

Incorporação de Novos Acessos de Microrganismos Solubilizadores de Fosfato à Coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Milho e Sorgo

Melissa Valença Barbosa¹, Christiane Abreu de Oliveira², Patrícia Aparecida Santana³, Daiane Cristina Diniz Caldeira⁴, Bianca Braz Mattos⁵, Amanda de Oliveira Baracho⁶, João Herbert Moreira Viana⁷ e Ivanildo E. Marriel⁸

^{1,4}Graduanda do curso Engenharia Ambiental, UNIFEMM. ²Bolsista da EMBRAPA Milho e Sorgo. ^{3,6}Graduanda Ciências Biológicas, UNIFEMM. ^{2,5,7,8} EMBRAPA Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

¹melissavalensa@hotmail.com, ²christiane.paiva@cnpmis.embrapa.br, ⁴dayanecristina71@yahoo.com.br,

⁵bianca@cnpmis.embrapa.br, ⁶mandinhabaracho@hotmail.com ⁷jherbert@cnpmis.embrapa.br,

⁸imarriel@cnpmis.embrapa.br

RESUMO – O fósforo é um nutriente essencial às plantas, mas encontra-se em baixa disponibilidade em solos tropicais, visto que esses solos são altamente intemperizados, ácidos e pouco férteis. Por isso são necessárias grandes doses de adubos fosfatados, para que as culturas obtenham alta produtividade. Além disso, são dependentes de combustíveis fósseis para sua fabricação, transporte e distribuição. Portanto, no desenvolvimento de tecnologias que melhorem a eficiência em P pelas plantas, destaca-se a biossolubilização e/ou solubilização de fosfato por microrganismos. Este trabalho teve como objetivo incorporar novos isolados à coleção de microrganismos solubilizadores de fósforo, sendo coletadas amostras de solos e raízes rizosféricas. Para o isolamento foram utilizados três meios de cultura sendo Fitato de sódio como fonte orgânica, Pikovskaia e Nautiyal como fonte inorgânica. Para a contagem dos microrganismos foram realizadas diluições seriadas decimais, em duplicata. Em seguida, alíquotas de cada diluição, foram transferidas para placas contendo os meios de cultura sólidos citados acima. A partir das amostras analisadas, foram obtidos 138 isolados eficientes na solubilização de P com base na formação de halo, sendo 107 a partir de solo e 31 a partir de raízes, que foram incorporadas à coleção de microrganismos da Embrapa Milho e Sorgo.

Palavras-chave: solubilização de fosfato, microrganismos, fósforo.

Introdução

O fósforo é um dos macronutrientes essenciais para o desenvolvimento das plantas, uma vez que atua nas funções vitais básicas, estando envolvido em inúmeros processos biológicos, como formação dos ácidos nucléicos (DNA e RNA) e fosfolipídeos, além de fluxo e estoque da energia por meio das moléculas de ATP e NADPH. Este elemento é, ainda, indispensável à fotossíntese e à respiração, além de diversas funções celulares, influenciando todo o ciclo do desenvolvimento vegetal, podendo favorecer o amadurecimento precoce das culturas (STAUFFER; SULEWSKI, 2004; NOVAIS et al., 2007).

O solo predominante nas regiões tropicais brasileiras apresenta características que dificultam o crescimento agrícola, devido à alta capacidade de fixação de Fósforo (P), resultando em uma baixa disponibilidade deste nutriente para as plantas (NOVAIS; SMYTH, 1999). O uso de fertilizantes fosfatados é imprescindível para suprir essa deficiência, porém

grande parte do fósforo adicionado torna-se indisponível às plantas, pela sua adsorção aos colóides do solo. Com isso, doses relativamente altas de adubos fosfatados são necessárias para se obter alta produtividade, encarecendo assim a produção agrícola (SOUCHIE et al., 2005).

Porém, considerando o total de fertilizantes aplicados, apenas de 10 a 20% são, efetivamente, utilizados pelos vegetais (VANCE et al., 2003), pois 75-90% dos adubos fosfatados adicionados são precipitados pela complexação com cátions metálicos presentes nos solos (STEVENSON, 1986).

A principal fonte de P para a produção de fertilizantes são as rochas fosfáticas, que constituem um recurso natural, cuja denominação fosfato natural ou rocha fosfática cobre uma ampla variação de tipos de minérios. Dessa forma, alguns estudos têm buscado o uso de microrganismos com potencial de solubilização de P agregados aos fosfatos naturais para aumentar a disponibilização deste elemento (STAMFORD et al., 2004).

Neste contexto, diversas espécies de microrganismos têm sido avaliadas quanto ao potencial de solubilização de fontes insolúveis de nutrientes, como fósforo e potássio. Dessa forma, através da bioprospecção de microrganismos espera-se identificar estirpes microbianas com potencial para biossolubilização e/ou bioprocessamento de rochas fosfáticas visando a agregação de valor fertilizante a estes minerais.

Material e Métodos

Foram efetuados isolamentos de microrganismos solubilizadores e mineralizadores de fosfato a partir de amostras de solos e plantas coletadas nas margens de estradas em áreas próximas a uma área de mineração no estado de Minas Gerais.

- *Isolamento de microrganismos solubilizadores de P*

Amostras de 1g de solo rizosférico foram suspensas em 9 ml de solução salina (NaCl, 0,85% p/v) e agitadas durante 40 minutos em temperatura ambiente, em agitador de mesa rotatório. Em seguida, a suspensão descansou por 10 minutos. Para a contagem dos microrganismos foram realizadas diluições seriadas decimais de 10^{-1} a 10^{-5} , em duplicata. Em seguida, alíquotas de 0,1 ml de cada diluição foram transferidas para placas contendo o meio de cultura sólido Fitato (RICHARDSON et al., 2001), Pikovskaya (PIKOVSKAYA, 1948) e Nautiyal (NAUTIYAL, 1999). As placas foram incubadas em temperatura ambiente por 7 dias. Após terem formado colônias distintas, com formação de halo ou não, foram

primeiramente contadas e isoladas em placas subdivididas em oito partes. Depois de verificada a formação de halo de solubilização do fosfato, as colônias foram estriadas e purificadas. Depois de caracterizadas morfológicamente, foram encaminhadas para o estoque em meio de cultura sólido inclinado sob óleo mineral.

Resultados e Discussão

A partir das amostras analisadas, foram obtidos 138 isolados, sendo 107 a partir de solo e 31 a partir de raízes, com base na formação de halo de solubilização (Figura 1). Dos isolados testados foi evidenciado que todos apresentaram capacidade de solubilização de fosfato em meio sólido, indicando que eles não perderam esta capacidade no processo de purificação e armazenagem.

Na amostra 1, foram obtidos 68% dos microrganismos utilizando o meio fitato, tais microrganismos conseguem mineralizar o fósforo, visto ser de fonte orgânica. Já no meio Pikovskaya 23% e 9% pelo meio Nautiyal, sendo ambos de fonte inorgânica. Com relação a amostra 2, a porcentagem no meio Fitato foi de 79%, 21% no meio Pikovskaya e 0% no meio Nautiyal (Figura 2).

Foram quantificados microrganismos (Bactérias, Actinomicetos e Fungos), nos meios de cultura Fitato e Pikovskaya, que mineralizam e solubilizam o Fósforo. A tabela 1 identifica a população total em log de UFC/g de solo desses microrganismos. Com base nestes dados, destaca-se entre os grupos funcionais, as bactérias, que dentre os meios de cultura comparados, foram mais eficientes com relação a solubilização do fósforo.

Com base no total de microrganismos isolados, foram recuperados em meio fitato, 60,1% bactérias e 21,01% fungos, mineralizadores de P. Já no meio Pikovskaya, 7,97% bactérias e 7,24%, fungos. No meio Nautiyal, os valores foram inferiores em relação aos outros meios citados acima, sendo 2,17% de bactérias e 1,44% de fungos. Isso indica que na presença de fósforo orgânico, no meio Fitato, em diferentes amostras, o P foi melhor solubilizado, o que conseqüentemente, apresentou maior formação de halo.

Conclusão

Todos os isolados obtidos (bactérias, fungos e actinomicetos) mantiveram sua capacidade de solubilizar o fosfato em meio sólido. Porém, a frequência de microrganismos

que foram isolados, varia de acordo com o tipo de meio de cultura, ou seja, com fonte de P. Em meio contendo o fitato como fonte de P orgânico, recuperou-se maior número de microrganismos solubilizadores de P, demonstrando maior eficiência para o isolamento de microrganismos. Com relação às amostras analisadas, conclui-se que a variação do número de isolados, deve-se ao fato das características de cada local coletado serem diferenciadas.

Agradecimentos

À FAPEMIG pelo suporte financeiro, à CNPq pela oportunidade de estágio e a Embrapa Milho e Sorgo pela realização das análises.

Literatura Citada

- NAUTIYAL, C.S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiology Letters**, v.170, p.265-270, 1999.
- NOVAIS, R.F.; SMYTH, T.J.; NUNES, F.N. **Fósforo**. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B e NEVES, J.C.L. (Ed.). Fertilidade do solo. Viçosa, MG: SBCS, 2007.
- NOVAIS, R.F; SMYTH, T.J. **Fósforo em Solo e Planta em Condições Tropicais**. Viçosa: UFV, 1999. 399 p.
- PAUL, E.A. & CLARK, F.E. 1989. Soil Microbiology and Biochemistry. San Diego, Academic Press.
- PIKOVSKAYA, R. J. Mobilization of phosphorous in soil in connection with vital activity of some microbial species. **Mikrobiologiya**, New York, v.17, p. 362-370, 1948.
- RICHARDSON, A. E.; HADOBAS, P. A.; HAYES, J. E.; O'HARA, C. P.; SIMPSON, R. J. Utilization of phosphorus and pasture plants supplied with myo-inositol hexaphosphate is enhanced by the presence of soil microorganisms. **Plant and Soil**, The Hague, v. 229, p. 47-56, 2001.
- SOUCHIE, E. L.; AZCÓN, R.; BAREA, J. M.; SAGGINJÚNIOR, O. J.; SILVA, E. M. R. 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.
- STAUFFER, M.D; SULEWSKI, G. Fósforo essencial para a vida. **Anais...** In: SIMPÓSIO SOBRE FÓSFORO NA AGRICULTURA BRASILEIRA. 2003. Fósforo na agricultura brasileira. Piracicaba: Potafos, 2004. p.1-11.

STAMFORD N.P.; SANTOS C.E.R.S.; STAMFORD JÚNIOR, W.P.; DIAS, S.L. 2004. Biofertilizantes de rocha fosfatada com *Acidithiobacillus* como adubação alternativa de caupi em solo com baixo P disponível. *Analytica*, n.9, p.48-53, 2004.

STEVENSON FJ (1986) *Cycles of soil. Carbon, nitrogen, phosphorus, sulphur and micronutrients*. Wiley, New York, pp 176–177.

VANCE CP, UHDE-STONE C, ALLAN DL. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist* 157: 423–447, 2003.

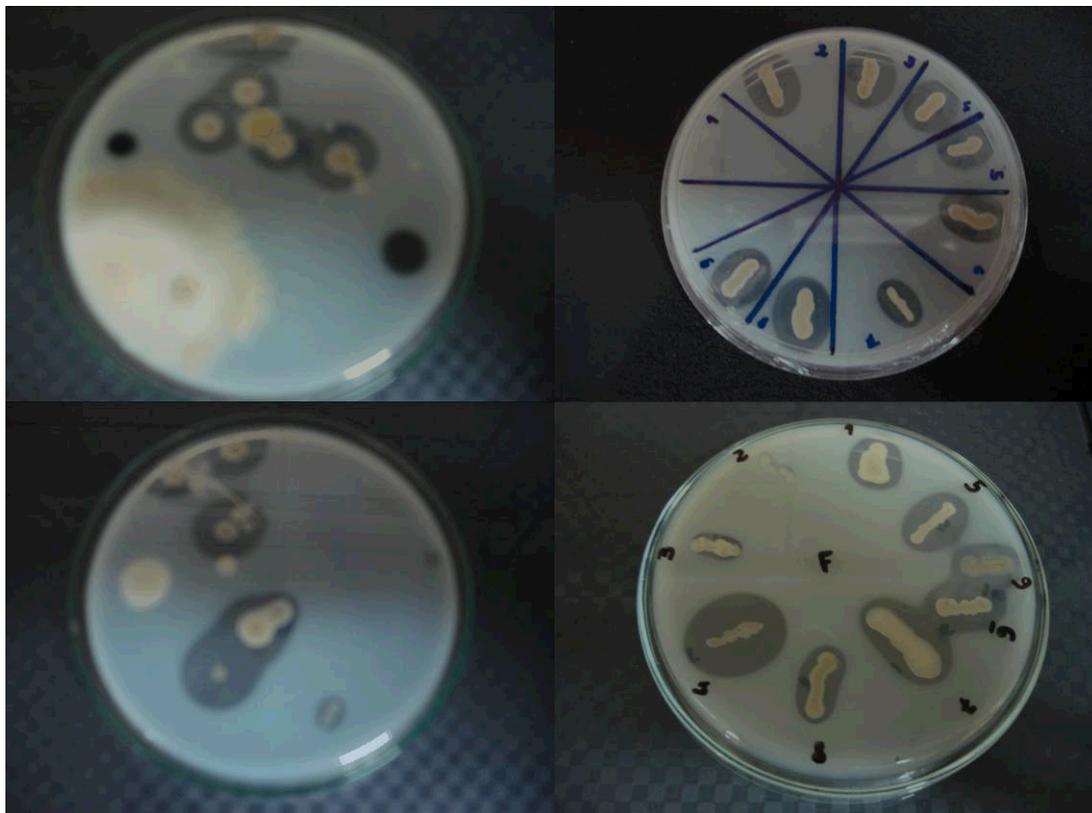


Figura 1- Aspecto de formação de halo por microrganismos solubilizadores e miralizadores de P. A zona clara em torno das colônias indica solubilização de fosfato pelo microrganismos.

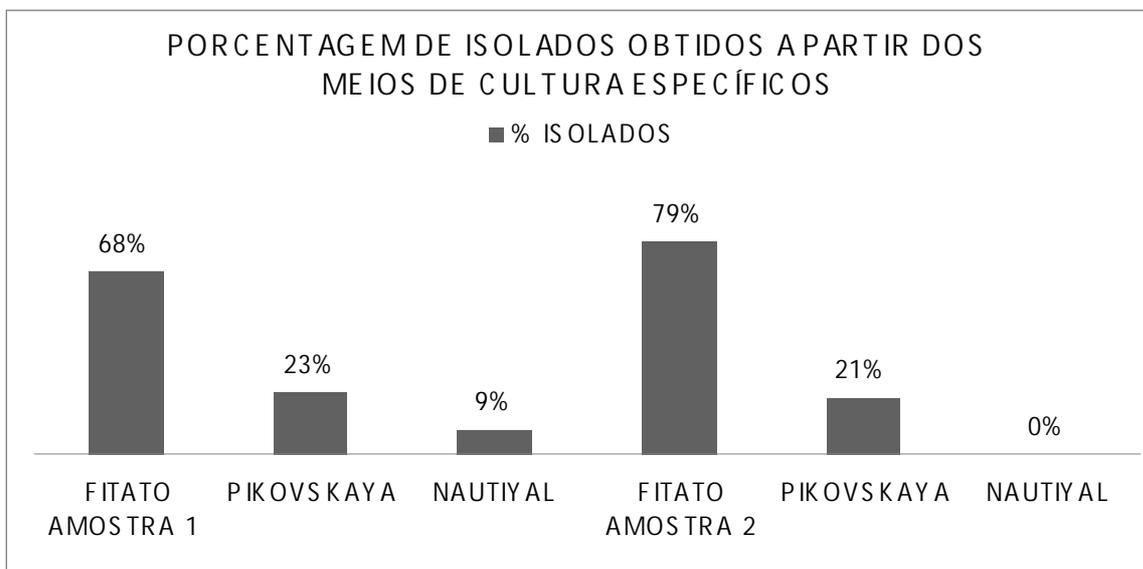


Figura 2. - Porcentagem de isolados obtidos a partir dos meios de cultura específicos.

Tabela1. Contagem dos Microrganismos solubilizadores de P em dois meios de Culturas de amostras de solo coletadas em áreas de Mineração. (B- Bactéria; A- Actinomiceto; F- Fungo).

Contagem de Microrganismos Solubilizadores e Mineradores de P			
Amostra	Meio de Cultura	Grupo Microrganismos	Log de UFC/g de solo
1	Fitato	B	5,875
		A	0
		F	5,579
	Pikovskaya	B	5,643
		A	0
		F	4,954
2	Fitato	B	5,113
		A	0
		F	5,204
	Pikovskaya	B	5,763
		A	4,602
		F	5,113