



OCORRÊNCIA DE BACTÉRIAS EM SOLOS DE MANGUEZAL DE SÃO VICENTE (SP) E ILHA COMPRIDA (SP)

Simone Alves da Silva

Fernando Alves Dornelas; Luiz Estevão Coutinho Pereira; Marcela de Gouveia Peres; Renata dos Reis; Rodrigo Menon Gomes; Solange dos Anjos Castanheira; Maria Raquel Manhani

Universidade São Judas Tadeu, Rua Taquari, 546, Mooca, 03166 - 000, São Paulo, Brasil. si8_bio@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Os manguezais são ecossistemas formados em regiões onde há interação de ambientes terrestres e marinhos que desempenham um papel fundamental na manutenção da biodiversidade marinha, por se tratarem de ambientes altamente produtivos devido à grande quantidade de nutrientes. O solo que compõe o manguezal é constituído de forma diversificada, possuindo características altamente variáveis devidas às distintas origens, podendo ser oriundo de intemperização de rochas formando solos ricos em matéria orgânica. Como os solos de bosques de mangue são lodosos, lamacentos, inconsolidados e formados por partículas finas com baixa circulação de oxigênio, bactérias anaeróbias estão presentes e atuam decompondo a matéria orgânica sedimentada e exalam um odor característico de “ovo podre”, levando muitas pessoas a qualificá-lo como inútil e fétido (Vanucci, 2002).

Essas regiões também estão associadas a questões ecológicas e sócio - econômicas, já que os manguezais desempenham importantes funções como produtividade de outros ecossistemas interligados, especialmente os costeiros, gerando grandes benefícios com o aumento da produtividade pesqueira (Rodrigues, 1997).

O Brasil é o país das Américas com a maior área de manguezais e o segundo do mundo. Há muitos anos os bosques de mangue vêm sofrendo uma diminuição significativa. Mais de 10% dos manguezais do Estado de São Paulo, por exemplo, encontram-se degradados ou alterados. Os fatores que mais frequentemente afetam as áreas de manguezais são as atividades humanas, tais como derramamento de petróleo e especulação imobiliária (Silva, 1996). No Estado de São Paulo, os sistemas estuarinos de São Vicente e Ilha Comprida, são exemplos de locais com manguezais que apresentam características diferentes, no que se refere à degradação ambiental.

O município de São Vicente está localizado na Baixada Santista, contando com uma área territorial de 146km². A área

total de manguezal que antes abrangia 24km² (16%), com a ação antrópica, atualmente, devido à degradação é de apenas 13km². Nestas áreas há ocorrência de submerdiadas e, em consequência desse fato, o esgoto produzido por estas famílias contamina os bosques de mangue. Esse prejuízo ambiental é causado, principalmente pela falta de saneamento básico, pela expansão populacional desordenada e pela falta de políticas públicas (São Paulo, 2007).

Os manguezais de Ilha Comprida concentram as maiores áreas conservadas dessa formação florestal do Estado de São Paulo, favorecidas pela grande quantidade de matéria orgânica produzida, elemento fundamental na cadeia alimentar do ecossistema. Ilha Comprida, mesmo sendo uma área de proteção ambiental estadual (APA), é ocupada pela especulação imobiliária de forma desordenada. Muitos lotes foram vendidos “no papel” em áreas de manguezal (São Paulo, 2007).

Com relação à microbiota, bactérias do grupo *Archaea* são organismos procaríotas, anaeróbios, geralmente quimiotróficos, muitos dos quais sobrevivem em lugares extremos como fontes de água quente, lagos ou mares muito salinos, pântanos (onde produzem metano) e ambientes ricos em gás sulfídrico e com altas temperaturas, provavelmente ocorrendo também em áreas de manguezal (Black, 2002; Michael, 2004).

Uma característica marcante de *Archaea* é a capacidade de habitar ambientes em condições extremas de temperatura, salinidade e pressão. Compreende os filos *Crenarchaeota*: incluem termófilos extremos ligados ao ciclo do enxofre, *Euryarchaeota*: neste filo estão diversificadas coleções de linhagens: metanogênicas, halofílicas e termofílicas e o gênero *Archeoglobus*: hipertermófilo, redutor de sulfato. O filo *Nanoarchaeota* tem como representantes bactérias minúsculas (diâmetro de 400nm), são hipertermofílicas e simbióticas (Michael, 2004; Moreira, 2006).

Os solos de manguezal possuem comunidades bacterianas que são de grande importância ecológica (Vanucci, 2002), porém existem poucos estudos que abordem este assunto,

portanto é fundamental estabelecer sua ocorrência e como existem áreas de manguezal, no Estado de São Paulo, parcialmente conservadas, como em Ilha Comprida, e, altamente impactadas, como em São Vicente, seriam os métodos para coleta de material, armazenamento e desenvolvimento tradicionais adequados?

OBJETIVOS

Avaliar metodologias para verificação da ocorrência de comunidades bacterianas em áreas de manguezal.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização desse estudo, foram selecionados dois municípios da cidade de São Paulo com áreas de manguezal: Ilha Comprida e São Vicente. Foram coletadas cinco subamostras reunidas em uma amostra composta, na profundidade de 20cm, utilizando - se uma bomba de sucção construída com um tubo de polietileno. As amostras coletadas foram transferidas para 10mL de caldo tioglicolato, previamente fervido por 10 minutos para desaeração. Em seguida, os frascos contendo as amostras em caldo tioglicolato foram selados com 2mL de óleo mineral estéril e mantidos à temperatura ambiente (20 a 25°C) por 48 horas. Após incubação, uma alíquota de 0,1mL foi semeada na superfície de Ágar Padrão para Contagem (PCA), contendo 2% de cloreto de sódio e adicionado de sobrecamada do mesmo meio de cultura. Estas placas foram incubadas por 72 horas em anaerobiose. Após o crescimento dos microrganismos, estes foram novamente inoculados em tubos de ensaio contendo caldo tioglicolato selados com óleo mineral e mantidos à temperatura ambiente por um período de três dias, onde se pode observar a turbidez do caldo sugerindo a multiplicação das bactérias anaeróbias.

Para identificação das cepas bacterianas foram realizados a coloração de Gram e os testes bioquímicos: utilização de carboidratos (glicose, sacarose, lactose e manitol), tendo como base o meio de cultura OF (oxidação e fermentação), homo ou heterofermentação e produção de acetoina (caldo MR - VP) e fermentação tumultuosa de leite (meio de leite de ferro).

Alguns ensaios foram realizados previamente à adoção da metodologia acima:

I - As amostras de solo coletado com auxílio do tubo de polietileno foram armazenadas em potes de vidro estéreis contendo caldo tioglicolato e incubadas a 37°C por 48 horas. Com auxílio de uma alça de platina, coletou - se uma quantidade da amostra que estava incubada na estufa e a mesma foi semeada em PCA através de estrias por esgotamento. As placas foram incubadas em anaerobiose a 37°C por 48 horas.

II - Além do meio de cultura utilizado anteriormente (PCA), as amostras foram transferidas para Ágar Tioglicolato, além de meios de cultura diferentes também foram utilizadas outras formas de armazenar o material coletado; tubos de ensaio foram utilizados para armazenar o material, além dos potes de vidro tampados com tampão de algodão. Todos foram coletados e permaneceram no caldo tioglicolato,

cobertos com uma camada de óleo mineral. Os materiais coletados foram incubados em placas de Petri com os meios de PCA e o ágar tioglicolato em duas temperaturas diferentes (ambiente e 55°C) por 120 horas.

RESULTADOS

Através dos testes realizados foi possível identificar, em ambas as áreas amostradas, uma predominância dos gêneros *Desulfovibrio* sp e *Desulfobacter* sp, os quais são bacilos Gram negativos, anaeróbios, produtores de H₂S, justificando o odor característico de “ovo podre” das áreas de manguezal. Também foram encontrados *Desulfococcus* sp (cocos Gram negativos, anaeróbios). Representantes do gênero *Clostridium*, os quais são bacilos Gram positivos e anaeróbios, também foram encontrados.

Quanto à metodologia I, na qual os meios de cultura foram incubados a 37°C por 48 horas, não foi possível observar qualquer crescimento de bactérias. Isso, provavelmente foi devido à temperatura de incubação, que impediu o desenvolvimento das mesmas e, portanto não foi a selecionada para este tipo de estudo.

Na metodologia II, onde se empregou o ágar padrão para contagem, observou - se um crescimento bacteriano significativo: 73,6% das placas semeadas apresentaram colônias bacterianas. Quando se utilizou o ágar tioglicolato, a reprodução bacteriana não foi tão satisfatória, permanecendo em 26,3%. Dessa forma optou - se por utilizar o PCA como meio de cultura para isolamento das diferentes bactérias.

Quanto aos materiais de coleta, houve uma maior recuperação de bactérias quando foram utilizados os potes de vidro (50%). Com tubos de ensaio, o número de placas que apresentaram crescimento bacteriano foi de 39,4% e com o tampão, apenas 10,5%.

Em relação à temperatura, quando as amostras foram mantidas à temperatura ambiente, o crescimento bacteriano foi muito satisfatório, alcançando 81,5%, enquanto as mantidas em 55°C somente 18,4% mostraram desenvolvimento da microbiota.

Além desses ensaios, foram coletadas amostras de solo com profundidades que variavam de 0 - 20cm, sendo o melhor resultado (83%) obtido nas amostras de solo provenientes da região mais profunda (20cm). Utilizaram - se, também diferentes concentrações salinas, que variavam de 0% a 2% de cloreto de sódio, verificando - se que o número maior de desenvolvimento de bactérias ocorreu utilizando - se a concentração de 2% de NaCl (81%), já com a adição de 1% de cloreto de sódio (56%) e sem nenhuma adição de sal (50%). Dessa forma, observou - se que os melhores resultados foram alcançados quando a coleta do solo foi realizada a uma profundidade de 20cm e as amostras acondicionadas em pote de vidro contendo caldo tioglicolato de sódio vedado com óleo mineral, mantidas à temperatura ambiente, seguido de isolamento em ágar padrão para contagem contendo 2% de NaCl.

CONCLUSÃO

Este estudo possibilitou inferir que o caldo tioglicolato de

sódio e a semeadura em PCA acrescido de 2% de NaCl podem ser recomendados para estimular o crescimento de cepas bacterianas presentes em solos de manguezal.

REFERÊNCIAS

Black, J. **Microbiologia, Fundamentos e Perspectivas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

Michael, T. M.; Martinko, J.M.; Parker, J. **Microbiologia de Brock**. 10. ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2004.

Moreira, Fátima M. S; Siqueira, José Oswaldo. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed., atual. e ampl. Lavras: Ed. UFLA, 2006. 729 p.

Rodrigues, F.O. **Derramamento de óleo no ecossistema manguezal-limpeza do ambiente, efeitos e metodologia de estudo**. São Paulo, 1997. 173 p. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo.

São Paulo (Estado) Prefeitura de Ilha Comprida. Disponível em:

http://www.cepam.sp.gov.br/ecoturismo/wc/areas/ilha_comprida/middle.htm.

Acesso em: 26 ago. 2007.

São Paulo (Estado) Prefeitura de Ilha Comprida. Disponível em: <http://www.radiobras.gov.br/ct/2001/materia_0405011.htm>. Acesso em: 26 ago. 2007

São Paulo (Estado) Prefeitura de Ilha Comprida. Disponível em: <http://www.ambiente.sp.gov.br/apas/ilha_comprida.htm>. Acesso em: 26 ago.2007.

São Paulo (Estado) Prefeitura de São Vicente. Disponível em :

< <http://www.unisanta.br/baixada/exibe.asp> >. Acesso em 12 ago. 2007.

São Paulo (Estado) Prefeitura de São Vicente. Disponível em :

< <http://www.unisanta.br/baixada/exibe.asp> >. Acesso em 12 ago. 2007.

São Paulo (Estado) Prefeitura de São Vicente. Disponível em :

< http://www.dsr.inpe.br/vc.sr/html/proj_2001/rosini_santos.pdf >. Acesso em 12 ago.2007.

Silva, E.V. Os impactos ambientais em um manguezal de franja no Ceará. In: CONGRESSO NORDESTINO DE ECOLOGIA, 1., Recife, 1996. **Anais**. Recife, 1996.

Vannucci, M. **Os manguezais e nós**. 2. ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2002.