

## CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE VERMICOMPOSTO DE ESTERCO BOVINO: PRODUÇÃO DE FOSFATASES, AMILASES E LIPASES

**ROCHA, Dediel J.A.<sup>1,2</sup>; CARDOSO, Guilherme<sup>1,2</sup>; MENESES, Priscila R<sup>1,2</sup>; WILLE, Caroline N<sup>1,3</sup>; COILA, Vitor H.C<sup>1,3</sup>; MOURA, Andréa B<sup>1,4</sup>.**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas; <sup>2</sup>Mestrando em Fitossanidade, bolsista Capes; <sup>3</sup>Doutorando em Fitossanidade, bolsista Capes; <sup>4</sup>Professora bolsista em Produtividade em Pesquisa CNPq; dedielrocha@hotmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

Os microrganismos estão diretamente associados à qualidade ambiental, tanto pelo seu papel fundamental na manutenção dos ecossistemas, como pela sua sensibilidade a perturbações no ambiente em que vivem, sendo de grande interesse agrônomo, principalmente em sistemas de produção de base ecológica.

O uso de métodos moleculares pode fornecer respostas às perguntas sobre diversidade de microrganismos. Entretanto, apesar da contribuição das novas ferramentas, as técnicas tradicionais são importantes para o conhecimento da capacidade metabólica e das características fenotípicas de microrganismos.

Depois do nitrogênio (N), o fósforo (P) é o nutriente que mais limita o crescimento das plantas e microrganismos, apesar de presente nos solos em formas orgânicas e inorgânicas. No solo, o fósforo é sujeito a inúmeros processos que alteram sua disponibilidade. Entre esses processos, destaca-se a dissolução de fosfatos por microrganismos, que o torna disponível para as plantas.

Alguns microrganismos presentes nos solos, como bactérias e fungos, possuem papel importante no ciclo natural de P, sendo responsáveis pela hidrólise de compostos fosfatados para a forma inorgânica, tornando-se disponível para as plantas, sendo estes processos mediados por enzimas fosfatases. As bactérias solubilizadoras de fósforo atuam sobre o fosfato insolúvel através de enzimas fosfatases, principalmente fosfatases ácidas, produzindo ácidos e/ou reduzindo o pH, tornando então, o fosfato disponível para as plantas (RODRIGUÉZ et al., 2000).

Nas células vegetais o amido é um polímero de glicose que constitui o principal polissacarídeo de reserva energética. Muitos microrganismos produzem enzimas amilases, que degradam esses polímeros em moléculas de glicose diretamente utilizáveis nas atividades metabólicas celulares. As lipases constituem um importante grupo de enzimas que estão associadas ao metabolismo de lipídeos. São amplamente distribuídas na natureza, sendo encontradas em animais, vegetais e microrganismos. As lipases são enzimas que catalisam a hidrólise do triacilglicerol a diacilglicerol, monoacilglicerol, glicerol e ácidos graxos livres (CARVALHO et al., 2003).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de bactérias isoladas a partir de vermicomposto de esterco bovino, de produzir fosfatases, amilases e lipases.

### 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 42 bactérias isoladas de vermicomposto de esterco bovino pertencentes à coleção do Laboratório de Bacteriologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas.

2.1 Avaliação da capacidade solubilização de fosfato (fosfatases)

Para testar a capacidade de solubilização de fosfato, 42 bactérias foram repicadas, em pontos distribuídos em placa de Petri contendo meio de cultura com TSA 1/10 acrescido de solução de fosfato de cálcio ( $\text{CaHPO}_4$ ) como fonte de fosfato (adaptado de MARIANO e SILVEIRA, 2005). Aos sete dias de incubação a 28 °C foi avaliado a presença de halo formado em volta da colônia de cada bactéria. A formação de halo foi considerada um indicativo da solubilização de fosfato pela bactéria no meio em estudo.

## 2.2 Atividade amilolítica

As bactérias foram repicadas em pontos distribuídos na placa de Petri em meio Agar amido. As placas foram incubadas a 28 °C por cinco dias. Após o crescimento das colônias, foram adicionados 5 mL de uma solução de iodo (Lugol) sobre a placa de Petri. A presença de um halo incolor em torno das colônias indicou a produção de amilases (MARIANO e SILVEIRA, 2005).

## 2.3 Atividade lipolítica

A atividade lipolítica foi avaliada através da repicagem das bactérias para placa de Petri contendo meio de cultura de Tween 80. As placas foram incubadas a 28 °C por cinco dias. A presença de um precipitado ao redor das colônias indicou a capacidades das bactérias hidrolisarem lipídios (MARIANO e SILVEIRA, 2005).

# 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As bactérias testadas mostraram atividade para as diferentes enzimas avaliadas. Para o teste de amilases, 72% das bactérias foram positivas. Em relação à atividade lipolítica, 73% das bactérias avaliadas mostraram atividade positiva. Um total de 23 bactérias (59%) apresentou resultado positivo tanto para amilases quanto para lipases (Figura 1).



Figura 1. Percentual de isolados positivos para os diferentes testes enzimáticos.

Das 42 bactérias testadas apenas duas, DFs1423 e DFs2418, apresentaram resultados positivos para o teste de solubilização de fosfato inorgânico, resultando em halo de solubilização em volta da colônia bacteriana (Tabela 1).

Tabela 1. Atividade enzimática de bactérias isoladas de vermicomposto de esterco bovino.

Isolado	Fosfatases	Amilases	Lipases
DFs1296	- <sup>1</sup>	+	+
DFs1315	-	+	+
DFs1414	-	+	-
DFs1420	-	-	-
DFs1421	-	-	+
DFs1423	+	-	+
DFs2220	-	+	+
DFs2397	-	-	+
DFs2398	-	-	-
DFs2399	-	+	+
DFs2400	NC <sup>2</sup>	+	+
DFs2401	-	+	-
DFs2402	-	+	-
DFs2403	NC	-	+
DFs2404	-	NC	+
DFs2405	NC	-	+
DFs2406	-	+	+
DFs2407	-	+	+
DFs2408	-	+	-
DFs2410	-	+	+
DFs2411	-	+	+
DFs2412	-	-	-
DFs2413	NC	+	+
DFs2414	-	+	+
DFs2415	-	-	-
DFs2416	-	+	+
DFs2417	NC	+	+
DFs2418	+	NC	NC
DFs2419	-	+	+
DFs2421	-	+	+
DFs2422	-	+	+
DFs2423	-	+	-
DFs2424	-	+	+
DFs2425	-	+	+
DFs2426	-	NC	+
DFs2427	-	+	+
DFs2428	NC	+	+
DFs2429	NC	-	-
DFs2430	NC	+	+
DFs2431	-	+	+
DFs2432	-	+	+

<sup>1</sup>(+)= presença de halo; (-)= ausência de halo; <sup>2</sup>NC= colônia não cresceu

A solubilização de fosfato de cálcio (Figura 2) pelas bactérias DFs1423 e DFs2418, pode ser um indicativo do potencial destas como organismos benéficos, promotores de crescimento de plantas. Entretanto, as bactérias que apresentaram

resultados negativos, não significa que estas não possam solubilizar fosfato. Pois, segundo Alten et al., *apud* Arduim (2006), diversos microrganismos são capazes de solubilizar diferentes formas de fosfato.



Figura 2. Colônias com halos, indicando atividade amilolítica (a); lipolítica (b); e solubilização de fosfato (c).

Nematóides fitopatogênicos tem lipídios como composto de reserva em seus ovos e juvenis e a capacidade de sobrevivência destes depende da quantidade de lipídios acumulados (WRIGHT e PERRY, 2006). A produção de lipases pode ser considerada um indicativo de habilidade de exaurir reservas lipídicas dos ovos e de juvenis de nematóides fitopatogênicos e portanto, reduzir a capacidade destes de sobreviver.

Em relação à produção de enzimas amilases e lipases 23 isolados mostraram positivos para ambas as enzimas, mostrando que estes isolados também apresentam potencial de serem testados em futuros ensaios como agentes antagonistas de patógenos de plantas. Além de conferir habilidade competitiva aos possíveis agentes de controle biológico, a produção de enzimas de origem microbiana tem despertado um grande interesse da indústria de biotecnologia (JAEGER e EGGERT, 2002).

#### 4. CONCLUSÕES

As bactérias avaliadas isoladas de vermicomposto produzem fosfatases, amilases e lipases e tem potencial para serem avaliadas em futuros ensaios visando a promoção de crescimento de plantas e/ou controle biológico de fitopatógenos.

#### 5. REFERÊNCIAS

- ARDUM, G.S. **Utilização e caracterização biológica de rizobactérias como biocontroladoras de *Meloidogyne incognita* e promotoras de crescimento de em figueira**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas, 2006, 65p.
- CARVALHO, P.O.; CAMPOS, P.R.B.; NOFFS, M.A.; OLIVEIRA, J.G.; SHIMUZU, M.T.; SILVA, D.M. Aplicação de lipases microbianas na obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados. **Química Nova**, v. 26, p. 75-80, 2003.
- JAEGER, K.E.; EGGERT, T. Review: lipases for biotechnology. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 13, p. 390-397, 2002.
- MARIANO, R.L.R; SILVEIRA, E.B. **Manual de práticas em fitobacteriologia**. Recife: UFRPE, 2005, 184p.
- RODRIGUEZ, H.; GONZALEZ, T., SELMAN, G. Expression of a mineral phosphate solubilizing gene from *Erwinia herbicola* in two rhizobacterial strains. **Journal of Biotechnology**, v. 84, p.155-161, 2000.
- WRIGHT, D.J.; PERRY, R.N. Reproduction, physiology and biochemistry. In: PERRY, R.N.; MOENS, M. (eds). **Plant Nematology**. Wallingford: CABI, 2006. pp. 185-202.