

Identificação de bactérias na rizosfera de *Remirea maritima* ⁽¹⁾.

Janaína Silvano Marinho Teixeira ⁽²⁾; **Marianne da Silva Nunes** ⁽³⁾; **Maryellen de Castro Soares dos Reis** ⁽⁴⁾; **Ocimar Ferreira de Andrade** ⁽⁵⁾; **Victor Barbosa Saraiva** ⁽⁶⁾.

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos de CNPQ.

⁽²⁾ Aluna de Iniciação Científica; Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense; Cabo Frio, Rio de Janeiro; janainasmt@yahoo.com.br; ⁽³⁾ Aluna de Iniciação Científica; Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense; ⁽⁴⁾ Mestranda; Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense; ⁽⁵⁾ Professor Mestre Colaborador; Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense; ⁽⁶⁾ Professor Doutor; Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense.

RESUMO: A degradação de ecossistemas de restinga ocorre de forma acelerada devido à atividade antrópica. Esses ambientes são destruídos pelo avanço das áreas urbanas e também por agentes poluidores que podem vir do mar, como os hidrocarbonetos do petróleo. Nesse contexto nosso trabalho tem como objetivo estudar a ecologia de micro-organismos associados à formação vegetal psamófila-reptante que desempenham importante papel na manutenção das restingas destacando a preservação dos solos desses ecossistemas. Na restinga de Massambaba, Arraial do Cabo, RJ através da coleta de rizosfera da *Remirea maritima*, para a obtenção das bactérias, as amostras foram agitadas em vortex, obtendo-se inóculos da suspensão em solução salina 0,9%, que após serem transferidos para o meio de cultura sólido (LB + Agar 2%) foram incubados durante 24h em BOD a 25°C. Realizou-se a seguir o método de coloração de Gram. A partir da análise das lâminas, constatou-se que a rizosfera da *Remirea maritima* é colonizada por pelo menos quatro tipos de bactérias, sendo três colônias do tipo Gram-positivas e uma do tipo Gram-negativa.

Termos de indexação: Biorremediação, micro-organismos, simbiose bactéria e vegetal.

INTRODUÇÃO

O litoral brasileiro é constituído por um conjunto de formações vegetais situadas em depósitos de areias quartzosas marinhas, de origem quaternária, denominadas de restingas. Em sentido amplo, as restingas correspondem aos ecossistemas adjacentes ao oceano ocorrendo em planícies quaternárias (Araujo & Henriques, 1984). As restingas possuem uma grande gama de variação florística e fisionômica-estrutural, e por isso, têm sido classificadas em muitas tipologias, em diversos trechos do litoral. No estado do Rio de Janeiro, classificou-se as comunidades vegetais: halófila, psamófila reptante, *ticket* baixo de pos-praia, *slack* de dunas móveis, *thicket* de mirtáceas, *scrub* de *Clusia*, *scrub* de palmas, *scrub* de *ericaceae*, brejo herbáceo, floresta periodicamente inundada e floresta seca (Araujo & Henriques, 1984). A

ocorrência destas comunidades é reflexo de diversos fatores ambientais, como topografia local, condições edáficas, microclimas, entrada de nutrientes, distância do oceano, profundidade do lençol freático, competição entre plantas, alelopatia, periodicidade de queimadas e salinidade do solo (Lacerda *et al.*, 1993).

Estes ambientes de restinga estão fragmentados ao longo do litoral e entremeados numa matriz de paisagem urbana, sob diferentes regimes de distúrbio de origem antropogênica, tais como queimadas, extrativismo, invasão de espécies exóticas, poluição por efluentes doméstico-industriais, aterros e depósito de resíduos sólidos, entre outros. A conservação da estrutura e funcionalidade ecossistêmica encontra-se ameaçada, a espera de intervenções pragmáticas e com medidas consideradas a partir dos próprios mecanismos de resistência dos ecossistemas.

Existem grupos de espécies com características diversas importantes que contribuem para a manutenção e recuperação da estabilidade dos sistemas ambientais, entre outras funções. Estes grupos, denominados de funcionais, podem favorecer vários processos, como a sucessão ecológica, regularização da erosão e dos regimes hídricos dos solos, facilitar a captura de nutrientes, amenizar os microclimas, sendo, portanto, indicados aos projetos de biorremediação e de recuperação de áreas degradadas. Neste contexto, cabe destacar, a simbiose de bactérias e plantas vasculares. Esta associação contribui para a maximização na obtenção e ciclagem de nutrientes em ecossistemas tropicais, no crescimento vegetal e no aumento de sua resistência a situações adversas. Em restingas, estas interações podem ser de extrema necessidade, já que em geral, os solos são de textura arenosa, distróficos e com baixa capacidade de troca de cátions (Gomes *et al.*, 2008). Nesse contexto nosso trabalho tem como objetivo estudar a ecologia de micro-organismos associados à formação vegetal psamófila-reptante que desempenham importante papel na manutenção das restingas destacando a preservação dos solos desses ecossistemas.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudos escolhida

A área de estudo escolhida foi a restinga de Massambaba, localizada no Centro de Diversidade Vegetal de Cabo Frio, contemplando os municípios de Saquarema, Araruama e Arraial do Cabo (aproximadamente 22°56'S) possuindo uma área total de 76,3 Km² (Araujo, 2009) (Figura 1). Sua formação se deu entre 5000 a 7000 anos devido a sucessivas transgressões e regressões do mar (Silva *et al.*, 2006). A restinga é constituída por um sistema de dois cordões arenosos que separam o mar da laguna de Araruama (Araujo, 2000), a maior laguna hipersalina do mundo (Souza, 2004). Estes cordões possuem diferentes idades e são separados por uma faixa mais baixa de relevo, onde há a ocorrência de um sistema de lagunas. (Muehe, 1994; Araujo, 2000).

As restingas fluminenses apresentam um total de trinta e seis espécies vegetais endêmicas, onde vinte e seis destas são encontradas no Centro de Diversidade Vegetal de Cabo Frio, que influenciado pelo clima seco, pela extensa variedade de habitats e pela história geomorfológica, faz deste o mais rico em diversidade de espécies (Araujo *et al.*, 2009; Araujo, 1997).

Obtenção do material biológico em campo

Foram coletadas em triplicata amostras de raízes de *Remirea maritima* em uma profundidade de aproximadamente 20 cm utilizando ferramentas e frascos estéreis para acondicionamento. Com o auxílio de um termômetro, em campo verificou-se que a temperatura do solo era de 25°C.

Obtenção e manutenção das bactérias da rizosfera

Para obtenção das bactérias da rizosfera, no Laboratório de Ecotoxicologia e Microbiologia Ambiental (Lemam) as amostras de raízes foram acondicionadas em tubos Falcon estéreis de 15 ml em meio líquido salino 0,9% e agitadas em Vortex por 10 minutos com o objetivo de se obter as bactérias fortemente aderidas à raiz. Com o auxílio de uma alça de kole os inóculos foram transferidos para placas de Petri contendo meios de cultura sólidos (LB + Ágar 2%, pH 7,5) devidamente identificados e incubados por 24 horas a uma temperatura de 25°C. Para manutenção das colônias foi realizado o mesmo procedimento em placas de Petri. Toda manipulação do material biológico foi realizada em cabine de segurança biológica Classe II A 1 da Filterflux, a fim de eliminar interferências do ambiente e garantir a veracidade dos resultados.

Coloração de Gram

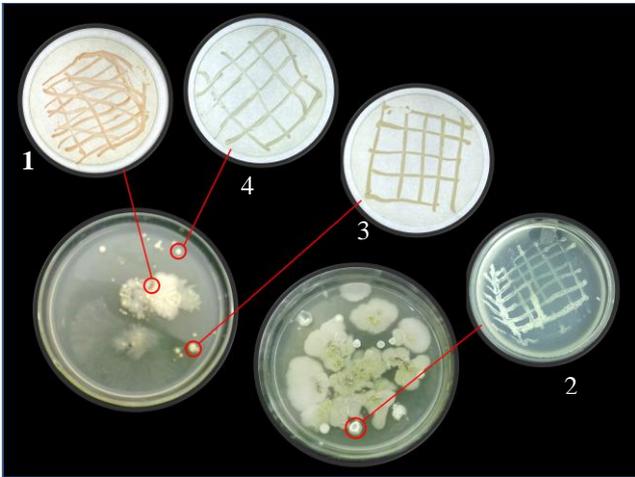
Foram feitas lâminas das bactérias da rizosfera a partir do primeiro crescimento em meio sólido, em seguida, estas foram submetidas ao teste de coloração de Gram. Para o teste de Gram, foram realizados os seguintes procedimentos: para cada lâmina, foi feito um esfregaço com o material a ser analisado e a fim de fixar as células na lâmina, esta foi passada sobre chama de três a quatro vezes. Após fixação das células, a lâmina foi coberta por solução de Cristal Violeta por um minuto e, após eliminação do excesso da solução, a lâmina foi coberta por solução de Lugol para Gram por um minuto. Em seguida, a lâmina foi descorada com solução de Álcool-Acetona e lavada em água corrente. Para finalizar, a lâmina descorada foi coberta por Fucsina Fenicada de Gram por trinta segundos e lavada em água corrente. A observação das lâminas foi realizada com auxílio de um microscópio óptico na objetiva de imersão, levando em consideração a coloração e morfologia das células.

A observação das lâminas foi realizada com auxílio de um microscópio óptico na objetiva de imersão, levando em consideração a coloração e morfologia das células. Todas as lâminas coradas foram fotografadas no Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira de Arraial do Cabo com o auxílio de um microscópio óptico Olympus BX51 com uma câmera fotográfica Olympus DP72 acoplada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Bactérias da rizosfera da *Remirea maritima* obtiveram um bom crescimento no período de 24 horas a uma temperatura de 25°C, a mesma constatada no solo no ato da coleta das raízes. A partir da análise das lâminas que passaram pelo processo de coloração de Gram, foi constatado que a rizosfera do vegetal é colonizada por pelo menos quatro tipos de bactérias caracterizadas das seguintes formas: colônia 1 - Colônia de cor alaranjada com bactérias Gram-negativas em forma de bastonetes; colônia 2 - Colônia de cor esbranquiçada, apresentando filme viscoso com bactérias Gram-positivas em forma de bastonetes; colônia 3 - Colônia de cor amarelada escura, bactérias Gram-positivas em forma de bastonetes; colônia 4 - Colônia de cor amarelada clara, bactérias Gram-positivas em forma de bastonetes (Figura 2 e 3).

Figura 2 – Placas de Petri com as colônias bacterianas encontradas na rizosfera de *Remirea maritima*.



Fonte: LEMAM (Laboratório de Ecotoxicologia e Microbiologia Ambiental, IFF Cabo Frio, 2013).

Figura 3 – Lâminas feitas a partir das colônias bacterianas da rizosfera de *Remirea maritima* cultivadas em placas de Petri.

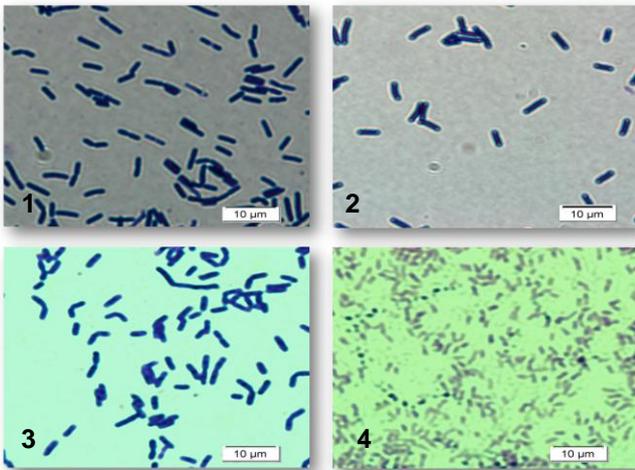


Foto: Victor saraiva.

CONCLUSÕES

As bactérias da rizosfera possuem um crescimento satisfatório a uma temperatura de 25°C. A rizosfera da *Remirea maritima* é colonizada por pelo menos quatro espécies de bactérias em forma de bastonetes sendo três Gram positivas e uma Gram negativa.

REFERÊNCIAS

ARAUJO, D.S.D. e HENRIQUES R.P.B. *In Restingas: origem, estrutura, processos* (L.D. Lacerda, D.S.D.

Araujo, R. Cerqueira & B. Turcq, orgs.). CEUFF, Niterói, p.159-193. 1984

ARAUJO, D.S.D. Cabo Frio Region, south-eastern Brazil. *In: Davis, S.D.; Heywood, V.H.; Herrera-MacBryde, O.; Villa-Lobos, J. & Hamilton, A.C. (eds.). Centres of plant diversity: a guide and strategy for their conservation: The Americas*, vol. 3. WWF/IUCN, Oxford. p. 373-375, 1997.

ARAUJO, D. S. D.. *Análise florística e fitogeográfica das restingas do Estado do Rio de Janeiro*. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, p.23, 2000.

ARAUJO, D.S.D *et al.* Área de Proteção Ambiental de Massambaba, Rio de Janeiro: caracterização fitofisionômica e florística. *Rodriguésia*. v. 60, n. 1, p. 67-96, 2009.

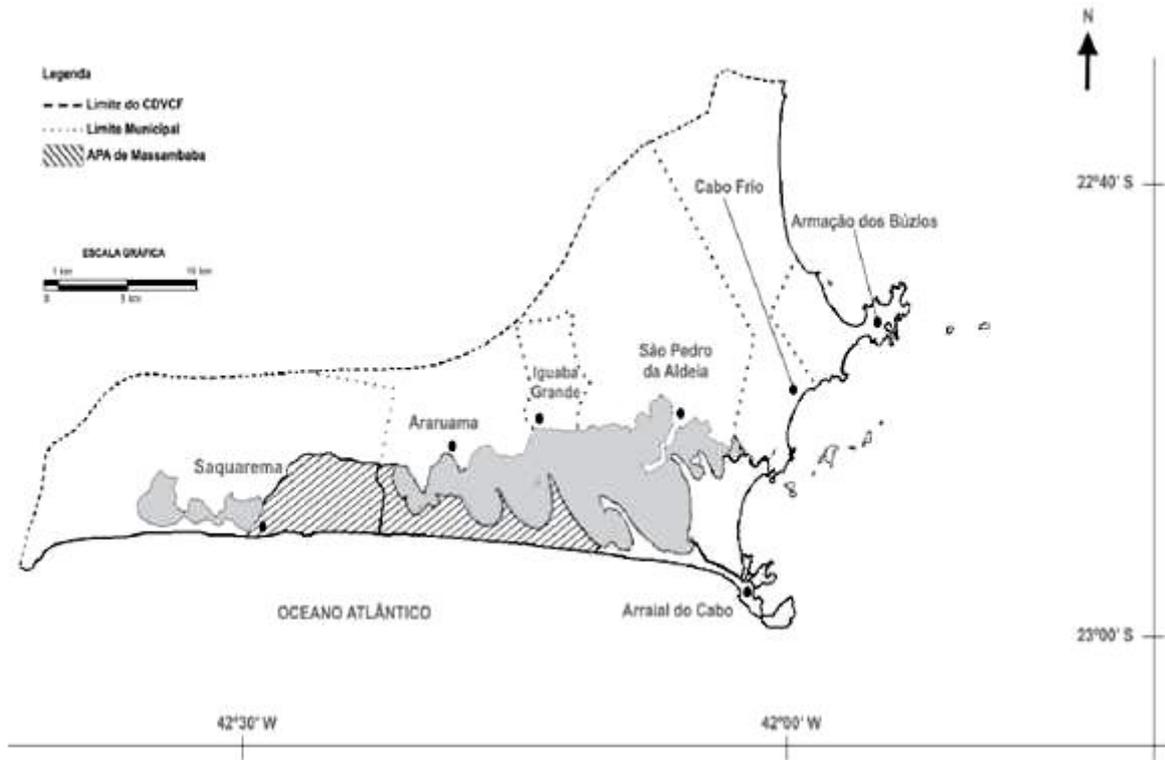
GOMES, J. B. V.; BOLFE, E. L.; CURI, N.; FONTES, H. R.; BARRETO, A. C.; VIANA, R. D. *Variabilidade espacial de atributos de solos em unidades de manejo em área piloto de produção integrada de coco*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 32, n. 6, p. 2471-2482, 2008.

LACERDA, L.D. ARAUJO, D.S.D. & MACIEL, N.C. Dry coastal ecosystems of the tropical Brazilian coast. *In Dry coastal-ecosystems: Africa, Asia, Oceania* (E. Van der Maarel, ed.). Elsevier, Amsterdam, pág.477-493, 1993

MUEHE, D. *Lagoa de Araruama: geomorfologia e sedimentação*. *Cadernos de Geociência IBGE* 10: 53-62. 1994.

SILVA, F. S. *et al.* Produção de detergentes por bactérias e sua aplicação na descontaminação do petróleo. *Rio Oil & Gas Expo and Conference*, Rio de Janeiro, 2006.

SOUZA, D. A. *Possíveis alterações no aporte de sedimentos no manguezal do porto do carro após a dragagem do Canal de Itajuru e enseada das Palmeiras na Laguna de Araruama*. 2004. 51 f. Dissertação, programa de pós-graduação em Gestão Ambiental, Faculdade da Região dos Lagos, Cabo Frio, 2004.



Fonte: Araújo, D. S. D. *et al.*, 2009

Figura 1 – Mapa do Centro de Diversidade Vegetal de Cabo Frio, com localização da restinga de Massambaba, RJ.