características culturais foi explicado para os alunos a relevância e que novas características o uso de cepas de rizóbios adicionavam à prática. Em seguida, aplicou-se o questionário de acompanhamento aplicado, com resultados mostrados nos gráficos.

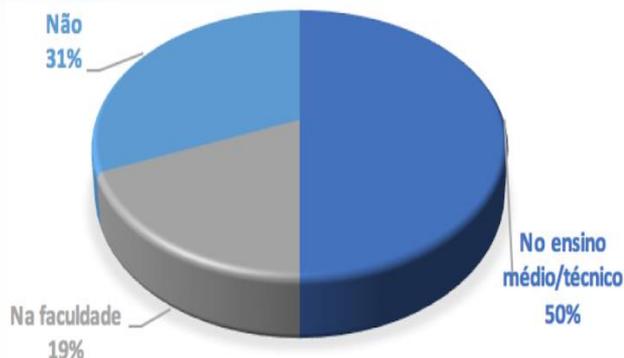


Gráfico 1 – Percentual de discentes que em algum momento tiveram contato com o assunto rizóbios e onde.

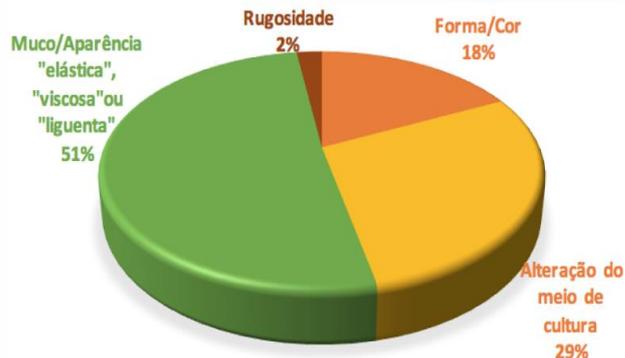


Gráfico 2 – Percentual de característica morfológica dos rizóbios mais marcantes para os discentes.

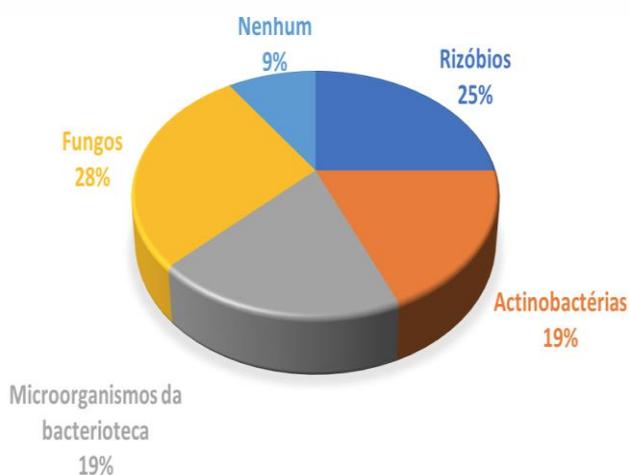


Gráfico 3 – Percentual de microrganismos que exibem características culturais mais interessantes para os discentes.



Gráfico 4 – Percentual em relação à opinião dos discentes sobre as cepas serem oriundas do semiárido.

Os resultados obtidos através da aplicação do questionário mostram que os rizóbios tiveram um impacto positivo e apresentaram características diferenciais em se tratando de características culturais, tais atributos atraíram o interesse de uma parcela significativa dos alunos (Figura 2), que puderam fixar melhor parte do conteúdo através da prática.

Conclusões

Pode-se concluir que a inserção das cepas de rizóbios nas aulas práticas de características culturais amplia o conhecimento prático através de seus dos caracteres morfológicos marcantes, além de mostrar ser um ilustrativo da diversidade do semiárido nordestino.

Referências

- COSTA JÚNIOR, R. C.; SILVA, L. D. A.; OLIVEIRA, A. V.; SOUSA, C. A.; COUTINHO, A. E.; COSTA, A. L.; JUNIOR, M. A. L. Isolamento e caracterização morfológica de bactérias em nódulos de leguminosas forrageiras. I Jornada De Ensino, Pesquisa E Extensão Da UFRPE, p9, 2009.
- CUNHA, B. B.; ARAÚJO, R. C. P. Avaliação das pressões e ameaças ambientais sobre o Parque Nacional de Ubajara-Ceará: Uma perspectiva da Efetividade de Gestão. REDE - Revista Eletrônica do Prodepa, p8: 2014.
- MARTINS, L. M. V. et al. Características relativas ao crescimento em meio de cultura e a morfologia de colônias de “Rizóbio”. Comunicado Técnico: EMBRAPA, n. 19, 1997.
- MELLONI, R. et al. O. Eficiência e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas que nodulam caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em solos de mineração de bauxita em reabilitação. Revista Brasileira de Ciência do Solo, n. 30, p. 235-246, 2006.
- MOREIRA, F. M. S; SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e bioquímica do solo. 2. ed. atual. e ampl. Lavras, MG: UFLA, Universidade Federal de Lavras, 2006.
- SOARES, A.L.L.; PEREIRA, J.P.A.R.; FERREIRA, P.A.A.; DO VALE, H.M.M.; LIMA, A.S.; ANDRADE, M.J.B.; MOREIRA, F.M.S. Eficiência agronômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões (MG). I – Caupi (1). Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.30, n.5, p.795-802, 2006.
- SOARES, J. B.; CASIMIRO, R.; ALBUQUERQUE, L. M. B. de. Microbiologia básica. 2. ed. rev. e ampl. Fortaleza: Edições UFC, 1991.
- VINCENT, J. M. A manual for the practical study of root-nodule bacteria. Oxford: Blackwell, 1970.