

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS ISOLADAS DA RAIZ DO *Cereus jamacaru*

Thereza Marinho Lopes de Oliveira (1); Rodolpho Stephan Santos Braga (2); Luanda Bárbara Ferreira Canário de Souza (3); Maria José de Britto Costa Fernandes (4);

(1)Universidade Federal do Rio Grande do Norte. thereza_marinhof@hotmail.com

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

(3)Universidade Federal do Rio Grande do Norte. luanda_canario@hotmail.com

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

Introdução

As cactáceas apresentam alta eficiência no uso da água por possuírem um metabolismo específico (metabolismo ácido das crassuláceas), essa característica possibilita a alta adaptabilidade dessas plantas ao Semiárido brasileiro. Diante disso, exercem extrema importância na vida da população rural nessas regiões (SANTOS *et al.*, 2013).

O *Cereus jamacaru*, popularmente conhecido como mandacaru, é uma espécie muito utilizada pelas comunidades destes ambientes, sendo usado na alimentação humana através do fruto, na forragem animal, em práticas mágicas religiosas, na ornamentação, na construção por meio da confecção de cercas-vivas, para fins medicinais e também como um bioindicador de chuva (ANDRADE; MARQUES; ZAPPI, 2006; LUCENA *et al.*, 2012).

Estudos indicam que o mandacaru e outras cactáceas podem estabelecer associações benéficas com bactérias endofíticas, que são microrganismos que vivem no interior dos órgãos e tecidos vegetais das plantas, tais como as folhas, ramos e raízes. Além de promover o crescimento da planta hospedeira, pesquisas mostram que os endófitos desempenham funções de elevada magnitude no controle biológico de doença e pragas, assim como, podem produzir metabólitos secundários e antibióticos de interesse farmacêutico e industrial (ARAÚJO *et al.*, 2002; PEIXOTO NETO; AZEVEDO; ARAÚJO, 2002). Segundo Costa e Melo (2005), trabalhos experimentais demonstram a recuperação de áreas degradadas por meio do uso de cactáceas associadas à essas bactérias promotoras de crescimento. Indubitavelmente, torna-se imprescindível a necessidade de conhecer esses organismos quanto às suas características morfológicas, fisiológicas e genéticas.

Contudo, atualmente, existem poucos estudos sobre os endofíticos presentes nas cactáceas, principalmente voltados para a cultura do mandacaru. Diante do exposto, objetivou-se caracterizar morfológicamente os microrganismos endofíticos isolados encontrados na raiz do *Cereus jamacaru*.

Metodologia

As amostras de raízes do *Cereus jamacaru* foram coletadas de um único indivíduo localizado no campus central da Universidade Federal do Rio Grande do Norte e acondicionadas em sacos plásticos, em seguida foram transportadas ao Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia (LABMED) – UFRN e armazenadas em freezer (4°C) por 48h. A metodologia deste trabalho foi baseada e adaptada dos trabalhos de Cadete *et al.* (2011), Moreira *et al.* (2013) e Silva *et al.* (2015).

Após a lavagem em água corrente, iniciou-se o processo de desinfecção superficial, 10g de amostras de raízes foram cortadas em pedaços com cerca de 8 a 12 cm e desinfetadas com álcool 70% por um minuto, hipoclorito de sódio (2%) por 4 minutos e duas lavagens consecutivas em água destilada autoclavada.

Depois desse procedimento, as amostras foram submetidas a maceração em gral, posteriormente, realizou-se diluições sucessivas das amostras maceradas em solução salina diluída a 10^{-1} (10g de raiz fresca para 90 mL de solução salina) até 10^{-2} , com posterior homogeneização em vortez. A inoculação de 1,0 mL destas suspensões foi realizada em meio de cultura sólido AN (Ágar-nutriente) e em triplicada das duas diluições. As culturas foram mantidas sob incubação por sete dias a temperatura de 29°C e 36°C. No sétimo dia, as colônias foram reisoladas, por meio da técnica do esgotamento em dois meios de cultura sólido AN e TSA (Tryptone Soya Agar) com incubação por 72h a temperatura de 29°C e 36°C, objetivando, assim, a obtenção de colônias puras para realização da coloração de Gram e estocagem das cepas para posterior identificação.

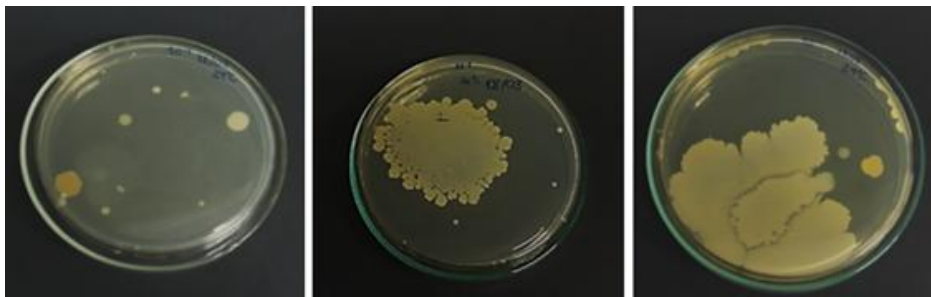
Resultados e discussão

Isolou-se dezesseis microrganismos procedente do interior das raízes do *Cereus jamacaru*, sendo quatorze com a diluição 10^{-1} e na temperatura de 29°C e duas na mesma diluição, porém na temperatura de 36°C, com a diluição 10^{-2} não houve crescimento em nenhuma das duas temperaturas. A quantidade de endofíticos isolados corrobora com os resultados encontrados no

trabalho de Lima (2013). Entretanto, para um resultado mais significativo é imprescindível o uso de diferentes condições de substratos e cultivo, pois de acordo com Araújo *et al.* (2002) o meio de cultura e as condições influenciam diretamente no crescimento dos microrganismos, assim como na diversidade microbiológica encontrada.

As bactérias isoladas expressaram tamanhos variáveis e diversas pigmentações como bege, laranja, amarela, rosa e branca. Quanto ao aspecto morfológico, observou-se colônias leitosas, com bordas regulares e irregulares, em relação ao brilho notou-se colônias transparente, translúcida e opaca, como é possível observar na figura 1. No entanto, Cadete *et al.* (2011) afirma que a morfologia das colônias bacterianas pode sofrer alterações de acordo com o meio no qual foram isoladas, pois o fenótipo resulta da relação do genótipo com o meio.

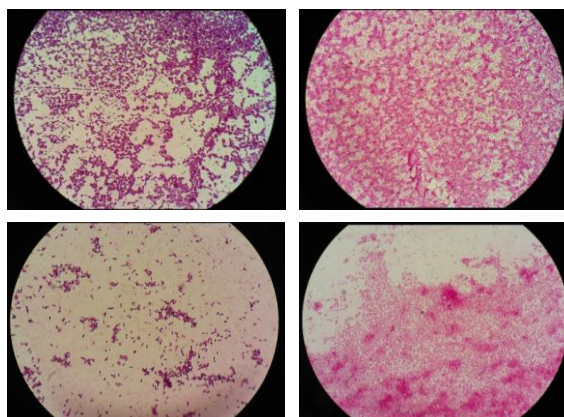
Figura 1. Isolamento de bactérias das raízes do *Cereus jamaçaru*, no meio de cultura AN.



Fonte: Oliveira *et al.*, 2017

Através da análise por meio da observação com microscópio óptico e objetiva de 100x, foi possível constatar que as bactérias submetidas à coloração de Gram tinham as seguintes morfologias: cocos Gram positivos, cocos bacilo Gram negativos; bacilos Gram positivos e Gram negativos, como é possível verificar na figura 2 por meio de imagens representativas das amostras.

Figura 2. Morfologia bacteriana após coloração de Gram. (1) cocos Gram positivos (2) cocos bacilos Gram negativos, (3) bacilos Gram positivos, (4) bacilos Gram negativos.



Fonte: Oliveira *et al*, 2017

Conclusão

Conclui-se que as bactérias endofíticas colonizadoras das raízes do *Cereus jamacaru*, apresentam significativa diversidade microbiológica. Portanto, torna-se indispensável a continuação do estudo de forma mais aprofundada para a identificação das espécies, por meio de provas bioquímicas e/ou do sequenciamento genético. Ademais, é imprescindível a busca desses microrganismos em meios de cultura com substratos e temperaturas diferentes objetivando, assim, resultados mais representativos.

Referências

ANDRADE, C. T. S.; MARQUES, J.G.W; ZAPPI, D.C. **Utilização medicinal de cactáceas por sertanejos baianos**. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu, v. 8, n. 3, p. 36-42, 2006. Disponível em: <http://www.sbpmed.org.br/download/issn_06_2/artigo6_v8_n3.pdf>. Acesso em: 04 de ago. 2017.

ARAÚJO, W. L.; LIMA, A. O. S.; AZEVEDO, J. L.; MARCON, J.; KUKLINSKY SOBRAL, J.; LACAVALA, P. T. **Manual: Isolamento de microrganismos endofíticos**. Piracicaba: CALQ, 2002.

COSTA, F. E. C; MELO, I. S. **Isolamento de bactérias associadas à palma e prospecção do potencial de solubilizar fosfato e fixar nitrogênio**. Agrotrópica, Itabuna, v.17, p. 23-26, 2005. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/125213/1/2005AP-048.pdf>>. Acesso em: 17 de set. 2017.

LIMA, J. V. **Ocorrência de bactérias diazotróficas em cactáceas nativas do semiárido e seus efeitos no crescimento de mudas de mandacaru**. 2013. 30 f. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Biologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2013.

LUCENA, C. M.; COSTA, G. G.; SOUSA R. F.; CARVALHO, T. K. N.; MARREIROS, N. A.; ALVES, C. A. B.; PEREIRA, D. D; LUCENA, R. F. P. **Conhecimento local sobre cactáceas em comunidades rurais na mesorregião do sertão da Paraíba (Nordeste, Brasil)**. Biotemas, Florianópolis, v. 25, n. 3, p. 281-291, 2012. Disponível em: <<https://periodicos.ufsc.br/index.php/biotemas/article/view/2175-7925.2012v25n3p281/22823>>. Acesso em: 06 de ago. 2017.

MOREIRA, F. T. A.; SANTOS, D. R.; SILVA, G. H.; ALENCAR L. S. **Ocorrência de bactérias do gênero *Azospirillum* spp. Associadas a gramíneas forrageiras no semiárido nordestino**.

Holos, Natal, v. 3, p. 205-212, 2013. Disponível em: <<http://www2.ifrn.edu.br/ojs/index.php/HOLOS/article/view/1043>>. Acesso em: 05 de out. 2017.

PEIXOTO NETO, P. A. S.; AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. **Microorganismos endofíticos: Interação com plantas e potencial biotecnológico.** Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, Brasília, ano 5, n. 29, p. 62-76, 2002.

SANTOS, D. C.; SILVA, M. C.; DUBEUX JÚNIOR, J. C. B.; LIRA M. A.; SILVA R. M. **Estratégias para o uso de cactáceas em zonas semiáridas: Novas cultivares e uso sustentável das espécies nativas.** Revista Científica de Produção Animal, PiauÍ, v. 15, n. 2, p. 111-121, 2013. Disponível em:<<http://www.revistas.ufpi.br/index.php/rcpa/article/viewFile/2166/1502>>. Acesso em: 04 de ago. 2017.

SILVA, M. L. R. B.; FIGUEIRÔA, C. S.; MERGULHÃO A. C. E. S.; LYRA M. C. C. P. **Identificação de bactérias diazotróficas isoladas em cultivares de palma (Opuntia e Nopalea) usando o gene recA.** Bioscience jornal, Uberlandia, v. 14, n. 3, p. 577-583, 2015. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/18244>>. Acesso em: 05 de out. 2017.