

## INTRODUÇÃO

Os *Paenibacillus* são bactérias aeróbias ou facultativamente anaeróbias e formadoras de endósporos de resistência ao estresse, encontrados em diversos ambientes, tais como solo, água e rizosferas de diferentes plantas. Muitas espécies podem promover diretamente o crescimento vegetal por meio da fixação biológica do nitrogênio atmosférico, produção de fitormônios e liberação de sideróforos para captação de ferro. Atualmente, existem mais de duzentas espécies descritas para este gênero, muitas delas fixadoras de nitrogênio, característica de grande relevância na pesquisa agrônoma. Neste trabalho, quatro bactérias diazotróficas, isoladas da rizosfera de girassol (*Helianthus annuus*), foram avaliadas quanto a características bioquímicas e fenotípicas para a descrição de uma nova espécie do gênero *Paenibacillus*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os isolados da rizosfera de girassol foram comparados com outras linhagens de *Paenibacillus*, quanto a:

- Análises bioquímicas variadas, através do cultivo microbiano em diferentes fontes de carbono e condições de crescimento.
- Análise do perfil de ácidos graxos de membrana.
- Análise da capacidade de excreção de amônia em meio semi-sólido sem nitrogênio.
- Indução da esporulação em anaerobiose, coloração de esporos e análise por microscopia de contraste de fase e varredura.
- Análise filogenética do gene 16S rRNA.
- Comparações genômicas (ANI, Average Nucleotide Identity).

Tabela 1. Características fenotípicas de P26E<sup>T</sup> e outras linhagens do gênero *Paenibacillus*: 1, P26E<sup>T</sup>; 2, *P. graminis* DSM 15220<sup>T</sup>; 3, *P. riograndensis* SBR5<sup>T</sup>; 4, *P. sonchi* X19-5<sup>T</sup>; 5, *P. jilunlii* DSM 23019<sup>T</sup>; 6, *P. polymyxa* ATCC 842<sup>T</sup>. +, resultado positivo; –, resultado negativo; ND, não determinado.

Característica	1	2	3	4	5	6
Voges-Proskauer	–	–	–	–	–	–
Catalase	+	+	+	+	+	+
Redução de nitrato	+	+	+	+	+	+
Crescimento:						
Lisozime (0,001%)	–	+	+	+	+ <sup>1</sup>	ND
3% (v/v) NaCl	–	–	+	+	–	+
5% (v/v) NaCl	–	–	–	–	–	–
Hidrólise de:						
Amido	+	–	+	–	–	+
Caseína	+	+	+	+	+	+
Produção de ácido a partir de:						
D-Glicose	+	+	+	+	+	+
D-Xilose	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	+	+
Glicerol	–	+	+	+	+	+
Manitol	–	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+
Sacarose	+	+	+	+	+	+

<sup>1</sup> Jin *et al.* (2011) IJSEM 61:1350–1355 (DOI 10.1099/ijms.0.025056-0)

Tabela 2. Comparação em pares de P26E<sup>T</sup> e seus parentes próximos (ANI, Average Nucleotide Identity).

Linhagem	P3E	P26E	P32E	P46E	Be17 <sup>T</sup>	RSA 19 <sup>T</sup>	X19-5 <sup>T</sup>
<i>Paenibacillus</i> P3E	*						
<i>Paenibacillus</i> P26E	98.67	*					
<i>Paenibacillus</i> P32E	98.70	98.76	*				
<i>Paenibacillus</i> P46E	94.67	94.67	94.80	*			
<i>P. jilunlii</i> Be17 <sup>T</sup>	84.18	84.12	84.14	83.72	*		
<i>P. graminis</i> RSA 19 <sup>T</sup>	84.12	84.07	84.13	83.57	93.02	*	
<i>P. sonchi</i> X19-5 <sup>T</sup>	83.78	83.72	83.67	83.33	93.00	91.70	*
<i>P. riograndensis</i> SBR5 <sup>T</sup>	83.54	83.43	83.46	83.24	92.43	91.42	96.09

## RESULTADOS

De acordo com a análise filogenética do gene 16S rRNA, os isolados foram agrupados em um clado distinto de outras espécies de *Paenibacillus* (Fig. 1). A ausência de produção de ácido a partir do crescimento em glicerol e manitol, assim como a ausência de crescimento na presença de lisozima (0,001%) foram as principais características diferenciais entre os isolados e as espécies-tipo relacionadas (Tabela 1). A esporulação foi induzida a partir do crescimento em anaerobiose e analisada por microscopia de contraste de fase e de varredura (Fig. 2). Análises genômicas indicam que P26E apresenta valores de ANI abaixo do limiar de 94%, fornecendo um forte embasamento para a proposta de uma nova espécie bacteriana (Tabela 2).

**PERSPECTIVAS:** Com base em uma metodologia polifásica, os dados bioquímicos e fenotípicos serão adicionados a dados de genômica comparativa para a descrição de uma nova espécie de *Paenibacillus*.

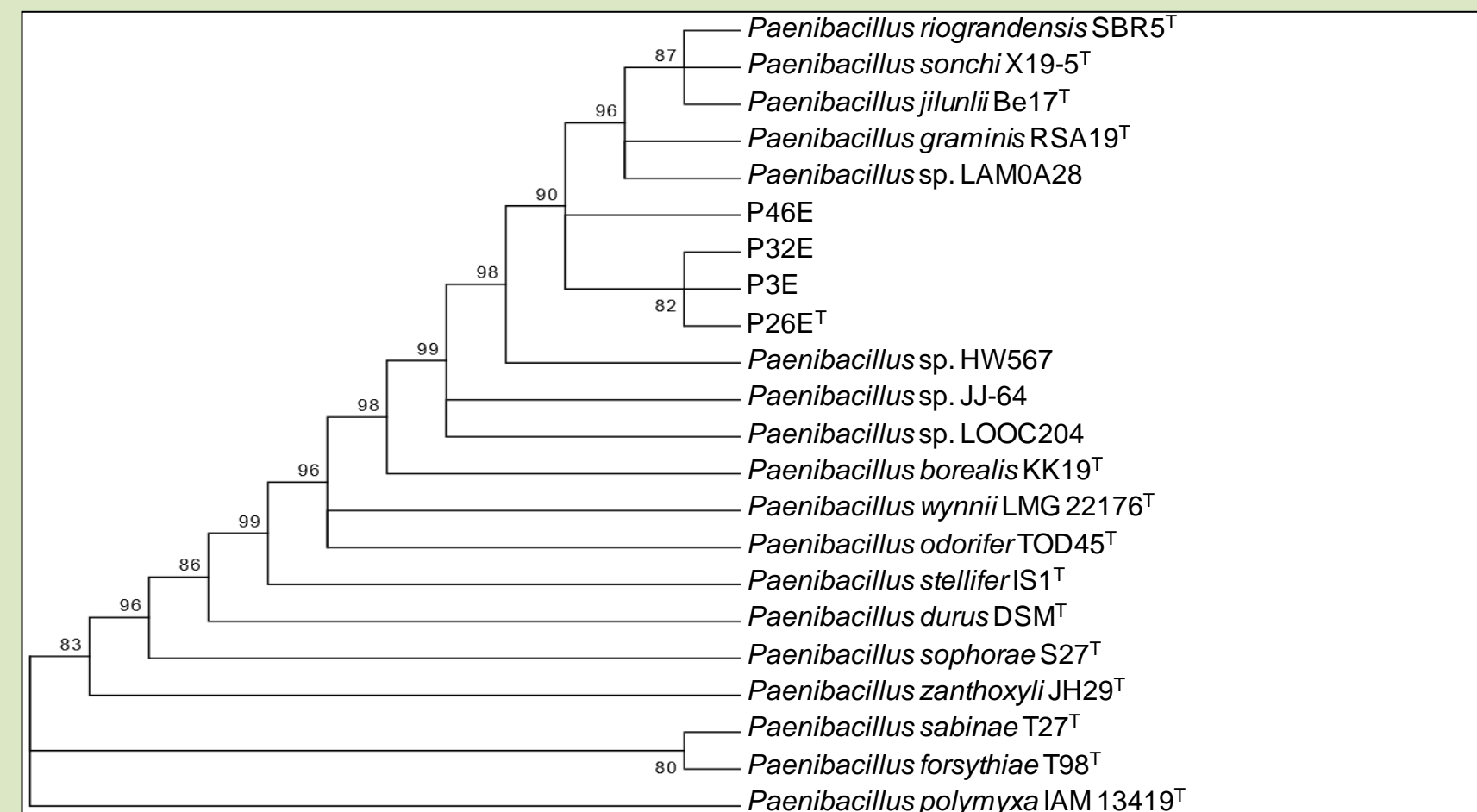


Fig. 1: Reconstrução da filogenia do gene 16S rRNA de *Paenibacillus* (método máxima verossimilhança).

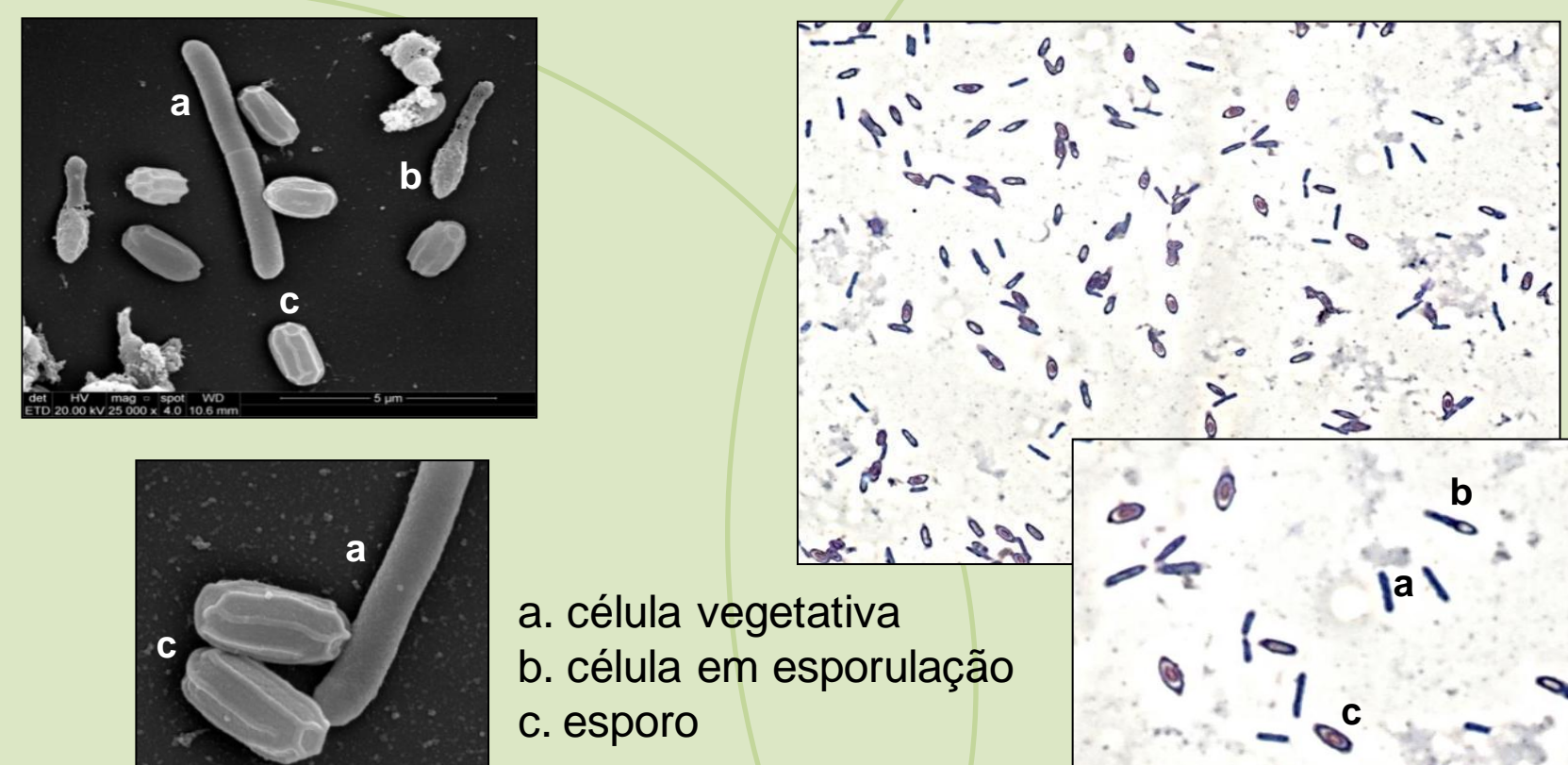


Fig. 3: Células vegetativas e endósporos da linhagem P26E<sup>T</sup>, analisados em microscopia de varredura e microscopia de contraste de fase.