

PRODUÇÃO DE HIDROLASES E SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO POR BACTÉRIAS RIZOSFÉRICAS

RODRIGO FERRAZ RAMOS¹, DANIEL JONER DAROIT^{1*}

¹Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Cerro Largo

*Autor para correspondência: Daniel Joner Daroit (djdaroit@gmail.com)

1 Introdução

Solos abrigam enorme biodiversidade, que atua na manutenção das funções dos ecossistemas. Neste sentido, os processos que ocorrem no solo são, em sua maior parte, realizados e/ou mediados pela atividade da biota. Microrganismos são os seres vivos mais abundantes nos solos, participando de forma fundamental na ciclagem de elementos e, com isso, atuando sobre a dinâmica dos nutrientes e capacidade produtiva dos ambientes terrestres (Moreira; Siqueira, 2006).

A microbiota é reconhecida, por exemplo, por sua atividade decompositora. Como a biomassa de plantas e animais é estruturalmente complexa e diversa, usualmente insolúvel e macromolecular, as etapas iniciais da decomposição requerem a produção de enzimas extracelulares, como celulasas, amilases e proteases (Burns et al., 2013). Ainda, microrganismos podem atuar na disponibilização de fósforo (P) para vegetais nos solos através de processos de solubilização do P fixado ou precipitado na forma inorgânica (Gyaneshwar et al., 2002).

2 Objetivo

Avaliar bactérias rizosféricas quanto ao potencial hidrolítico e de solubilização de fosfato inorgânico.

3 Metodologia

Amostras de solo da rizosfera de milho foram submetidas a diluições decimais em solução salina (8,5 g/L NaCl) estéril e as diluições (100 µL) foram inoculadas por espalhamento em

placas de Petri contendo Ágar Triptona de Soja. Após incubação (25 °C, 72 h), colônias distintas foram isoladas utilizando a técnica de esgotamento. Os isolados foram avaliados quanto ao perfil de coloração de Gram e morfologia celular.

A produção de celulasas foi investigada em cultivos em placas de Ágar Carboximetil Celulose e o potencial amilolítico foi avaliado em placas contendo meio de cultura sólido Ágar Amido. Após inoculação e incubação (25 °C, 96 h), as placas foram adicionadas de solução de lugol de Gram e visualizadas quanto à presença de halos transparentes ao redor das colônias, que indicam a produção de celulasas ou amilases, respectivamente.

A produção proteases foi investigada através de cultivos em Ágar Leite. Após inoculação e incubação (25 °C, 72 h), as placas foram visualizadas quanto à presença de halos transparentes ao redor das colônias bacterianas.

O potencial de solubilização de fosfato inorgânico foi avaliado em meio de cultura contendo fosfato tricálcico. Seguindo-se a inoculação e incubação (28,5 °C, 10 dias), as placas foram visualizadas quanto à presença de halos transparentes ao redor das colônias.

4 Resultados e Discussão

Trinta isolados bacterianos foram obtidos a partir de solo rizosférico de milho. Destes, 60,0% apresentaram morfologia de bastonete e 40,0% apresentaram-se como cocos. Em relação à coloração de Gram, 66,7% dos isolados foram classificados como Gram-positivos e 33,3% como Gram-negativos. Dos isolados com forma de bastonetes, 72,2% demonstraram perfil tintorial Gram-positivo; enquanto que os isolados com forma de coco, 58,3% apresentaram perfil de coloração Gram-positivo. O número e diversidade de bactérias são usualmente afetados pelas características intrínsecas do solo, tipos de vegetação, práticas de manejo adotadas e também condições climáticas (Silva; Nahas, 2002).

Vinte e nove isolados foram submetidos à caracterização funcional em meios de cultura sólidos, visto que, após repiques sucessivos, um isolado não mais se desenvolveu. Através das abordagens experimentais utilizadas, a maioria dos isolados (28; 96,5%) apresentou pelo menos uma das atividades avaliadas. Especificamente, 68,9% das bactérias apresentaram atividade proteolítica, 65,5% atividade celulolítica, 24,1% solubilização de fosfato inorgânico, e atividade amilolítica foi observada para 20,7% dos isolados.

A redundância funcional é característica importante no âmbito da estabilidade dos

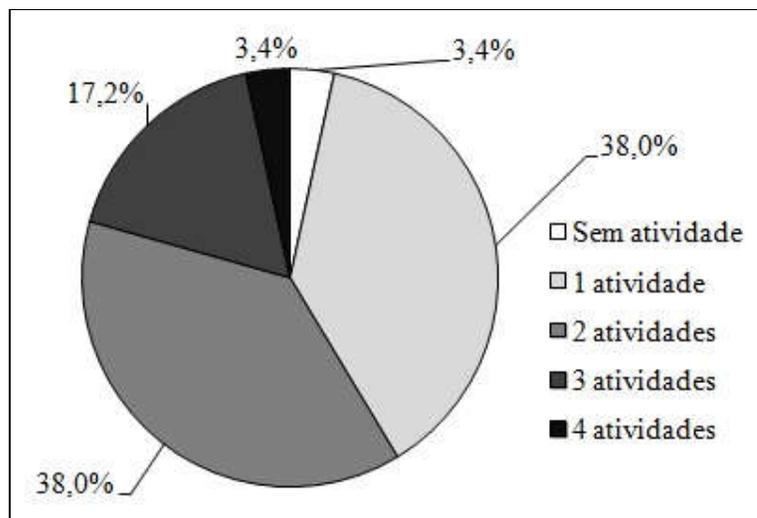
ecossistemas. Microrganismos celulolíticos e amilolíticos são reconhecidos pela participação na degradação de biomassa vegetal, enquanto que o potencial proteolítico de microrganismos é importante propriedade vinculada à disponibilização de NH_4^+ nos solos (Moreira; Siqueira, 2006). A produção zonas de solubilização de fosfato tricálcico em placas indica a capacidade dos microrganismos em dissolver material fosfático ou quelar cátions que acompanham o ânion fosfato (Gyaneshwar et al., 2002).

Os resultados da triagem funcional realizada são sumarizados na Figura 1. Onze isolados (38%) apresentaram somente uma das atividades investigadas, sendo que sete (63,3%) demonstraram atividade celulolítica e quatro (36,4%) apresentaram atividade proteolítica. As outras 17 bactérias (58,6%) apresentaram pelo menos duas das atividades avaliadas (Figura 1). Considerando estes 17 isolados, um (5,9%) apresentou atividade proteolítica + amilolítica; cinco (29,4%) apresentaram atividade proteolítica + celulolítica; quatro (23,5%) apresentaram atividade proteolítica + solubilização de fosfato inorgânico; um (5,9%) apresentou atividade celulolítica + solubilização de fosfato inorgânico; quatro (23,5%) apresentaram atividade proteolítica + celulolítica + amilolítica; um (5,9%) apresentou atividades proteolítica + celulolítica + solubilização de fosfato inorgânico; e um (5,9%) demonstrou as quatro atividades combinadas. A detecção de atividades combinadas indica a potencial versatilidade fisiológica dos microrganismos, sugerindo, por exemplo, a capacidade em utilizar diferentes substratos orgânicos no solo (Sanomiya; Nahas, 2003).

5 Conclusão

Avaliações relativas à funcionalidade da microbiota podem possibilitar melhor compreensão da dinâmica e manutenção dos processos relacionados à qualidade e sustentabilidade do solo. A prospecção funcional também pode indicar microrganismos e enzimas relevantes para aplicações agrícolas e biotecnológicas.

Figura 1. Síntese da bioprospecção funcional realizada para os isolados bacterianos obtidos a partir da rizosfera de milho. Detalhes são fornecidos no texto.



Palavras-chave: Solo rizosférico; Microrganismo; Enzima; Solubilização de fosfato.

Fonte de Financiamento

PRO-ICT/UFFS

Referências

- BURNS, R. G. et al. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 58, p. 216-234, 2013.
- GYANESHWAR, P. et al. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 245, n. 1, p. 83-93, 2002.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2 ed. Lavras: UFLA, 2006.
- SANOMIYA, L. T.; NAHAS, E. Microrganismos produtores de hidrolases envolvidos nas transformações dos compostos do carbono e do nitrogênio do solo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 5, p. 835-842, 2003.
- SILVA, P.; NAHAS, E. Bacterial diversity in soil in response to different plants, phosphate fertilizers and liming. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 33, n. 4, p. 304-310, 2002.