

BIODIVERSIDADE DE EPIFITICOS EM FOLHAS DE *AVICENNIA GERMINANS* E TOLERÂNCIA A SALINIDADE

VICTOR O. VENDRAMINI¹; ITAMAR S. MELO²

Nº 0702015

Embrapa Meio Ambiente – Jaguariúna, SP – CP 69, CEP 13.820-000

Resumo

Manguezais são ecossistemas complexos e particulares, possuem alta produtividade e diversidade biológica. No Brasil esse nicho ainda é inexplorado. O presente trabalho visou o levantamento da biodiversidade epifítica cultivável de folhas de *Avicennia germinans* e a tolerância dos isolados à salinidade. Foram obtidos 41 isolados dos quais muitos não puderam ser identificados, provavelmente por se tratarem de novas linhagens e espécies.

Abstract

Mangrove is a complex ecosystem and particular, they possess high productivity and biological diversity. In Brazil this niche still unexplored. The present work aimed at the survey of the cultivable epiphytic biodiversity of leaves of *Avicennia germinans* and the tolerance of the isolated to salinity. Had been gotten 41 isolated of which many could not been identified, probably for being new strains and species

Introdução

O Brasil possui uma das maiores extensões de manguezais do mundo, abrangendo cerca de 25000 km² se estendendo ao longo do litoral desde o Amapá até Santa Catarina (CURRY, 2002). O manguezal, termo utilizado para se referir a plantas e a comunidade associada, é um ecossistema particular, restrito a zonas tropicais e sub-

¹ Orientado: Graduação em Biologia, PUCCAMP, Campinas – SP, victor.vendramini@gmail.com

² Orientador: Pesquisador, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna - SP

tropicais (SPALDING et. al,1997), ocorrendo em estuários, baías, lagunas e áreas protegidas da ação impactante das ondas (HERZ, 1991).

O seu solo é rico em matéria orgânica provenientes da decomposição de vegetais (KATHIRESAN & BINGHAM, 2001). Apesar da abundância de matéria orgânica, é deficiente em nutrientes como fósforo e nitrogênio. Bactérias rizosféricas suprem a necessidade desses nutrientes, transformando-os em formas solúveis que possam ser utilizadas pelas plantas (BASHAN & HOLGUIN, 2002), evidenciando a relação microrganismo – nutriente – planta.

Os manguezais possuem alta diversidade de organismos, incluindo bactérias, fungos, leveduras e algas (KATHIRESAN & BINGHAM, 2001). É um dos sistemas mais produtivos do mundo, transformando constantemente vegetais em fontes de fósforo, nitrogênio e outros nutrientes (KATHIRESAN & BINGHAM, 2001). Oferece abrigo e ambiente propício para reprodução e zonas de alimentação. Apesar de ser Área de Preservação Permanente (Lei 4771 – 15 de Setembro de 1965) têm sofrido as mais diversas ações antrópicas.

Nos manguezais brasileiros são encontrados representantes de três gêneros botânicos, sendo eles *Avicennia* (mangue preto), *Laguncularia* (mangue branco) e *Rhizophora* (mangue vermelho) (GAMERO, 2001 ; CURRY, 2002). As folhas são a estrutura predominante na parte aérea da planta e constituem a maior contribuição para a ciclagem dos nutrientes (KATHIRESAN & BINGHAM, 2001), sendo degradados inicialmente por caranguejos, fungos, e posteriormente, bactérias; estas são predominantes na filosfera podendo chegar a 10^8 cel/g de folha (ANDREWS, 2000). É um ambiente hostil recebendo grandes fluxos de radiação solar e apresentando variações de temperatura e umidade num curto espaço de tempo (O'BRIEN E LINDOW, 1989). Nutricionalmente limitado, depende dos exsudatos foliares como fonte de C (WILSON E LINDOW, 1994; MERCIER E LINDOW, 2000) e a competição por tais fontes é fator determinante na formação da comunidade epifítica (TURKEY, 1970).

Plantas do gênero *Avicennia* possuem glândulas foliares de excreção de sal como adaptação á salinidade do meio (SHAEFFER-NOVELLI, 1995).Esse mecanismo exsuda grandes quantidades de íons Na e Cl (SOBRADO, 2001), criando um ambiente propicio para bactérias halotolerantes. A versatilidade bioquímica e a diversidade de microrganismos representam uma enorme variedade de genes ainda desconhecidos, que poderiam ter aplicações na biorremediação ambiental, empregos industriais e controle biológico.

Dentro desse enfoque, o objetivo desse trabalho estudar a diversidade de bactérias cultiváveis da filosfera de *Avicennia germinans* e avaliar a tolerância à salinidade.

Materiais e Métodos

Foram coletadas folhas maduras e sadias de *Avicennia germinans* do mangue de Cananéia, armazenadas em sacos esterilizados e em baixa temperatura.

Para o isolamento, 3 folhas foram lavadas separadamente com 20 ml de tampão fosfato salina 2% contendo 0.5% de Tween80, e feita uma diluição seriada até o fator de diluição 1:5000. Cada diluição teve uma alíquota de 100µl pipetada em placas contendo TSA 2% NaCl e incubadas por 48 horas.

As culturas puras foram obtidas de placas cujo fator de diluição permitiu o crescimento de colônias isoladas.

Para a extração dos ácidos graxos da membrana celular as bactérias foram cultivadas em meio TSBA-BBL e a identificação se deu por espectrofotômetro gasoso utilizando a biblioteca TSBA5.0.

Resultados e Discussão

Foram obtidos 41 isolados dos quais 24 até o presente momento foram submetidos a identificação pela análise da composição dos ácidos graxos da membrana celular. Apenas 8 isolados foram identificados em nível de espécie; 9 foram identificados em nível de gênero, apresentando 2 linhagens de *Bacillus* desconhecidas; 7 não puderam ser identificados. (Tabela 1).

Para obter a taxonomia real, isolados não identificados, com baixo índice de similaridade e identificados em gênero somente serão enviados para o seqüenciamento.

TABELA 1. Resultados da identificação

Código	Identificação	Código	Identificação
1A – 1	Baixo índice de similaridade	1A – 21C	Baixo índice de similaridade
1A – 2	Microbacterium sp	1A – 22	Paenibacillus lentimorbus
1A – 3	Arthrobacter sp	1A – 26	Bacillus GC group 22 (Desconhecido)
1A – 4	Baixo índice de similaridade	1A – 27	Brevibacterium sp
1A – 5	Acinetobacter radioresistens	1A – 30	Baixo índice de similaridade
1A – 8	Paenibacillus lautus	1A – 36	Brevibacterium sp
1A – 9	Bacillus sphaericus GC subgroup E	1A – 37	Baixo índice de similaridade
1A – 10	Arthrobacter sp	1A – 38	Kurtia sibirica

1A – 12	Staphylococcus sp	1A – 50	Baixo índice de similaridade
1A – 14	Sphingobium yanoikuyae	1A – 51	Baixo índice de similaridade
1A – 15	Kocuria rosea	1A – 54	Baixo índice de similaridade
1A – 20	Arthrobacter sp	1A – 57	Baixo índice de similaridade
1A – 21B	Bacillus GC group 22 (Desconhecido)	1A – 62	Bacillus pumilus GC subgroup B

Para avaliação da tolerância a NaCl os isolados foram inoculados em meio TSA contendo NaCl em concentrações 3,5,7,10,15,20,25,30 e 35% e incubadas por 48 horas. (Figura 1 e 2)

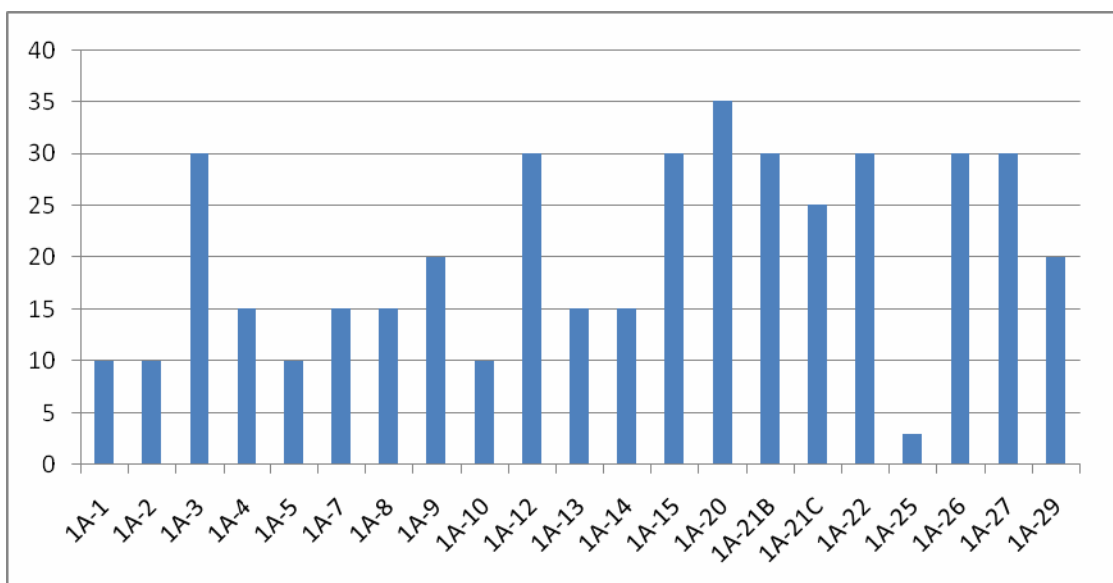


Figura 1. Tolerância à salinidade

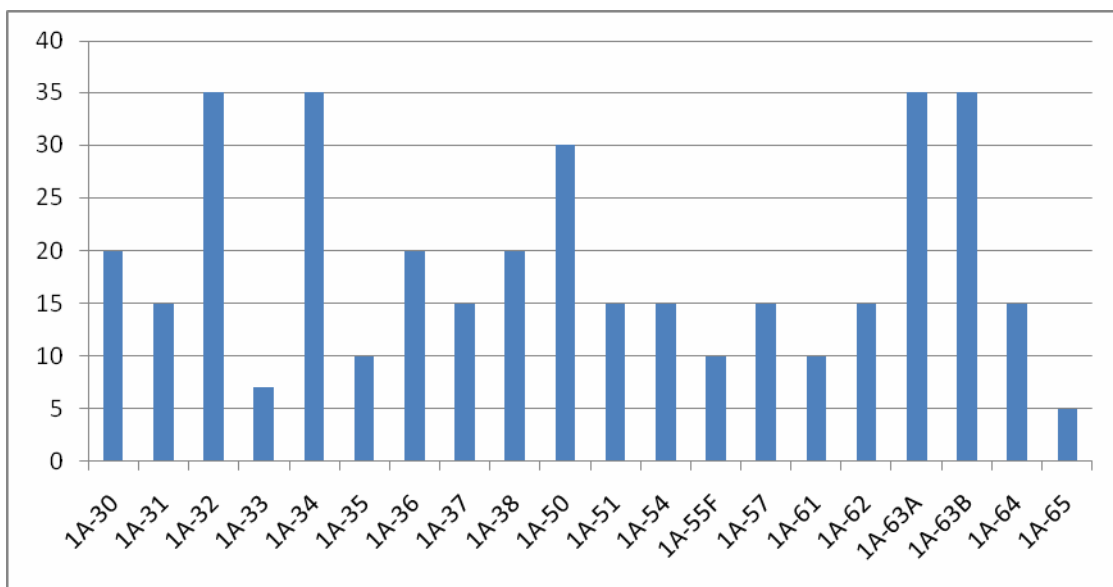


Figura 2. Tolerância à salinidade

Referências bibliográficas

ANDREWS, J.H., HARRIS, R.F. The ecology and biogeography of microorganisms on plant surfaces. **Annual Review of Phytopathology**. v.38, p.145-180. 2000.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. Plant Growth-promoting bacteria: a potential tool for arid mangrove reforestation. **Trees**. v.16. 2002. P. 159-166.

CURY, J.C. **Atividade Microbiana e Diversidade Metabólica e Genética em Solo de Mangue Contaminado com Petróleo**. Dissertação de Mestrado, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2002. Piracicaba – SP, pp. 84.

GAMERO, R.M.P. **Mineralogia, Físico-química e classificação dos solos de mangue do rio Erice no canal de Bertioga (Santos, SP)**. Piracicaba, 2001. 78p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

HERZ, R. Manguezais do Brasil. **Instituto Oceanográfico USP**. CIRM, 1991. São Paulo – SP, 227 p.

KATHIRESAN, K., BINGHAM, B.L. Biology of Mangroves and Mangrove Ecosystems. **Advances in Marine Biology** vol 40: 81-251. 2001.

MERCIER, J. & LINDOW, S.E. Role of leaf surface sugars in colonization of plants by bacterial epiphytes. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, p.369-374, 2000

O'BRIEN, R.D., LINDOW, S. E. Effect of plant species and environmental conditions on epiphytic populations sizes of *Pseudomonas syringae* and other bacteria. **Phytopathology**, p.619-627, 1989

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. Manguezal: Ecossistema entre a Terra e o Mar. São Paulo: **Caribbean Ecological Research**. 1995. 64 p.

SOBRADO, M.A. **Leaf Photosynthesis of the Mangrove Avicennia germinans as affected by NaCl**. Laboratorio de Biología Ambiental de Plantas, Departamento de Biología de Organismos, Universidad Simón Bolívar, Apartado 89.000, Caracas 1080A. Venezuela. 1999.

SPALDING, M., BLASCO F., FIELD C. World Mangrove Atlas. **The International Society for Mangrove Ecosystems**, Okinawa, Japan, 178pp, 1997.

TURKEY, H. B., Jr. The leaching substance from plants. **Annual Review of Plant Physiology**. p.305-324, 1970.

WILSON, M., LINDOW, S. E. Coexistence among epiphytic bacterial populations mediated through nutritional resource partitioning. **Applied and Environmental Microbiology**. p.4468-4477. 1994.