



## **Avaliação da Produção de Urease por Rizobactérias Isoladas de Raízes de Bananeira**

Lidiane Magalhães Madureira, Regina Cássia Ferreira Ribeiro, Gleika Larisse Oliveira Dorasio de Souza, Adelica Aparecida Xavier, Fabíola de Jesus Silva, Cláudia Maria da Silva, Izabela Cristina Pires Gomes

### **Introdução**

O crescimento e o desenvolvimento das plantas em solos agricultáveis são influenciados por diversos fatores bióticos e abióticos. A comunidade microbiana na rizosfera é representada por populações diversificadas em estado de equilíbrio dinâmico, refletindo o ambiente físico, químico, biológico e suas relações [1]. Dentre os microrganismos que habitam a rizosfera das plantas, encontram-se as bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP). Estas bactérias habitam a rizosfera podendo exercer uma influência positiva sobre o crescimento das plantas [2].

A promoção de crescimento vegetal por estes microrganismos pode ser resultado tanto de ações indiretas, como o controle biológico por competição de nutrientes e indução de resistência sistêmica no hospedeiro, como de ações diretas, como disponibilização de nutrientes para a planta, produção de fitohormônios reguladores de crescimento vegetal e a fixação de nitrogênio atmosférico. Os microrganismos são responsáveis por diversas transformações envolvidas no processo de ciclagem de nutrientes para as plantas.

Na fixação biológica, as bactérias diazotróficas utilizam seu complexo enzimático denominado nitrogenase, para transformar o  $N_2$  em amônia, tornando-o assimilável à planta [3], desempenhando um papel relevante no processo agrícola, uma vez que em campo é utilizado como fonte de N a uréia. A hidrólise da uréia no solo é predominantemente biológica catalisada pela urease. A urease é produzida pelas plantas, microrganismos e alguns membros da fauna, sendo encontrada em quase todos os solos; hidrolisa rapidamente a ureia com liberação de  $CO_2$  e  $NH_3$ . O  $NH_3$  produzido é imediatamente oxidado a  $NO_3^-$  nos solos arenosos. A atividade da urease é um indicador da qualidade biológica do solo, sendo influenciada por inúmeros fatores como pH, teor de argila, carbono e metais pesados [4]. Assim o objetivo desse trabalho foi avaliar a produção de urease por rizobactérias isoladas de bananeira 'Prata-Anã'.

### **Material e métodos**

Este trabalho foi realizado no laboratório de Fitopatologia e Microbiologia da Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes), Campus de Janaúba- MG.

#### *A. Isolamento de rizobactérias*

Para o presente trabalho foram utilizados dez isolados de rizobactérias, oriundos da rizosfera de bananeira 'Prata-Anã' dos municípios do Norte de Minas Gerais (Tabela 1). As rizobactérias foram repicadas e mantidas em meio sólido Trypic Soy Agar (TSA) e armazenadas na bacterioteca da UNIMONTES em freezer.

#### *B. Teste de produção de urease*

Para realização do teste de urease foi utilizado o meio YS [5] composto de  $NH_2PO_4$  - 0,5g,  $K_2PO_4$  - 0,5g,  $MgSO_4$  - 0,2 g, vermelho de cresol - 0,016g, NaCl - 5,0 g ,extrato de levedura - 1,0g em 900 ml de água destilada. O meio YS foi preparado em tubos de ensaio e autoclavado. Após a esterilização foi adicionado 1 ml de uma solução estéril de uréia na concentração de 10% .

Cada bactéria teste foi inoculada nos tubos de ensaio contendo meio YS acrescido de solução de uréia. Testemunhas sem inoculação também foram utilizadas. O meio foi incubado durante sete dias em BOD a 28°C. A mudança de cor do meio para vermelho intenso a arroxeadado caracterizou a reação positiva para a hidrólise da uréia, enquanto que a reação negativa foi caracterizada quando o meio permaneceu sem alteração de cor.

### **Resultados e Discussão**

Dos isolados avaliados verificou-se que os isolados *Bacillus pumilus* - 3, *Bacillus pumilus*-10, *Paenibacillus lentimorbus*-17, *Bacillus*. sp- 36, *Bacillus pumilus*-60 e *Bacillus pumilus*-76, apresentaram atividade da enzima urease, pois alteraram a cor original do meio amarelo para um tom arroxeadado intenso. Os demais isolados foram identificados como urease negativo, já que não apresentaram coloração arroxeadada intensa e sim coloração amarelo intenso, o que provavelmente é resultado da liberação de metabólitos de caráter ácido do meio (Figura 1).

Pesquisas demonstram que a enzima urease é frequentemente encontrada em bactérias do solo. Ao estudar variados tipos de solo, Lloyd e Sheaffe [6] observaram que 30% dos isolados apresentaram a atividade da enzima urease.



Cogo [7] descreve que a molécula de uréia ao sofrer a ação da enzima urease, provoca o acúmulo de moléculas de amônia e dióxido de carbono no meio de cultura resultando na alcalinização do meio devido o aumento do pH. O teste positivo para os isolados estudados demonstrou que estes isolados apresentam potencial para quebrar a uréia em formas mais simples que podem estar prontamente assimiláveis pela planta.

## Conclusão

Seis de isolados de rizobactérias apresentam atividade de enzima urease indicando que estas podem se associar as plantas e promover o crescimento vegetal como uma estratégia no incremento da nutrição mineral de plantas.

## Agradecimentos

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado e da bolsa de incentivo à pesquisa e ao desenvolvimento tecnológico (BIPDT).

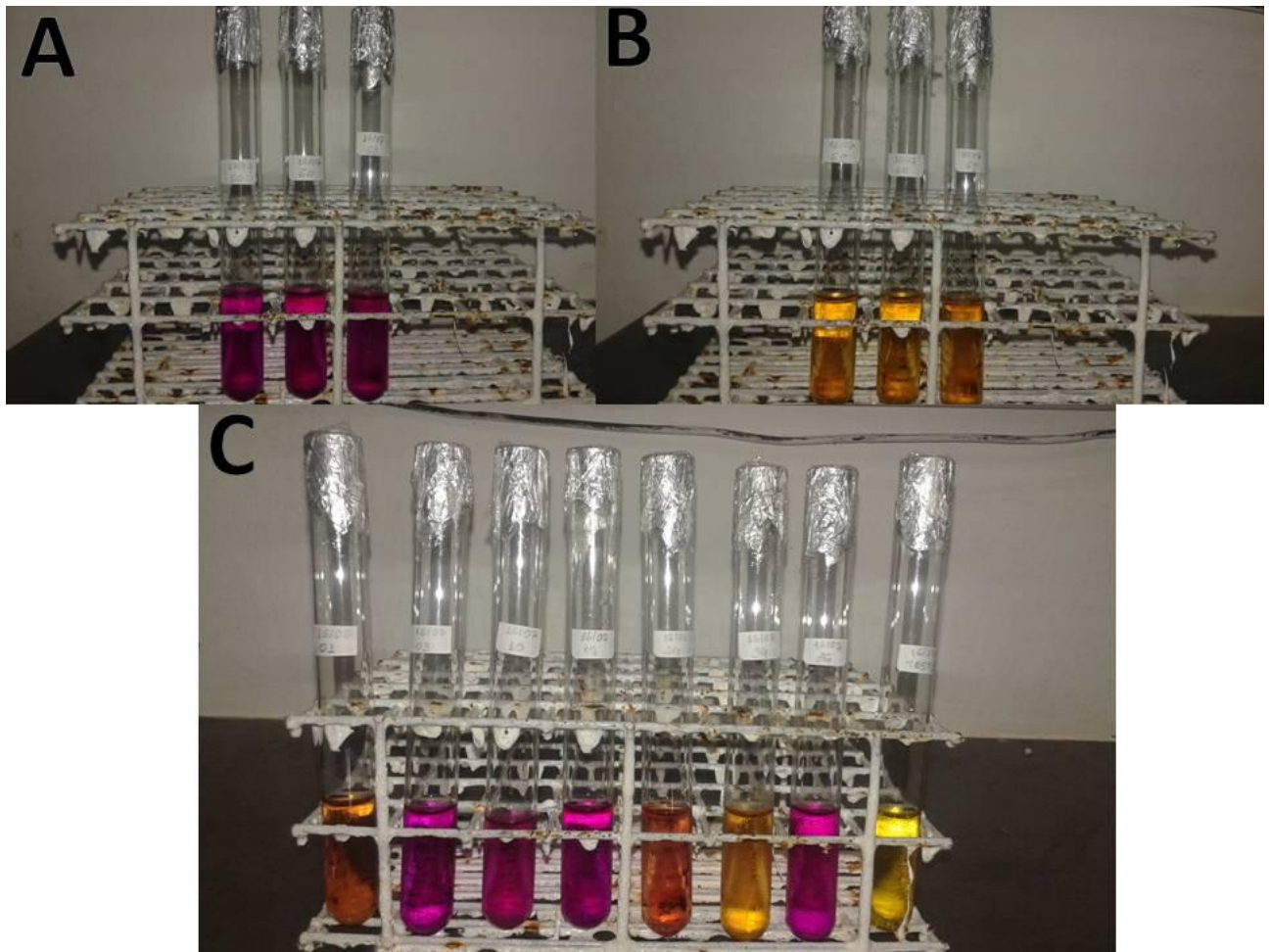
## Referências

- [1] EHRENFELD, J.G.; RAVIT, B.; ELGERSMA, K. Feedback in the plant-soil system. **Annual Review of Environment and Resources**, v.30, p.75-115, 2005.
- [2] FIGUEIREDO, M. V.; SELDIN, L.; ARAÚJO, F. F.; MARIANO, R. L. R. **Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Fundamentals and Applications**, 2010. Disponível em: <www.springer.com/9783642136115-c1.pdf>. Acesso em: 10 de agosto de 2014.
- [3] STROSCHHEIN, M. R. D. **Caracterização de Bactéria Fixadora de Nitrogênio em *Lupinus albus***, 2007. 83f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Santa Maria, 2007.
- [4] MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2ª Ed. UFLA, Lavras, Brasil, 2006. 729 p.
- [5] MARINGONI, A. C. **Técnicas em Fitobacteriologia**. Botucatu: FEPAF, 70p. 2010.
- [6] LLOYD, A. B.; SHEAFFE, M. J. Urease activity in soils. **Plant Soil**, v.39, n.1, p.71-80, 1973.
- [7] COGO, L. L. **Caracterização molecular de genes de virulência de isolados clínicos de *Helicobacter pylori* determinação da atividade antimicrobiana *in vitro* de diferentes fitoterápicos utilizados na medicina popular brasileira**. 2008. 107f. Dissertação (Doutorado em Processos Biotecnológicos) - Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba, 2008.

**Tabela 1.** Caracterização dos isolados de rizobactérias isoladas de raízes de bananeira ‘Prata-Anã’ quanto à produção de urease.

Isolado	Urease
<i>Bacillus pumilus</i> - 1	-
<i>Bacillus pumilus</i> - 3	+
<i>Bacillus pumilus</i> -10	+
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 17	+
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 24	-
<i>Bacillus subtilis</i> - 34	-
<i>Bacillus</i> . sp- 36	+
<i>Bacillus pumilus</i> -60	+
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 69	-
<i>Bacillus pumilus</i> -76	+
Testemunha	-

+ capacidade de produção;  
- incapacidade de produção.



[1]

**Figura 1.** Identificação da atividade de urease das bactérias isoladas de bananeira ‘Prata- Anã’ em meio de cultura YS. **Fig. 1A:** Reação positiva quanto a produção da enzima urease. **Fig. 1B:** Reação negativa quanto a produção da enzima urease. **Fig. 3B:** Teste de produção de urease.