



Caracterização da biodiversidade procariótica e fúngica presente em fitotelmos de bromélias em uma área de Mata Atlântica no sul do Brasil

Catieli Gobetti Lindholz, Anelise Baptista da Silva, Renata Medina Silva (orientador)

Laboratório de Imunologia e Microbiologia; Faculdade de Biociências, PUCRS

Introdução

Bromeliaceae é uma família de monocotiledôneas de grande importância ecológica no bioma da mata atlântica e dos campos rupestres. Possui distribuição neotropical, e é composta por cerca de 3.000 espécies classificadas em 57 gêneros (LUTHER, 2006) que podem apresentar hábitos epifíticos, terrícolas e saxícolas, ocorrendo tanto em habitats florestais úmidos como também em ambientes xerofíticos. Uma das características individuais da família é a absorção de água e nutrientes através de escamas peltadas encontradas nas folhas. Muitas das espécies acumulam água da chuva em uma cisterna, resultando em um reservatório de água formado a partir da inserção de suas bainhas foliares organizadas de maneira espiralada em um caule muito curto. Essas cisternas formam um habitat ideal para diversas formas de vida, incluindo microorganismos procarióticos e eucarióticos, bem como diferentes grupos de invertebrados e vertebrados (REITZ, 1983). Este tipo de ecossistema é nomeado fitotelmo, e apresenta características únicas que potencialmente influenciam de maneira significativa na fisiologia e ecologia da planta hospedeira. Neste estudo investigamos a biodiversidade de organismos procarióticos e fúngicos presentes nas cisternas de duas espécies de bromélias: *Vriesea platynema* e *Aechmaea gamosepala*, encontradas no Centro de Pesquisas e Conservação da Natureza PRÓ-MATA – PUCRS, localizado no município de São Francisco de Paula/ RS.

Metodologia

Para a investigação dos microrganismos presentes nos fitotelmos, foram analisadas amostras de água coletadas de cisternas de cinco bromélias do gênero *Vriesea* e cinco do gênero *Aechmea*, encontradas no CPCN PRÓ-MATA–PUCRS, São Francisco de

Paula, interior do Rio Grande do Sul. As coletas foram sazonais com o propósito de observar possíveis modificações na composição estrutural das comunidades biológicas residentes ou transitórias nas cisternas. As amostras obtidas foram, inicialmente, divididas e inoculadas em meios de cultivo líquidos: BHI (infusão cérebro-coração, peptona, dextrose, cloreto de sódio e fosfato dissódico), para organismos procariotos; YPD (extrato de levedura a 1%, peptona a 2% e glicose a 2%) e Sabouraud para leveduras. Posteriormente as amostras foram incubadas à temperatura ambiente, até atingirem crescimento em fase exponencial. Para realizarmos o isolamento das colônias provenientes das amostras e testes de características metabólicas pertinentes ao estudo, os inóculos foram semeados novamente nos três meios utilizados, porém de maneira sólida, acrescentados de ágar a 2%. Após a caracterização das colônias que mostraram morfologias distintas, isolados bacterianos foram corados através do método de Gram e observados em microscopia óptica (1000X). Alguns isolados foram semeados em meio Nitrato-ágar (Himedia) para verificar a possível presença de microorganismos oxidantes de nitrato. Algumas amostras deste trabalho foram também submetidas a análises metagenômica no laboratório de Genômica Molecular da Faculdade de Biociências – PUCRS para um levantamento global da diversidade procariótica dos fitotelmos investigados. A análise final dos dados se fez através de softwares apropriados no mesmo laboratório por um técnico especializado e com o acompanhamento da bolsista de iniciação científica.

Resultados e Discussão

A partir dos cultivos feitos com as amostras de água das bromélias amostradas obtivemos 27 diferentes morfologias bacterianas isoladas oriundas das cisternas de *A. gamosepala* e 16 de *V. platynema*. Desta forma, observamos um alto grau de diversidade morfológica, em termos de tamanho e aspecto das colônias, formas e arranjos bacterianos, sendo que a maioria se mostrou como bacilos Gram negativos, agrupados em strepto ou diplobacilos. Somando-se a isso, observamos que dos isolados semeados em meio nitrato-ágar, aproximadamente 85% foram capazes de formar colônias, mostrando assim a capacidade metabólica de oxidar este composto nitrogenado, nos indicando que estes microrganismos podem contribuir na diminuição da disponibilidade de compostos nitrogenados no meio aquático, os quais seriam utilizados para nutrição da planta hospedeira. Em relação às leveduras, microrganismos eucarióticos fúngicos presentes nas cisternas amostradas, contamos com um total de 24

isolados de microorganismos fúngicos, dos quais 14 são provenientes das cisternas de *V. platynema* e 10 de *A. gamosepala*, nos quais os aspectos morfológicos variam em termos de tamanho do microrganismo, tipo de brotamento (simples ou bipolar) e forma (arredondadas ou hexagonais). Dados de análise metagenômica de procariotos presentes em algumas das amostras investigadas foram levantados pelo laboratório de genômica molecular. Estes dados indicaram que cerca de 97% das sequências analisadas pertencem ao domínio Bacteria em *V. platynema*, e 99% em *A. gamosepala*. Com base nestas análises, os filos predominantes em ambas as espécies são, na respectiva ordem: Proteobacteria, Bacteroidetes, Acidobacteria, Firmicutes, Actinobacteria e Verrucomicrobia, com importante predominância para o filo Proteobacteria nas duas bromélias amostradas. Diferente do que foi observado para os resultados de cultivo, foi possível também observar uma maior riqueza de gêneros procarióticos nas amostras de fitotelmos de *V. platynema* em comparação às amostras de *A. gamosepala*. Somando-se a isso, foram identificadas sequências pertencentes a indivíduos do domínio Archaea, dos filos Euryarchaeota e Crenarchaeota, com índices consideravelmente diferentes entre as espécies amostradas.

Conclusões

Os resultados obtidos não apenas apontam para a ocorrência de uma rica biodiversidade de microorganismos em fitotelmos de ambas as espécies de bromélias investigadas como também indicam que estes exercem uma significativa influência na disponibilidade de nutrientes neste ecossistema aquático, especialmente para a planta hospedeira. No presente momento parte dos isolados obtidos neste trabalho estão sendo submetidos a análises moleculares de identificação a partir do sequenciamento da subunidade menor do rDNA.

Referências:

- LUTHER, H.E. 2006. An Alphabetical List of Bromeliad Binomials, 10thed. The Bromeliad Society International, Inc., Orlando, Fla.
- REITZ, R. 1983. Bromeliáceas e a malária – bromélia endêmica. Fl. Ilustr. Catarinense, Parte. Fasc. Brom. 518p.