

Seleção de Bactérias Solubilizadoras de Fosfato Inorgânico, Presentes em Líquido Ruminal Bovino

Screening of Inorganic Phosphate Solubilizing Bacteria on Bovine Ruminal Contents

SHIOMI, Humberto Franco. UNICENTRO, hfsihiomi@yahoo.com.br
VICENSI, Marcelo. UNICENTRO, marcelo_vicensi@hotmail.com
DEDORDI, Cássio. UNICENTRO, chalera26@hotmail.com
OLIARI, Íres Cristina Ribeiro. UNICENTRO, irescristina21@hotmail.com

Resumo

No presente trabalho realizou-se uma seleção de isolados bacterianos presentes em líquido ruminal bovino, com habilidade metabólica de solubilizar duas fontes diferentes de fosfato inorgânico (fosfato de Al e fosfato de Ca), em testes *in vitro*. Para o isolamento foi utilizado o método da diluição seriada até 10^{-4} e plaqueamento em meio extrato de levedura (EL), suplementado, de forma individual, com as fontes de fosfato inorgânico. A seleção foi realizada por análise visual, pela observação da presença de um halo transparente ao redor da colônia. Foram selecionados cinco isolados com habilidade metabólica para solubilizar fosfato de cálcio e seis para fosfato de alumínio. Os isolados mais promissores foram multiplicados e armazenados para utilização futura, pela microbiolização de sementes com esses isolados, para verificação de solubilização de fosfato presente em pó de basalto e promoção de crescimento vegetal.

Palavras chave: Promoção de crescimento vegetal, solubilização de fosfato.

Abstract

In this work was realized a screening of bacterial strains in bovine ruminal contents, with metabolic ability to solubilize two different sources of inorganic phosphate (aluminium phosphate and calcium phosphate) in in vitro assessments. To the isolation was used the method of serial dilution until 10^{-4} and plating in yeast extract (EL) medium, supplemented individually, with the sources of inorganic phosphate. The screening was realized by visual analysis, watching the presence of a transparent circle around the colony. Was selected five strains with metabolic ability to solubilize calcium phosphate and six to aluminum phosphate. The most promising strains were multiplied and stored for future use by seeds microbiolization with the incorporation of basalt powder in substrate of planting for verification of phosphate solubilization and plant growth promotion.

Keywords: Plant growth promotion, phosphate solubilization

Introdução

O fósforo é um nutriente essencial que se encontra em baixa disponibilidade para as plantas nos solos tropicais, que apresentam, com frequência, alta capacidade de fixação desse nutriente, devido à abundância de óxi-hidróxidos de ferro e alumínio, formando fosfatos estáveis (EIJK, 1997).

Para que as culturas de interesse econômico obtenham alta produtividade, é necessário que esse elemento seja incorporado em grandes quantidades, elevando o custo de produção.

A região de Guarapuava, na região Centro-Sul do Estado do Paraná, é caracterizada por apresentar os menores índices de desenvolvimento humano municipal (IDH-M), além das menores medianas de frequência escolar e de renda (IPARDES, 2003). No município de Guarapuava, a agricultura familiar ocupa cerca de 41% da área total, no qual se realiza o cultivo agrícola com baixo índice tecnológico, com baixo índice tecnológico e no qual apenas 58% destes agricultores

utilizam fertilizantes para a nutrição vegetal (FÁVARO et al., 2004).

É conhecida a capacidade de microrganismos em solubilizar fosfatos de rocha, os quais vem recebendo a atenção dos pesquisadores, principalmente, pela possibilidade de seu emprego em programas de interação com microrganismos fixadores de N_2 (NAHAS, 1999; SANTOS, 2002). Entre os gêneros de bactérias mais eficientes na solubilização de fosfatos inorgânicos destacam-se isolados de *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Rhizobium* (RODRIGUEZ; FRAGA, 1999), enquanto nas populações fúngicas destacam-se os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* (SILVA FILHO et al., 2002), além de *Penicillium rugulosum* (REYES et al., 1999) e *Penicillium radicum*, na solubilização de $Ca_3(PO_4)_2$, $CaHPO_4$, $FePO_4 \cdot 4H_2O$ e $AlPO_4$ em meio líquido (WHITELAW et al., 1999).

Sabe-se que no sistema digestório dos ruminantes se encontra uma ampla e complexa população de microrganismos, entre elas, de bactérias e de protozoários (EZEQUIEL et al., 2001), que transformam e sintetizam os alimentos durante o processo de digestão fermentativa (MARTIN et al., 1994).

Assim, o presente trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência e selecionar isolados de bactéria solubilizadoras de fosfato inorgânico presentes em líquido ruminal bovino, através de testes *in vitro*, visando a sua utilização futura na promoção do crescimento vegetal de culturas de interesse econômico.

Metodologia

Coleta e preparo do líquido ruminal bovino - O líquido ruminal utilizado foi coletado junto ao Departamento de Medicina Veterinária da Unicentro, campus de Guarapuava-PR, de um bovino da raça Jersey, macho, com dois anos de idade e alimentado com um volumoso a base de silagem de milho e pastagem (aveia e azevém). O líquido ruminal foi coletado através de sonda e bomba de sucção a vácuo e filtrado em gaze, de forma asséptica e utilizado no teste em laboratório.

Isolamento de bactérias solubilizadoras de fosfato inorgânico – Para o isolamento da comunidade bacteriana presente no líquido ruminal foi utilizado o método da diluição seriada até 10^{-4} e plaqueamento em meio extrato de levedura (EL). O meio de cultura foi suplementado, de forma individual, com as fontes de fosfato inorgânico (fosfato de cálcio e fosfato de alumínio), visando observar a habilidade metabólica das bactérias em solubilizar fosfato inorgânico em diferentes fontes, conforme os procedimentos descritos por Souchie et al. (2005). A seleção massal das bactérias solubilizadoras de fosfato, foi realizada por análise visual, pela observação da presença de um halo transparente ao redor da colônia, em 2 repetições por diluição e por fonte de fosfato.

As colônias mais promissoras foram isoladas e armazenadas em frascos de vidro inclinado, contendo meio EL e armazenadas sob refrigeração.

Resultados e discussão

Para a detecção dos isolados selecionados foi observada a formação de um halo transparente ao redor da colônia cultivada em meio sólido, em contraste com o meio opaco, resultados esses compatíveis com os observados por Kang et al. (2002), Kumar et al. (2001) e Souchie et al. (2005).

Do levantamento realizado, visando detectar isolados bacterianos presentes nos biofertilizantes, capazes de metabolizar fontes de fosfato inorgânico adicionados ao meio de cultura, observou-se que cinco deles apresentavam tal característica para fosfato de cálcio e seis para fosfato de alumínio.

Pode-se especular a sua utilização em testes futuros visando selecionar os que agem na promoção do crescimento vegetal, em condições de casa-de-vegetação e de campo, solubilizando fosfato proveniente de rocha fosfatada (fosfato de cálcio) e de solos ácidos (fosfato de alumínio) e disponibilizando esse elemento para os vegetais de interesse agrícola.

Por se tratar de uma seleção preliminar de isolados com potencial para utilização futura em programas de promoção de crescimento vegetal, não houve a preocupação em se estabelecer um delineamento experimental estatístico.

Conclusões

Líquido ruminal bovino apresenta populações bacterianas capazes de solubilizar fosfato inorgânico, em testes *in vitro*.

Referências

EIJK, D. van der. *Phosphate fixation and the response of maize to fertilizer phosphate in Kenyan soils*. 1997. 186 f. Dissertation (Master) – Wageningen Agricultural University, Wageningen. 1997.

EZEQUIEL, J.M.B. et al. Quantificação de bactérias sólido-aderidas, bactérias e protozoários líquido-associados do rúmen de bovinos jovens alimentados com amiréia. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 707-715, 2002.

FÁVARO, J.L.; SALVADOR, E.D.; FÁVARO JR, J.L. A presença da agricultura familiar na região de Guarapuava-PR. In: SEMANA DE ESTUDOS AGRONÔMICOS DA UNICENTRO. 12., 2004, Guarapuava. *Anais...* Guarapuava: Unicentro, 2004. p.11-19.

IPARDES. *Índice de desenvolvimento Humano Municipal – IDHM – 2000*. Anotações sobre o desempenho do Paraná. Curitiba: IPARDES, 2003. 47p.

KANG, S.C. et al. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a soilinhabiting fungus *Fomitopsis* sp. PS 102. *Current Science*, Bangalore, v. 82, n. 4, p. 439-442, 2002.

KUMAR, V.; BEHL, R.K.; NARULA, N. Establishment of phosphate-solubilizing strains of *Azotobacter chroococcum* in the rhizosphere and their effect on wheat cultivars under greenhouse conditions. *Microbiological Research*, Jena, v.156, n.1, p.87-93, 2001.

MARTIN, C.; WILLIAMS, A.G.; MICHALET-DOREAU, B. Isolation and characteristics of the Protozoal and bacterial fractions from bovine ruminal contents. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 72, n. 11, p. 2962-2968, 1994.

NAHAS, E. Solubilização microbiana de fosfatos e de outros elementos. In: SIQUEIRA, J.O.; et al. (Eds.). *Interrelação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas*. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1999. p. 467-486.

REYES, I. et al. Effect of nitrogen source on the solubilization of different inorganic phosphates by an isolate of *Penicillium rugulosum* and two UV-induced mutants. *FEMS Microbiology Ecology*, Amsterdam, v. 28, p. 281-290, 1999.

RODRIGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*, New York, v.17, p.319-339, 1999.

SANTOS, K.S. *Atuação de fosfato natural com adição de enxofre com Acidithiobacillus na*

Resumos do VI CBA e II CLAA

solubilização de fósforo e no desenvolvimento de sabiá (Mimosa caesalpiniaefolia) em solo de tabuleiro. 2002. 68 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2002.

SILVA FILHO, G.N.; NARLOCH, C.; SCHARF, R. Solubilização de fosfatos naturais por microrganismos isolados de cultivos de *Pinus* e *Eucalyptus* de Santa Catarina. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 37, p. 847-854, 2002.

SOUCHIE, E.L. et al. Solubilização de fosfatos em meios sólido e líquido por bactérias e fungos do solo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.40, n.11, p.1149-1152, 2005.

WHITELAW, M.A.; HARDEN, T.J.; HELYAR, K.R. Phosphate solubilization in solution culture by the soil fungus *Penicillium radicum*. *Soil Biology and Biochemistry*, Elmsford, v. 31, p.655-665, 1999.