

Bactérias associadas à decomposição de folhas de *Cedrela fissilis* Vell. (Cedro) em mata tropical subcaducifólia do noroeste do Estado do Paraná

Claudia Regina Corrêa¹, Valdovino Damásio dos Santos² e Celso Vataru Nakamura^{1*}

¹ Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá-Paraná, Brazil. e-mail: nakamura@npd-lab.uem.br. ² Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá-Paraná, Brazil. *Author for correspondence.

RESUMO. Folhas de *Cedrela fissilis* Vell. (cedro), coletadas de exemplares ocorrentes no Horto Florestal de Maringá, foram colocadas em bolsas de tela de náilon e distribuídas em 10 pontos sobre o solo no interior da mata e recolhidas bimestralmente por um período de 12 meses. Pequenos discos, obtidos das folhas, foram submetidos à lavagem vigorosa em solução salina estéril 0,89% e aplicados na superfície do meio ágar nutriente. Os principais gêneros de bactérias associadas à decomposição foram os seguintes microrganismos: *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Pseudomonas* e membros da família Enterobacteriaceae. Entre as enterobactérias destacam-se os gêneros *Enterobacter* e *Erwinia*. A sucessão bacteriana em *Cedrela fissilis* foi estudada pela caracterização da microflora do *litter* em diferentes estágios para compreender a natureza da sua degradação.

Palavras-chave: decomposição de *litter*, bactéria, *Cedrela fissilis*, sucessão bacteriana, microflora.

ABSTRACT. Bacteria associated with decomposition of leaves of *Cedrela fissilis* Vell. (Cedro) in a tropical semideciduous forest of the northwest of state of Paraná. Leaves from *Cedrela fissilis* Vell. grown in a tropical semideciduous urban forest reserve were placed in litterbags and collected at bimonthly intervals during twelve months. Small disks from the leaves were washed, dried and inoculated in Petri plates with agar medium nutrient and incubated at 37°C for 24-48 hours. The most frequent bacterial groups were the following: *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Pseudomonas*, and members of the Enterobacteriaceae family. *Enterobacter* and *Erwinia* were the most frequent members of this family. The pattern of bacterial succession in *Cedrela fissilis* was studied through litter microflora characterization at different stages to understand the nature of its degradation.

Key words: litter decomposition, bacteria, *Cedrela fissilis*, bacterial succession, microflora.

Fungos, bactérias e actinomicetes compõem a microbiota decompositora de *litter*, podendo atuar em conjunto ou alternadamente. Os fungos destacam-se como os mais importantes decompositores do material vegetal, em virtude de possuírem o mais eficiente equipamento enzimático para desmontar substâncias complexas, tais como: celulose, hemicelulose, lignina, compostos aromáticos, quitina e certas proteínas (Jensen, 1974; Pugh, 1974; Grant e Long, 1989; Siqueira *et al.*, 1994). As bactérias aparecem minoritariamente (Gyllenberg e Eklun, 1974; Grant e Long, 1989), provavelmente, devido à acidez do solo florestal e à inibição enzimática exercida por compostos tânicos. Todavia, certas bactérias pertencentes ao gênero *Cytophaga* e actinomicetes especializam-se na decomposição de determinados materiais sobre os quais os fungos não atuam, exercendo uma ação

micolítica e inclusive bacteriolítica, persistindo na sua ação decompositora mesmo em condições severas (Gyllenberg e Eklun, 1974; Goodfellow e Cross, 1974; Pugh, 1974; Jensen, 1974; Grant e Long, 1989). A função decompositora das bactérias é definida quanto às atividades celulolíticas, amilolíticas, pectinolíticas, porém, indefinida quanto à capacidade de despolimerizar as ligninas, ainda que muitas sejam degradadoras de grupos cíclicos e transformadoras de compostos aromáticos (Grant e Long, 1989; Siqueira *et al.*, 1994).

Estágios iniciais da decomposição da serapilheira são caracterizados pela ocorrência de poucos tipos de organismos que são uniformes em seu comportamento e em sua resposta ao ambiente. À medida que a decomposição prossegue, a população microbiana se torna mais heterogênea, particularmente entre as bactérias, que são representadas por poucas espécies no

começo, mas por uma maior diversidade nos estágios de decomposição mais avançados (Gyllenberg e Eklun, 1974).

O estudo da decomposição de folíolos de *Cedrela fissilis* reveste-se de grande importância, em virtude da ampla distribuição dessa espécie no Brasil, sendo frequentemente encontrada em matas do interior, desde o estado de Minas Gerais até o Rio Grande do Sul. É uma das espécies mais frequentes e abundantes no Paraná, presente em todas as formações florestais, exceto naquelas de mata baixa da restinga litorânea. Verifica-se, também, manifesto interesse comercial e industrial na utilização da madeira extraída do cedro. Sendo superada somente pela madeira do Pinho-do-Paraná (*Araucaria angustifolia*), esta árvore torna-se uma das mais importantes madeiras em nosso país devido à grande diversidade de suas aplicações (Rizzini e Mors, 1976; Inoue et al., 1984 e Mainieri et al., 1989).

O objetivo deste trabalho foi realizar o levantamento dos principais grupos de bactérias presentes nos folíolos em decomposição de *Cedrela fissilis* Vell., bem como verificar a sucessão bacteriana durante o processo de decomposição ao longo do período avaliado.

Material e métodos

Este trabalho foi realizado no Horto Florestal "Dr. Luiz Teixeira Mendes", município de Maringá-PR, onde a vegetação enquadra-se no tipo tropical subcaducifólia de planalto (IBGE, 1982), sendo o cedro um dos mais expressivos representantes da flora nativa. De acordo com as cartas climáticas do Paraná, o clima está inserido no tipo Cfa de Koeppen, ou seja, subtropical úmido mesotérmico sem estação seca definida (IAPAR, 1994). O regime térmico indica o mês de janeiro como o mais quente do ano, com média sempre acima de 22°C e o mês de julho, o mais frio, com média inferior a 18°C. As medidas pluviométricas registram uma precipitação média anual entre 1500 e 1600 mm, sendo o mês de dezembro o mais chuvoso e julho o mês mais seco (ITCF 1987; IAPAR 1994).

A coleta do material vegetal foi realizado da seguinte maneira:

Para o estudo da população bacteriana do filoplano, folíolos de folhas maduras de *Cedrela fissilis* de 5 árvores foram coletados em janeiro de 1994. Folhas maduras compreendem aquelas presentes na parte central do ramo de tamanho uniforme e desenvolvimento completo; as folhas localizadas na parte apical e basal do ramo foram descartadas.

Para o estudo da população bacteriana atuante nos estados iniciais de decomposição, oriundos do subsistema solo-serrapilheira foram amostrados,

em abril de 1994, folíolos recém caídos de cerca de 5 árvores.

Para o monitoramento bimestral do processo de decomposição durante um período de 12 meses, foram obtidas folhas maduras inteiras de cerca de 5 árvores e os folíolos separados em 60 amostras foliares pesando entre 5,0 e 10,0 g de peso seco, e colocados em bolsas de tela de náilon ("litterbags"). Estas bolsas foram distribuídas em 10 pontos sobre o solo no interior da mata. Em cada ponto de coleta, estabelecido na mata, havia 6 bolsas que foram recolhidas bimestralmente.

Os folíolos provenientes dessas coletas foram amostrados por meio da obtenção de aproximadamente 10 discos por folíolo, com 5,0 mm de diâmetro cada um. Os discos assim obtidos foram submetidos à lavagem vigorosa com solução salina estéril 0,89% para remoção da flora transitória. Após serem submetidos à técnica da lavagem (Harley e Waid, 1955), os discos foram aplicados sobre a superfície do ágar nutriente e incubados por 24-48 horas a 37°C. As bactérias isoladas foram identificadas preliminarmente por meio da avaliação da morfologia colonial (tamanho, bordas, elevações, pigmentações e detalhes óticos) e das propriedades morfo-tintoriais (Parkinson et al., 1971; Pelczar Jr. et al., 1997). A identificação prévia dos principais grupos de bactérias foram realizadas pelas seguintes provas bioquímicas: catalase, oxidase, glicose, nitrato e mobilidade (Holt et al., 1994). Outras provas bioquímicas complementares foram utilizadas para identificação dos microrganismos pertencentes à família Enterobacteriaceae: citrato, fenilalanina desaminase, uréia, lisina descarboxilase, prova do vermelho de metila, Voges-Proskauer, indol e malonato.

Resultados e discussão

Durante o período de janeiro a dezembro de 1994, foram isoladas 445 amostras de bactérias de folíolos de *Cedrela fissilis*. Os principais grupos de bactérias encontrados foram: *Bacillus* sp (42%), enterobactérias (31%), *Cellulomonas* sp (12%), *Pseudomonas* sp (6%), *Chromobacterium* sp (1%) e *Acinetobacter* sp (1%). A Tabela 1 apresenta os microrganismos isolados dos folíolos do cedro submetidos ao processo de decomposição durante 12 meses, a partir de fevereiro de 1994. Nesse período, houve, inicialmente uma predominância de bactérias pertencentes ao gênero *Bacillus*. Entretanto, no transcorrer do processo de decomposição houve redução na ocorrência das bactérias desse gênero, especificamente, no mês de agosto, justamente quando houve uma acentuada diminuição da precipitação e da umidade relativa (Tabela 2). Apesar dessa redução, o gênero *Bacillus* manifestou a mais

alta frequência entre as bactérias associadas aos diversos estágios de decomposição do *litter*, sendo assim, de magna importância no subsistema solo-serrapilheira (Tabela 3). Adicionalmente, observou-se o aumento da população bacteriana pertencente ao gênero *Cellulomonas*, de acentuada ação celulolítica; contudo, no último mês de estudo, pela diminuição do substrato celulósico, houve uma redução desse microrganismo.

Os resultados obtidos mostram que não houve diferença nos tipos de bactérias isoladas nos diferentes pontos escolhidos no interior da mata. A decomposição do material realizada por fungos pode ser mais rápida em alguns pontos do que em outros, em virtude da variação das condições ambientais (Gusmão *et al.*, 1995).

Ao longo do processo de decomposição, não houve variação na ocorrência das enterobactérias em relação aos outros grupos de microrganismos; porém, uma alteração quantitativa dos diferentes gêneros incluídos nessa família foi verificada. Nos meses de fevereiro, abril e dezembro, houve predominância de *Enterobacter sp.*, com uma presença pouca significativa de *Erwinia sp.* Entretanto, no período correspondente aos meses de junho, agosto e outubro, houve aumento no número de bactérias do gênero *Erwinia* e diminuição de *Enterobacter* (Tabela 1). Segundo Gyllenberg e Eklun (1974), bactérias do gênero *Erwinia* são organismos que colonizam e decompõem material vegetal, sendo que alguns deles apresentam características pectinolíticas. *Enterobacter* ocorre com frequência na natureza e parece ser ativo decompositor de compostos orgânicos complexos. A colonização microbiana das folhas jovens inicia-se com bactérias componentes do filoplano. Logo após a abscisão foliar, ocorre um considerável aumento da população bacteriana em função da melhoria das condições de umidade, quando ocorre uma ampla

invasão dos restos vegetais por bactérias do solo, comumente não presentes no filoplano (Jensen, 1974). Embora as bactérias sejam capazes de degradar vários compostos orgânicos poliméricos e estejam largamente espalhadas na natureza, condições ambientais podem limitar essa atividade.

Segundo Gusmão *et al.* (1995), em mata tropical subcaducifólia de planalto, ocorre uma considerável diversidade genérica de fungos em atividade nas folhas de *Cedrela fissilis* e *Aspidosperma polyneuron*. Estudos realizados na Índia com *Cymbopogon caesius* também comprovam predominância inicial de numerosos *Hyphomycetes* no *litter* que, ao longo do processo de decomposição, leva a uma alteração nas espécies de fungos presentes (Senthilkumar *et al.*, 1993). Durante o período avaliado, foi verificado uma diversidade nos tipos de bactérias envolvidas no processo de decomposição dos folíolos de *Cedrela fissilis*. *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Pseudomonas* e *Ledercia* foram os gêneros dominantes; já os gêneros *Buttiauxela*, *Citrobacter*, *Erwinia*, *Escherichia* e *Klebsiella* apresentaram frequência do tipo classe comum. Por outro lado, a presença dos gêneros *Arsenophonus*, *Leminorella*, *Serratia* e *Shigella* foram raros. À medida que a decomposição prossegue, ocorre uma alteração da composição microbiana, o que também aumenta a possibilidade de inter-relações sinérgicas e antagonísticas entre os diferentes organismos envolvidos e, além disso, parte das bactérias são decompostas pelas próprias bactérias e parte sofre autólise.

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que bactérias exercem um papel importante no processo de decomposição das folhas de cedro e que, entre as bactérias, o gênero *Bacillus* desempenha papel predominante na degradação do *litter* de *Cedrela fissilis* em todos os estágios, além de evidenciar um padrão de sucessão da flora bacteriana durante o período de decomposição.

Tabela 1. Número e tipos de bactérias nos folíolos de *Cedrela fissilis* Vell. coletados no Horto Florestal de Maringá

Gêneros	Nº de bactérias em cada amostra								Total
	Verdes	Recém Caídas	Fevereiro	Abril	Junho	Agosto	Outubro	Dezembro	
<i>Bacillus sp</i>	25	14	35	26	29	9	21	27	186
<i>Cellulomonas sp</i>	0	5	5	4	4	10	19	7	54
<i>Enterobacter sp</i>	1	0	18	15	3	3	0	10	50
<i>Pseudomonas sp</i>	3	3	4	0	5	2	5	3	25
<i>Erwinia sp</i>	2	0	1	3	7	8	0	0	21
<i>Citrobacter sp</i>	0	0	4	3	1	0	6	2	16
<i>Klebsiella sp</i>	2	1	4	0	1	0	3	3	14
<i>Ledercia sp</i>	0	0	3	1	1	3	2	3	13
<i>Buttiauxela sp</i>	0	0	1	1	3	1	3	0	9
<i>Escherichia sp</i>	0	0	0	1	1	1	2	2	7
<i>Chromobacterium sp</i>	1	0	2	0	0	1	0	1	5
<i>Acinetobacter sp</i>	2	0	0	2	0	0	0	0	4
<i>Serratia sp</i>	0	0	0	0	3	0	0	0	3
<i>Salmonella sp</i>	0	0	0	0	0	0	1	2	3
<i>Leminorella sp</i>	1	0	1	0	0	0	0	0	2
<i>Cytophaga sp</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>Shigella sp</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Arsenophonus sp</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Não identificados	3	7	8	2	1	5	4	0	30
Total	41	31	86	58	59	44	66	60	445

O menor desenvolvimento das populações bacterianas, verificado na Tabela 1, referente à coleta do mês de agosto, confirma a tendência geral de redução das atividades na época mais seca do ano (Tabela 2).

Tabela 2. Médias mensais de precipitação, temperatura e umidade relativa do ar referente ao período de dezembro/93 a janeiro/95

Mês/ano	Precipitação (mm)	Temperatura (°C)	Umidade relativa do ar (%)
dezembro/93	274,2	25,74	70,2
janeiro/94	260,9	25,20	72,5
fevereiro/94	155,3	25,87	77,0
março/94	100,5	24,59	70,8
abril/94	90,4	23,71	70,0
maio/94	51,1	21,65	70,7
junho/94	189,5	18,99	69,7
julho/94	52,1	20,09	59,8
agosto/94	0,2	22,45	48,4
setembro/94	48,7	25,13	49,4
outubro/94	123,1	25,28	62,3
novembro/94	124,9	25,51	61,3
dezembro/94	196,2	26,64	67,2
janeiro/95	360,4	25,29	80,6

Registros da Estação Climatológica da Universidade Estadual de Maringá

Tabela 3. Frequência da microflora bacteriana associada à decomposição do "litter" de *Cedrela fissilis*

	Frequência (%)
<i>Acinetobacter sp</i>	28,6*
<i>Bacillus sp</i>	100
<i>Cellulomonas sp</i>	85,7
<i>Chromobacterium sp</i>	57,1
<i>Pseudomonas sp</i>	85,7
<i>Arsenophonus sp</i>	14,3
<i>Buttiauxella sp</i>	71,4
<i>Citrobacter sp</i>	71,4
<i>Enterobacter sp</i>	85,7
<i>Ervinia sp</i>	71,4
<i>Escherichia sp</i>	71,4
<i>Klebsiella sp</i>	71,4
<i>Ledercia sp</i>	85,7
<i>Leminorella sp</i>	14,3
<i>Salmonella sp</i>	28,6
<i>Serratia sp</i>	14,3
<i>Shigella sp</i>	14,3

* Classes: raros (1 a 20%); ocasional (21 a 40%); freqüente (41 a 60%); comum (61 a 80%); dominante (81 a 100%) (Senthilkumar et al., 1993)

Referências bibliográficas

- Goodfellow, M.; Cross, T. Actinomycetos. In: Dickinson, C H.; Pugh, G.J.F. *Biology of plant litter decomposition*. London: Academic Press, 1974. p.269-302. v.2.
- Grant, W.D.; Long, P.E. *Microbiologia Ambiental*. Zaragoza: Acribia, 1989. p. 222.
- Gusmão, L.F.P.; Schwan-Estrada, K.R.F.; Santos, V.D. Fungos associados à decomposição de folhas de *Aspidosperma polyneuron* Mull. Arg. e de *Cedrela fissilis* Vell. In: SBSP, 9, 1995. Ilha Solteira. *Anais...* Ilha Solteira: UNESP, 1995. p.61-65.

- Gyllenberg, H.G.; Eklun, E. Bacteria. In: Dickinson, C.H.; Pugh, G.J.F. *Biology of plant litter decomposition*. London: Academic Press, 1974. p.245-268. v.2.
- Harley, J.L.; Waid, J.S. A method of studying active mycelia on living roots and other surfaces in the soil. *Transact. Brit. Mycol. Soc.*, 38:104-118, 1955.
- Holt, J.G.; Krieg, N.R.; Sneath, P.H.A.; Staley, J.T.; Williams, S.T. *Bergeys manual of determinative bacteriology*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. p.487.
- Inoue, M.T.; Roderjan, C.V.; Kuniyoshi, S.Y. *Projeto madeira do Paraná*. Curitiba. Fundação de pesquisas florestais do Paraná, 1984. p.86-91.
- INSTITUTO AGRÔNOMICO DO PARANÁ. *Cartas climáticas básicas do Estado do Paraná*. Londrina: IAPAR, 1994. 49p.il.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Manual técnico da vegetação brasileira*. Rio de Janeiro: IBGE, 1992. 92p.
- INSTITUTO DE TERRAS, CARTOGRAFIA E FLORESTAS. Atlas do Estado do Paraná. Secretária do Estado da Agricultura e do Abastecimento. Curitiba: ITCF, 1987. Mapas
- Jensen, V. Decomposition of angiosperm tree leaf litter. In: Dickinson, C H.; Pugh, G.J.F. *Biology of plant litter decomposition*. London: Academic Press, 1974. p. 69-104. v.1.
- Mainieri, C.; Peris, J.C. *Fichas de características das madeiras*. São Paulo: Instituto de Pesquisas Tecnológicas, 1989. p.129.
- Parkinson, D.; Gray, T.R.G.; Williams, S.T. *Methods for studying the ecology of soil micro-organism*. London: Blackwell Scientific Publications, 1971. p.116.
- Pelczar Jr, M.J.; Chan, E.C.S.; Krieg, N.R. *Microbiologia: conceitos e aplicações*. 2.ed., São Paulo: McGraw-Hill Inc., 1997. p.524. v.1.
- Pugh, G.J.F. Terrestrial fungi. In: Dickinson, C.H.; Pugh, G.J.F. *Biology of plant litter decomposition*. London: Academic Press, 1974. p.303-336. v. 2.
- Rizzini, C.T.; Mors, W.B. *Botânica econômica brasileira*. São Paulo. Editora Pedagógica e Universitária e Universidade de São Paulo, 1976. p.120-121.
- Senthilkumar, K.; Udaiyan, K.; Manian, S. Successional pattern of mycoflora associated with litter degradation in a *Cymbopogon caesius*-dominated tropical grassland. *Trop. Grassl.*, 27:121-127, 1993.
- Siqueira, J.O.; Moreira, F.M.S.; Grisi, B.; Hungria, M.; Araujo, R.S. Microrganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental. Brasília: EMBRAPA, 1994. 142p.

Received 01 December 1997.

Accepted 23 May 1998.