

## CARACTERIZAÇÃO E SIMILARIDADE MORFOLÓGICA DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO ASSOCIADAS À *Eucalyptus* sp.

Rayka Kristian Alves Santos<sup>1\*</sup>, Joilson Silva Ferreira<sup>1</sup>, Carmela Amalia Scipioni<sup>1</sup>, Joelma Silva Santos<sup>1</sup>

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia UESB- Campus de Vitória da Conquista,  
Estrada do Bem Querido, km 4, Caixa Postal 95 -Vitória da Conquista - BA CEP: 45083-900

\*e-mail: [raykakristian@yahoo.com.br](mailto:raykakristian@yahoo.com.br)

**RESUMO:** O objetivo deste trabalho foi caracterizar morfologicamente bactérias associadas aos diferentes genótipos de Eucalipto e calcular sua similaridade com grupos genéticos já conhecidos. Foram realizados três isolamentos: o primeiro com mudas com idade de 100 dias de *Eucalyptus urophylla* clone AEC144; o segundo com plantas de 190 dias dos clones AEC144 (*E. urophylla*) e 1528 (*E. urograndis*); e o terceiro com plantas de 130 dias de *E. urophylla*. Para o isolamento, amostras de 10g de raiz com solo aderido e 10 g de folha, foram coletadas, depois realizada diluição seriada de  $10^{-2}$  a  $10^{-7}$ . Aliquotas de 100  $\mu$ L, foram colocadas em triplicata em frascos de penicilina contendo os meios semissólidos isentos de nitrogênio: NFb, JNFb, JMV, LGI. Realizou-se a caracterização morfológica das bactérias que foram agrupadas em um dendograma de similaridade quanto sua morfologia. Foi obtido um total de 19 isolados, sendo 13 de raiz e 6 de folha. O dendograma de similaridade agrupou a maioria dos isolados como semelhantes ao gênero *Azospirillum*.

**PALAVRAS- CHAVE:** *Eucalyptus urophylla*; rizobactérias; dendograma.

### 1 INTRODUÇÃO

As bactérias são um vasto grupo microbiano importante em vários processos do solo e da planta, que segundo (BULL et al., 2000) é conhecido cerca de somente 12% de sua diversidade, e que atualmente com a necessidade crescente de busca por práticas sustentáveis estas bactérias têm se tornado fonte potencial para processos biológicos e industriais (EMBRAPA, 2007).

Conhecer a população de bactérias benéficas associadas à cultura que está sendo estudada é essencial, pois, assim, é possível mensurar em qual etapa do crescimento da planta essas bactérias estarão interferindo, e quais bactérias serão utilizadas para determinados processos.

O eucalipto é uma cultura com grande importância econômica, principalmente por sua grande diversidade de produtos (REMADE, 2001; GOMIDE e outros, 2010; ARAÚJO e outros, 2010; VIVAN e outros, 2011).

Em vista disso, são necessárias pesquisas que busquem explorar mais o estudo da diversidade e funções dessas bactérias que, possivelmente, são influenciadas pelos genótipos na cultura do eucalipto.

Por conseguinte, o objetivo deste trabalho foi isolar e caracterizar morfológicamente e avaliar a similaridade de bactérias promotoras de crescimento de plantas em diferentes genótipos de eucalipto.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no laboratório de Microbiologia do Solo da UESB – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, onde foram realizados três experimentos de isolamento de bactérias e posterior caracterização morfológica na cultura do eucalipto.

Os experimentos de isolamento bacteriano ocorreram no período de dezembro de 2015, fevereiro de 2016 e agosto de 2016, quando foram utilizadas mudas de *Eucalyptus urophylla* clone AEC144 com idade de 100 dias, plantas com idade de 190 dias de *Eucalyptus urophylla* clone AEC144 e *E. urograndis* clone 1528, e plantas com idade de 130 dias de *E. urophylla* clone AEC144, respectivamente.

O isolamento foi realizado com raiz e parte aérea das plantas, as amostras foram colocadas para crescer em frascos de vidros de penicilina contendo 5 mL dos meios semissólidos livres de nitrogênio (N): JNFb para *Herbaspirillum* spp., NFb para *Azospirillum* spp. JMV para *Burkholderia* spp., LGI para *A. amazonense*.

Os meios que formaram películas características foram repicados para novos meios semissólidos, até formação de nova película. Quando purificados, os isolados foram estocados em meio de cultura batata, adicionados ao meio de cultura óleo mineral estéril, e estocados para posteriores caracterizações.

A caracterização morfológica foi realizada após a purificação dos isolados. As colônias foram avaliadas após 7 dias de crescimento em meios sólidos específicos, e a distinção das colônias foi realizada a olho nu e com auxílio de uma lupa. Foram observadas características como: tamanho, forma, borda, superfície, elevação, transparência e cromogênese (DÖBEREINER e outros, 1995).

A análise do isolamento das bactérias foi discutida de forma descritiva, e foi realizado um dendograma de similaridade com base na distância euclidiana, com uso do programa Statistica, versão 10 (2011), visando avaliar o agrupamento dos isolados nas diferentes classes.

O agrupamento das classes do dendograma foi realizado com base nas características morfológicas das colônias bacterianas.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve o maior número de isolados no primeiro isolamento com mudas com idade de 100 dias de *E. urophylla* (clone AEC144), sendo 7 isolados de raiz e 6 das folhas, nos demais isolamentos, todos foram de raiz, totalizando 19 isolados de eucalipto, sendo deste total, 9 isolados de JNFb (similares *Herbaspirillum* spp.), 9 isolados de JMV (similares *Burkholderia* spp.), 1 isolado de LGI (similar *A. amazonense*).

Após a caracterização morfológica foi realizado o dendograma de similaridade que conseguiu agrupar os isolados conforme as características morfológicas, e o mesmo foi analisado a partir de duas distâncias, considerando a distância euclidiana, que pressupõe que quanto maior o valor observado menos parecidos (mais dissimilares) serão os objetos (Figura 1).

Na menor distância (até 1,7) os isolados UESBJNF4E, UESBJNR2E, UESBJNF1E, UESBJNR4E, UESBJNR3E, UESBJMF1E, UESBJMR32E, UESBJNR6E, UESBJNR32E,

UESBJMR5E, UESBJMLGF2E e UESBJMFR2E formaram um grupo que mais se assemelharam a *Azospirillum* spp. Podendo observar que, dentro deste grupo, a distância 1 foi a menor, e conseguiu agrupar os isolados UESBJNF4E, UESBJNR2E, UESBJNF1E.

O 2º grupo, com coeficiente acima de 1,7, uniu os isolados UESBJNRE, UESBJMR5E, UESBJMR6E, UESBJMF3E, UESBJMF3E2 que mais se assemelharam aos padrões de *Herbaspirillum* spp. (meio JNFb), *Azospirillum amazonense* (meio LGI), *Burkholderia* spp. (meio JMV), sendo que neste grupo os isolados UESBJMF3E, UESBJMF3E2 foram os que mais se distanciaram, com valor de 3,2.

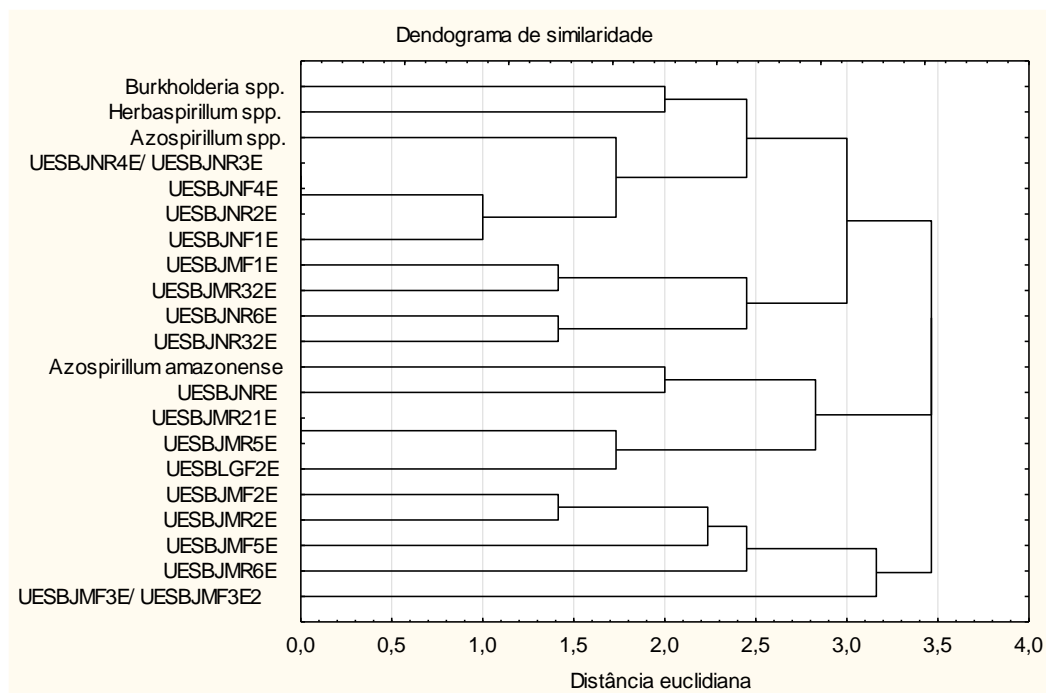


Figura 1 – Dendrograma de similaridade de isolados bacterianos de Eucalipto.

Nota-se que o padrão *Azospirillum* spp. (meio NFb) foi o que se assemelhou ao maior número de isolados de eucalipto. Observa-se que os isolados UESBJNR6E, UESBJMR32E, UESBJNR32E, UESBJMF1E, UESBLGF2E e UESBJMR5E foram os únicos que apresentaram a fixação qualitativa de nitrogênio, corroborando os resultados deste trabalho, já que se assemelharam ao *Azospirillum* spp., e visto que este gênero é caracterizado por sua fixação biológica de nitrogênio.

Castellanos e outros (2010), na Colômbia, identificaram em eucalipto que os gêneros de *Beijerinckia* spp., *Azotobacter* spp. e *Derxia* spp. foram os que se assemelharam à maior quantidade de isolados; e os padrões dos gêneros de *Burkholderia* sp. *Gluconacetobacter* sp. e *Herbaspirillum* sp. foram os menos representados.

Trabalhando com o isolamento de bactérias endofíticas em eucalipto, Paz (2009) também observou uma falta de relação entre os grupos morfológicos e a identificação dos isolados e, para ele, isso denota a fragilidade do uso de caracteres morfológicos para a caracterização de bactérias, devido à variabilidade genética das mesmas, podendo ocorrer de indivíduos de uma mesma espécie não se agruparem.

Levando em consideração que o material genético utilizado para a seleção das bactérias são clones melhorados geneticamente, e que o eucalipto é comumente utilizado na fabricação de produtos bactericidas, devido sua produção de óleos essenciais, pode ter ocorrido essa coevolução e seleção de grupos específicos de bactérias, que se diferenciam das demais culturas, e que são isolados em meios de cultivo diferentes dos testados neste trabalho.

#### 4 CONCLUSÕES

Dezenove bactérias foram isoladas de eucalipto sendo que gênero *Azospirillum* é o mais representado morfológicamente pelos isolados (UESBJNF4E, UESBJNR2E, UESBJNF1E, UESBJNR4E, UESBJNR3E, UESBJMF1E, UESBJMR32E, UESBJNR6E, UESBJNR32E, UESBJMR5E, UESBJMLGF2E e UESBJMFR2E), que foram agrupados pelo dendograma de similaridade.

#### 5 REFERÊNCIAS

ARAÚJO, A. R. A.; FONSECA, F. S. T.; HENDGES, T. L. Análise de viabilidade econômica da produção de eucalipto na cidade de Balsas- MA para a geração de energia. **Revista Científica Faculdade de Balsas**, n. 1, p. 1- 21, 2010.

BULL, A. T., WARD, A. C. & GOODFELLOW, M. Search and discovery strategies for biotechnology: the paradigm shift. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64, 573–606 (2000).

CASTELLANOS. D, M, O.; ZABALA, L. B. B.; BOTÍA, D. M. R.; GARRIDO, M. F. R.; BALDANI, V. L. D.; BUITRAGO, R. R. B.; Caracterización de bacterias diazotróficas asimbióticas asociadas al eucalipto (*Eucalyptus* Sp.) en Codazzi, Cesar (Colombia). **Acta biológica Colombiana**, v. 15, p. 107 – 120. 2010.

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Embrapa-SPI, Brasília, 1995. 60 p.

EMBRAPA. VIDEIRA, S. S.; SIMÕES-ARAÚJO, J. L.; BALDANI, V. L. D. **Metodologia para isolamento e posicionamento taxonômico de bactérias diazotróficas oriundas de plantas não-leguminosas**. Embrapa Agrobiologia. Documentos, 234. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007.

GOMIDE, J. L.; FANTUZZI NETO, H.; REGAZZI, A. J. Análise de critérios de qualidade da madeira de eucalipto para produção de celulose kraft. **Revista Árvore**, v. 34, p. 339- 344, 2010.

PAZ, I. C. P. **Bactérias endofíticas de eucalipto e potencial uso no controle de doenças e promoção de crescimento de mudas em viveiros florestais**. 2009. 129f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

REMADE, **Revista da Madeira**. Ano 11 - n. 59, setembro de 2001. Disponível em: <http://www.remade.com.br>, Acesso em: 12 de Agosto. 2016