

Identificação de bactérias em plantas carnívoras do gênero *Nepenthes*

Jéssica Miyuki Korehiça¹, Maurício Pereira de Lima²
Priscila Reina Siliano³; Marcia Zorello Laporta³

¹ Graduação, Ciências Biológicas, Centro Universitário Fundação Santo André
jessica.korehisa@gmail.com,

² Microbiologista, mlima4155@gmail.com

³ Professor Doutor, Centro Universitário Fundação Santo André, priscila.siliano@fsa.br, marcia.laporta@fsa.br

RESUMO

As plantas do gênero *Nepenthes* apresentam especialização estrutural em formas de bolsas conhecidas como ascídios ou urnas, que impedem o retorno para a superfície de insetos e até pequenos mamíferos que tenham, acidentalmente, caído dentro dessas estruturas, fazendo com que afoguem e sejam diferidos pelo coquetel de enzimas presentes no fluído do jarro. Por serem típicas de solo pobre em nutrientes, incorporam os nutrientes como o nitrogênio e o fósforo necessários para sua sobrevivência da quitina presente no exoesqueleto das presas. Esse estudo teve por objetivo obter dados quantitativos e qualitativos das bactérias contidas nas armadilhas das *Nepenthes*. Foram analisadas amostras do líquido presente nos jarros das plantas em placas de Ágar sangue e Ágar MacConkey pela técnica de semeadura semi-quantitativa por meio da transferência de uma alíquota do material sobre um ponto da superfície e realizar o esgotamento. As colônias isoladas e puras crescidas em Ágar MacConkey foram triadas e identificadas por meio da série bioquímica Enterokit B, e as colônias crescidas em ágar Sangue foram submetidas á teste de catalase e coloração de Gram. Com a realização das coletas, os resultados obtidos apontam que as bactérias auxiliam na degradação do exoesqueleto de quitina das presas que caem nas armadilhas das *Nepenthes*, já que a degradação natural leva dias para serem totalmente digeridas. Foram encontradas bactérias da família *Enterobacteriaceae* como a *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp, *Citrobacter* spp, que são encontradas principalmente no intestino de humanos e de animais. Antes da dormência foi identificada uma grande variedade de microrganismos e a digestão dos nutrientes presentes em seu jarro apresenta-se aumentada. Após o período de dormência verificouse que apesar do jarro se apresentar fechado o fluído não estava estéril e as quantidades de bactérias disponíveis diminuiram, mas não se sabe se foi por conta de terem acabado de sair da dormência ou pela absorção dos nutrientes pela planta.

Palavras-chave: Plantas carnívoras. *Nepenthes*. Pesquisa microbiológica. Diversidade bacteriana.

INTRODUÇÃO

As plantas do gênero *Nepenthes* são pertencentes à uma família de plantas carnívoras angiospérmicas que são encontradas no sudeste da Ásia. Apresentam uma especialização estrutural em formas de bolsas conhecidas como ascídios ou urnas, que são semelhantes a jarros. O fluido digestivo presente no jarro representam um ecossistema pequeno e autocontido, que abrigam comunidades de artrópodes, fungos, protozoários e bactérias que são chamados de inquilinos (BITTLESTON, 2018).

As plantas dos gêneros *Nepenthes* realizam fotossíntese como fonte de nutrição, mas por serem típicas de solo pobre em nutrientes incorporam os nutrientes necessários para sua sobrevivência, principalmente o nitrogênio e fósforo, das presas (SILVA, 2013). As presas vão desde artrópodes, insetos até pequenos mamíferos. Ao visitar os jarros, a presa atraída cai na armadilha, que contém uma superfície anti-adesiva coberta por cristais de cera epicuticular que impede que os insetos retornem depois de terem entrado, e então eles se afogam e são digeridos. Ao ser capturada a presa, dá-se início o processo de digestão, em que as proteínas são quebradas por enzimas proteolíticas, transformando-se em

moléculas menores, e sendo absorvidas por meio de suas folhas, há também a quebra de gorduras e carboidratos presente na presa e também de materiais da planta de que eventualmente caem dentro dos jarros. É um processo similar ao que acontece no estômago humano, sendo que depois da quebra das moléculas ocorre absorção pelas paredes do intestino. A concentração e diversificação enzimática, além dos tipos de bactérias que auxiliam o processo, são as grandes responsáveis pela maior ou menor capacidade e tempo de digestão da sua presa, que pode variar de vinte e quatro horas até uma semana pelo coquetel de enzima presente no fluído do jarro (GAUME et al. 2002; BOHN e FEDERLE, 2004; GORB et al. 2005; EILENBERG, 2010; JUNIPER et al. 1989).

O presente estudo teve como objetivo identificar bactérias no fluido presente nos jarros da planta do gênero *Nepenthes*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada a pesquisa microbiológica e realizado um levantamento que visa analisar as informações do grupo de plantas das espécies cedidas pela Acta Botanica Paisagismo: *Nepenthes alata* (fotografia 1A), *Nepenthes siibuyanensis* (fotografia

1B), *Nepenthes truncata* (fotografia 1C), *Nepenthes truncata* (fotografia 1D).

O líquido presente nos jarros das plantas em estudo foi transferido diretamente para tubos de caldo nutriente, e então semeados em placas de ágar sangue (Probac, Brasil) e Ágar MacConkey (Merck, Alemanha) pela técnica de semeadura semiquantitativa através da transferência de uma alíquota do material sobre um ponto da superfície e esgotá-lo em 4 quadrantes permitindo uma obtenção

de colônias isoladas. Após isso, foi realizado a série bioquímica Enterokit B (Probac, Brasil) a partir da uma colônia isolada e pura com auxílio de um fio de inoculação e semear de acordo com o fabricante, e por fim foi realizado a identificação das enterobactérias através das 8 reações fenotípicas que somadas ao da fermentação da lactose no MacConkey foram agrupadas em 3 conjuntos de provas bioquímicas que permite a identificação da espécie de microrganismo a ser estudada.

Fotografia 1- Plantas carnívoras dos gêneros *Nepenthes* (A, B, C e D)



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na 1ª. Coleta (26/ junho de 2018) verificou-se na *Nepenthes alata*, após ser semeada em Ágar Sangue e Ágar MacConkey, a presença de *Pseudomonas* spp., *Streptococcus* spp., *Klebsiella*

pneumoniae, e *Klebsiella ozaenae*. Na *Nepenthes siibuyanensis*, após ser semeada em Ágar Sangue e Ágar MacConkey, verificou-se a presença de *Streptococcus* spp, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella ozaenae*. Na

Nepenthes truncata, após ser semeada em Ágar Sangue e Ágar MacConkey, foi observada a presença de *Citrobacter freundii*.

Na 2ª. Coleta (29/ outubro de 2018) foi realizada após o período de dormência onde há o decréscimo da temperatura e do período de exposição à luz, diminuindo assim a ação de bactérias e fungos, que é lenta, para absorver os nutrientes. Na *Nepenthes alata* após ser semeada em Ágar

Sangue e Ágar MacConkey foi verificado a presença de *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus* spp, (Não aureus). Na *Nepenthes siibuyanensis* após ser semeada em Ágar MacConkey foi verificado a presença de *Streptococcus* spp., *Enterobacter aerogenes* (atual *Klebsiella aerogenes*) e *Staphylococcus* spp (Não aureus). Na *Nepenthes truncata* após ser semeada em Ágar MacConkey foi verificado a presença de *Staphylococcus aureus* e Bacilos gram-positivos.

Quadro 1- Espécies de bactérias encontradas na coleta do dia 26/ junho de 2018

Espécies	Bactérias encontradas no mês de Junho	Bactérias encontradas no mês de Outubro
<i>Nepenthes alata</i>	- <i>Pseudomonas</i> spp. - <i>Streptococcus</i> spp. - <i>Klebsiella pneumoniae</i> - <i>Klebsiella ozaenae</i>	- <i>Streptococcus</i> spp. - <i>Staphylococcus</i> spp. (Não aureus)
<i>Nepenthes siibuyanensis</i>	- <i>Streptococcus</i> spp. - <i>Citrobacter freundii</i> - <i>Klebsiella pneumoniae</i> - <i>Klebsiella ozaenae</i>	- <i>Streptococcus</i> spp. - <i>Klebsiella aerogenes</i> (antiga <i>Enterobacter aerogenes</i>) - <i>Staphylococcus</i> spp (Não aureus)
<i>Nepenthes truncata</i>	- <i>Citrobacter freundii</i>	- <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Nepenthes truncata</i> (Jarro fechado)	-	- Bacilos gram-positivos

CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com as análises microbiológicas realizadas nos meses de junho e outubro de 2018, foi encontrado bactérias da família *Enterobacteriaceae* e família *Micrococcaceae*. As enterobactérias como a *Klebsiella* spp,

Enterobacter spp, *Citrobacter* spp, são encontradas principalmente no intestino de humanos e de animais. Os microrganismos são provenientes do aparelho intestinal dos insetos ou trazidos pelo ambiente. O gênero *Klebsiella* apresentam cápsula que podem auxiliar na sua proteção dentro do fluido digestivo das plantas

Na coleta de junho, foram identificadas uma grande variedade de microrganismos, já que as *Nepenthes* apresentam um período em que a digestão dos nutrientes presentes em seu jarro está aumentada. A coleta de outubro foi realizada após o período de dormência quando o jarro ainda se encontrava fechado com fluido estéril e livre de presas, por possuírem pouco contato com o meio ambiente, todas as proteínas e compostos identificados neste fluido jarro são derivados apenas da planta. Houve o decréscimo da temperatura e do período de exposição à luz, e também a diminuição da ação de bactérias. O fluido do jarro não se encontrava estéril mesmo fechado. As quantidades de bactérias diminuem, mas não se sabe se foi por conta de terem acabado de sair da dormência ou pela absorção dos nutrientes pela planta que diminui as quantidades de bactérias disponíveis.

Com a realização das coletas, os resultados obtidos apontam que as bactérias e fungos auxiliam na degradação do exoesqueleto de quitina das presas que caem nas armadilhas das *Nepenthes*, já que a absorção dos nutrientes leva dias para serem totalmente digeridas.

REFERÊNCIAS

BITTLESTON, L. S. Commensals of *Nepenthes* pitchers. In: *Carnivorous Plants: Physiology, ecology and evolution*. Edited by Aaron M. Ellison and Lubomír Adamec: Oxford University Press (2018).

GAUME L; GORB S; ROWE N. Function of epidermal surfaces in the trapping efficiency of *Nepenthes alata* pitchers. **New Phytologist**, 2002, v.156, p. 479-489.

GORB, E. et al. Composite structure of the crystalline epicuticular wax layer of the slippery zone in the pitchers of the carnivorous plant *Nepenthes alata* and its effect on insect attachment. **Journal of experimental Biology**. 2005, v. 208, p. 4651-4662.

EILENBERG, Haviva. Induced production of antifungal naphthoquinones in the pitchers of the carnivorous plant *Nepenthes khasian*. **Journal of experimental Biology**. 2010, v. 61, p. 911-912.

BOHN F & FEDERLE W. Insect aquaplaning: *Nepenthes* pitcher plants capture prey with the peristome, a fully wettable water-lubricated anisotropic surface. **PNAS** September 28, 2004 101 (39) 14138-14143

JUNIPER B E, ROBINS R J AND JOEL
D M 1989 The Carnivorous Plants.
Academic Press Limited, London. 353 pp.

SILVA, Carolina Bertini da. **Diversidade genética de microrganismos presentes em utrículos da planta carnívora *Utricularia foliosa* (Lentibulariaceae).** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Programa de Pós- Graduação em Biotecnologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/87/87131/tde-13052014-151422/pt-br.php>>. Acesso em 20 out. 2017.