

Solubilização de óxido de zinco por bactérias diazotróficas isoladas de *Cymbidium* sp.⁽¹⁾

Klever Cristiano Silveira⁽²⁾; Júlia Brandão Gontijo⁽³⁾; Joelma Gonçalves⁽⁴⁾; Fernanda Miranda de Oliveira⁽⁴⁾; Marihus Altoé Baldotto⁽⁵⁾; Lílian Estrela Borges Baldotto⁽⁶⁾

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos do CNPq, da FAPEMIG e da FUNARBE.

⁽²⁾ Estudante, *Campus* Florestal, Universidade Federal de Viçosa, Rodovia LMG 818, Km 06, CEP 35690-000, Florestal, MG, Bolsista FUNARBE/FUNARBE, klever.silveira@ufv.br; ⁽³⁾ Estudante, *Campus* Florestal, Universidade Federal de Viçosa, Bolsista PROBIC/FAPEMIG, julia.gontijo@ufv.br; ⁽⁴⁾ Estudante, *Campus* Florestal, Universidade Federal de Viçosa, joelma.goncalves@ufv.br; fernanda.m.miranda@ufv.br; ⁽⁵⁾ Professor, *Campus* Florestal, Universidade Federal de Viçosa, marihus@ufv.br; ⁽⁶⁾ Professora, *Campus* Florestal, Universidade Federal de Viçosa, lilian.estrela@ufv.br.

RESUMO: O uso de inóculos contendo bactérias diazotróficas, e concomitantemente, com o potencial de solubilizar óxido de zinco, poderia resultar em incrementos na produtividade agrícola, com menor ônus econômico e ambiental. O presente trabalho objetivou avaliar a capacidade de solubilização de óxido de zinco *in vitro* por bactérias diazotróficas isoladas de *Cymbidium*. As bactérias diazotróficas foram previamente isoladas de raízes e folhas de *Cymbidium* sp. nos meios JMV, JMV L, JNFb, NFB e LGL, totalizando 17 estirpes. Posteriormente, as bactérias foram crescidas em meio líquido DYGS por 24 h, a 30 °C e 120 rpm. Aliquotas de 20 µL das soluções bacterianas foram colocadas em placas de Petri com meio de cultura sólido contendo 10 g L⁻¹ de glicose, 1 g L⁻¹ de sulfato de amônio, 0,2 g L⁻¹ de cloreto de potássio, 0,1 g L⁻¹ de fosfato dipotássio, 0,2 g L⁻¹ de sulfato de magnésio heptahidratado, 1,0 g L⁻¹ de óxido de zinco, 15 g L⁻¹ de agar, 1L de água destilada, a pH 7,0 e incubadas a 30 °C por 7 dias. A avaliação da solubilização de zinco foi realizada por meio da medição do diâmetro do halo translúcido que se forma em torno das colônias. Foram realizadas três repetições para cada estirpe bacteriana. Das 17 estirpes avaliadas, 7 apresentaram a capacidade de solubilizar óxido de zinco. Os resultados apontam para a possibilidade de uso de bactérias diazotróficas na solubilização de óxido de zinco, representando uma alternativa importante para o enriquecimento de inoculantes.

Termos de indexação: fixação biológica de nitrogênio, microbiologia agrícola, floricultura.

INTRODUÇÃO

Diversos processos no solo são desempenhados por microrganismos e um desses processos é a fixação biológica do nitrogênio atmosférico, realizado por meio de bactérias conhecidas como diazotróficas, apresentando vida livre, ou associadas aos tecidos de vegetais (Hallmann et al., 1997). Algumas bactérias diazotróficas também são

capazes de solubilizar óxido de zinco, como por exemplo, *Gluconacetobacter diazotrophicus* (Saravanan et al., 2007).

O zinco é um elemento essencial para o desenvolvimento das plantas uma vez que atua como ativador de várias enzimas do metabolismo vegetal. Nos solos tropicais apresenta-se pouco disponível para as plantas devido ao processo de adsorção do zinco no solo (Dechen & Nachtigall, 2007). Bactérias diazotróficas que possuam a capacidade de solubilizar óxidos de zinco são almejadas para compor a formulação de inoculantes e ou biofertilizantes.

Para orquídeas, por exemplo, já foram isoladas bactérias diazotróficas de diferentes gêneros (Lange e Moreira, 2002), no entanto, dados sobre o real uso desses microrganismos como inoculantes ainda são escassos.

As orquídeas são plantas pertencentes à família Orchidaceae, sendo esta uma das maiores famílias de plantas existentes, apresentam diversas formas, cores e tamanhos e são muito apreciadas pela população para ornamentação e paisagismo (Faria et al., 2010). O mercado de plantas ornamentais apresenta em constante crescimento movimentando bilhões de reais sendo a orquídea uma das principais plantas a serem comercializadas (REIS, 2011).

Dentre as orquídeas mais comercializadas, destaca-se o gênero *Cymbidium*, grupo numeroso de plantas epífitas e terrestres, rizomatosas, originárias da Ásia. Possui inflorescência longa, com cores variadas, desenvolve-se em regiões de altitude, de temperaturas amenas e floresce principalmente na primavera (Lorenzi & Souza, 2008).

Dentro desse contexto, o presente trabalho objetivou avaliar a capacidade de solubilização de óxido de zinco *in vitro* por bactérias diazotróficas isoladas de folhas e raízes de *Cymbidium* sp.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Setor de Floricultura

da Universidade Federal de Viçosa, *Campus Florestal* (UFV-CAF), localizada no município de Florestal, MG.

As bactérias diazotróficas foram previamente isoladas de raízes e folhas de *Cymbidium* sp. Nos meios JMV, JMV_L, JNF_b, NFB e LGI, totalizando 17 estirpes.

Posteriormente, as bactérias foram crescidas em meio líquido DYGS por 24 h, a 30 °C e 120 rpm.

Para avaliação da capacidade de solubilizar óxido de zinco, alíquotas de 20 µL das soluções bacterianas foram colocadas em placas de Petri com meio de cultura sólido contendo 10 g L⁻¹ de glicose, 1 g L⁻¹ de sulfato de amônio ((NH₄)₂SO₄), 0,2 g L⁻¹ de cloreto de potássio (KCl), 0,1 g L⁻¹ de fosfato dipotássio (K₂HPO₄), 0,2 g L⁻¹ de sulfato de magnésio heptahidratado (MgSO₄·7H₂O), 1,0 g L⁻¹ de óxido de zinco (ZnO), 15 g L⁻¹ de agar, 1L de água destilada, a pH 7,0 e incubadas a 30 °C por 7 dias.

A avaliação da solubilização de zinco foi realizada por meio da medição do diâmetro do halo translúcido que se forma em torno das colônias solubilizadoras de zinco. O diâmetro do halo foi medido com auxílio de um paquímetro e calculado por meio da fórmula: diâmetro do halo (mm) = diâmetro total – diâmetro da colônia. Foram realizadas três repetições para cada estirpe bacteriana.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho foi verificado que bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico isoladas de folhas e raízes de *Cymbidium* sp. apresentaram a capacidade de solubilizar óxido de zinco, como pode ser visualizado na **(figura 1)**, por meio da formação do halo translúcido que se forma em torno das colônias solubilizadoras.

As bactérias diazotróficas diferiram na capacidade de solubilizar óxido de zinco *in vitro* (**Tabela 1**). Das 17 estirpes avaliadas, 7 apresentaram a capacidade de solubilizar óxido de zinco, sendo 1 isolada previamente do meio JMV (média do diâmetro do halo = 23 mm), 2 do meio JMV_L (média do diâmetro do halo = 21 mm e 30 mm), 1 do meio JNF_b (média do diâmetro do halo = 2 mm), 1 do meio NFB (média do diâmetro do halo = 5 mm) e 2 do meio LGI (média do diâmetro do halo = 8 mm e 7 mm).

A solubilização de óxido de zinco *in vitro* pelas bactérias diazotróficas pode ser devido à síntese e posterior secreção de ácidos orgânicos no meio de cultivo, como verificado por Saravanan et al. (2007).

O uso de inóculos contendo bactérias diazotróficas, ou seja, com potencial de fixar o

nitrogênio atmosférico, e concomitantemente, com o potencial de solubilizar óxido de zinco, poderia resultar em incrementos na produtividade agrícola, com menor ônus econômico e ambiental.

CONCLUSÕES

Bactérias diazotróficas isoladas de folhas e raízes de *Cymbidium* sp. diferem na capacidade de solubilizar óxido de zinco *in vitro*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação Arthur Bernardes (FUNARBE, Funarpeq 2011-2012), à Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG, APQ 03929-10) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Processo 470567/2011-2) pelos auxílios financeiros e bolsas concedidas.

REFERÊNCIAS

- FARIA, R. T., ASSIS, A. M. & CARVALHO, J. F. R. P. Cultivo de orquídeas. Londrina, PR: Editora Mecenaz, 2010. 208p.
- HALLMANN, J., QUADT-HALLMANN, A., MAHAFFEE, W. F. et al. Bacterial endophytes in agricultural crops. Canadian Journal of Microbiology, 43:895-914, 1997.
- REIS, J. N. P. Cultivo de orquídeas: uma opção à agricultura familiar? Encontro da Sociedade Brasileira de Economia Ecológica, n.9, Brasília, 2011. 48p.
- LANGE, A. & MOREIRA, F. M. S. Detecção de *Azospirillum amazonense* em raízes e rizosfera de orchidaceae e de outras famílias vegetais. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 26:529-533, 2002.
- SARAVANAN, V. S., SIVARAJ, V., OSBORNE, J. et al. Zinc metal solubilization by *Gluconacetobacter diazotrophicus* and induction of pleomorphic cells. Journal of Microbiology and Biotechnology, 17:1477-1482, 2007.
- DECHEN, A. R. & NACHTIGALL, G. R. Elementos requeridos à nutrição de plantas. In: NOVAIS, R. F., ALVAREZ, V. V. H., BARROS, N. F. et al. Fertilidade do Solo. Viçosa: SBCS/UFV, 2007. p. 92-132.
- LORENZI, H. & SOUZA, H. M. Plantas Ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 1088 p.

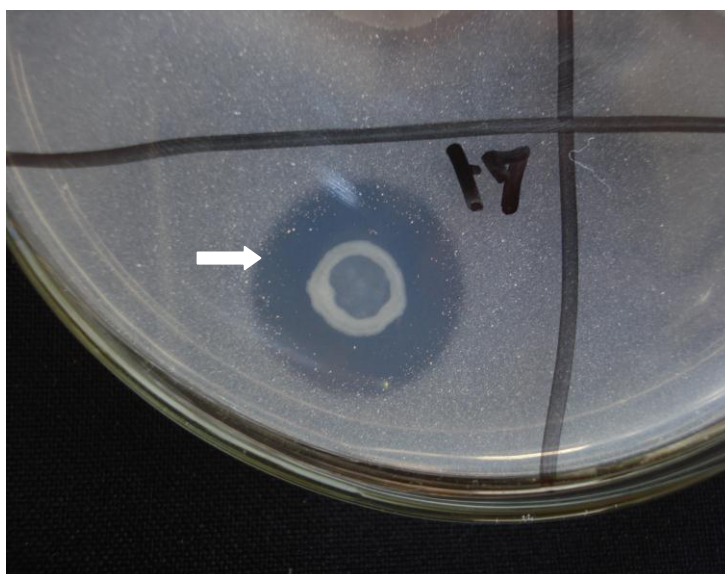


Figura 1. Visualização do halo translúcido (seta) formado pela solubilização de óxido de zinco pela bactéria diazotrófica isolada de *Cymbidium* sp.

Tabela 1. Estirpes solubilizadoras de óxido de zinco.

Identificação dos isolados bacterianos ¹		Tamanho médio do halo de solubilização
1	UFV 11161	0
2	UFV 11151	0
3	UFV 12141	23,0 mm
4	UFV 11261	0
5	UFV 11251	0
6	UFV 12261	21,3 mm
7	UFV 12251	0
8	UFV 12262	29,3 mm
9	UFV 12252	0
10	UFV 11361	0
11	UFV 11362	0
12	UFV 12321	2,0 mm
13	UFV 11441	0
14	UFV 12421	0
15	UFV 11442	4,7 mm
16	UFV 11521	7,0 mm
17	UFV 11541	7,3 mm

¹ Identificação dos isolados bacterianos: nome UFV seguido dos números que indicam: nome científico da planta hospedeira (1 – *Cymbidium*), tecido vegetal usado no isolamento (1 – Raiz, 2 – Folha), meio de cultura usado no isolamento (1 – JMV, 2 – JMV L, 3 – NFb, 4 – JNFb, 5 – LGI, 6 – LGI-P), diluição e número de ordem do isolado na coleção.