

Bioprospecção de isolado microbiano solubilizador de fosfato

Roberta Moraes **Maciel**¹
João Frederico Mangrich dos **Passos**¹
Sandra Denise Camargo **Mendes**¹

RESUMO

Campos nativos de cima da serra estão sendo substituídos por culturas de grãos e hortaliças, resultando em maior degradação do solo. A diversidade de plantas nessas pastagens naturais favorece a atividade microbiana do solo. As plantas liberam compostos orgânicos no solo, criando a rizosfera, onde ocorrem interações entre plantas, solo e microrganismos. Nesse contexto, microrganismos simbiotes doam nutrientes às plantas. O objetivo do estudo foi bioprospectar rizobactérias solubilizadoras de fosfato insolúvel em solo de campo nativo. Foram coletadas amostras de solo e raízes na Estação Experimental da Epagri de Lages (EEL), para testes *in vitro* de solubilização de fosfato, utilizando K_2HPO_4 a 10% e $CaCl_2$ a 10%. A maioria dos isolados foram Gram negativos, e apenas 17% apresentaram capacidade de solubilizar fosfato.

Palavras-chave: PGPR; Bactérias; Campo nativo.

INTRODUÇÃO

Os campos nativos catarinenses, nas últimas décadas, vêm sendo substituídos por outras culturas como grãos, florestas cultivadas e horticultura. Esta pressão social e econômica não considera a importância desse ecossistema, principalmente as espécies vegetais forrageiras, fazendo com que os pecuaristas da região dos campos de cima da serra, desistam da pecuária e partam para outras atividades agrícolas, muitas vezes sendo usado manejos mais agressivos ao meio ambiente (Córdova *et al.*, 2024).

As pastagens, tanto as cultivadas como naturais, são fontes de serviços ecossistêmicos que sustentam a economia de vários países ao redor do mundo. A diversidade de plantas nas pastagens que compõem esses sistemas está diretamente relacionada à diversidade e atividade microbiana do solo (Tomazelli *et al.*, 2024).

A rizosfera, ou seja, a zona estreita que circunda e é influenciada pelas raízes das plantas, é um paraíso para diferentes organismos, onde alguns estabelecem relações simbiotes com a planta, sendo considerada um dos ecossistemas mais complexos da Terra. Na rizosfera, estão presentes: bactérias, fungos, algas, vírus e outros (Tomazelli *et al.*, 2024).

¹ EPAGRI, Lages-SC.

Autor correspondente: robertamaciel@epagri.sc.gov.br



Os organismos da rizosfera que apresentam benefícios para as plantas são: as bactérias fixadoras de nitrogênio, fungos micorrízicos, rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (PGPR), e bactérias solubilizadoras de fosfato (Massensini *et al.*, 2016; Tomazelli *et al.*, 2024).

O solo é abundante em fosfato, um mineral de grande relevância no desenvolvimento da planta, porém, em sua forma insolúvel, o que torna este mineral escasso para a planta (Pires, 2023). Fazendo necessário para o produtor muitas vezes, utilizar fertilizantes químicos, trazendo prejuízos para o meio ambiente (Mendes, 2022).

O objetivo deste trabalho foi prospectar isolados bacterianos eficientes em solubilizar fontes de fosfatos insolúveis.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de solo foram coletadas em três pontos em área de campo nativo da Estação Experimental da Epagri de Lages (27°48'26"S e 50°19'55"W), Lages, SC-Brasil. Foram coletados 10 g de solo e 10 g de raízes, onde passaram por um processo de assepsia, sendo armazenadas em solução salina 0,85% estéril por 24 horas a 30°C. Após, realizou-se diluição seriada (10^0 a 10^{-3}) com solução salina 0,85%. Transferiu-se 100µL de cada diluição e inoculou-se em frascos com 4 mL dos meios Nfb, LGI e LGI-P, onde para cada meio, havia 20 frascos (10 frascos para solo & 10 frascos para endofíticos da raiz). Estes 60 frascos foram incubados por 7 dias a 28°C, onde foram repicados novamente, para passarem pelo mesmo processo. Esgotou-se em placas de Petri com meios sólidos NFb, LGI e LGI-P, incubou-se por 72 horas a 28°C até o desenvolvimento de colônias. Transferiu-se as colônias isoladas para tubos de ensaio contendo meio LB (Luria Bertani) líquido, incubado em estufa de 48 a 72 horas até a contagem de 1.10^5 células/µL, para a realização do teste de Gram. O teste de Gram foi realizado pela coloração de lâminas, onde cada amostra foi deixada por 1 minuto no cristal violeta, 1 minuto no lugol, 20 segundos no descorante e 45 segundo na fucsina, a cada etapa de coloração a lâmina foi lavada com água destilada. As amostras foram estocadas em criotubos (relação 1:1) de meio LB e glicerol no freezer -20°C para eventuais testes. Seguindo o protocolo, realizou-se o teste de solubilização de fosfato *in vitro*, utilizando uma mistura das soluções: K_2HPO_4 a 10%; $CaCl_2$ a 10% e solução com glicose a extrato de levedura, onde após inoculados em placas de Petri e incubados por 10 dias em estufa a 28°C, mediu se a formação do halo cristalino ao redor das colônias (Döbereiner, 1989).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como a metodologia de isolamento bacteriano utilizada era direcionada para a obtenção de diazotróficos, todos os 181 isolados obtidos são os que possuem a capacidade de crescimento sob ausência de nitrogênio no meio, possuindo a capacidade de obter o N mineral.



Já para o teste de Gram realizado, observou-se uma predominância (97%) de isolados bacterianos Gram (-) negativos (Tabela 1). Conforme o estudo de Carvalho *et al.* (2016), o mesmo encontrou uma predominância de isolados Gram (-) negativos, com 73% do total de bactérias isoladas de solo rizosférico.

Para a característica de solubilização de fosfato, apenas 17% dos isolados obtiveram resultados positivos, sendo 5% oriundos de raiz (endofíticos), e 12% oriundos de solo rizosférico (Tabela 1).

Este resultado deve-se às condições do solo ser pobre em fosfato, estimulando que mais microrganismos sejam capazes de produzir metabólitos secundários, capazes de degradar moléculas de fosfato de baixa solubilidade ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, AlPO_4 e FePO_4), em moléculas com alta solubilidade.

Tabela 1 – Característica de promoção de crescimento de isolados bacterianos de solo e de raízes de plantas de campo nativo.

Origem	Gram (+)	Gram (-)	Solubilização de fosfato	TOTAL
Solo	3	88	22 (12%)	91
Raiz	3	87	9 (5%)	90
Total	6 (3%)	175 (97%)	31 (17%)	181

Fonte: Elaborado pelos autores, 2024.

CONCLUSÃO

O isolamento de bactérias diazotróficas com característica de serem solubilizadoras de fosfato insolúvel, oriundas de amostras de solo de campo nativo, demonstrou melhores resultados quando estes são obtidos diretamente do solo rizosférico.

REFERÊNCIAS

CARVALHO M. M. R. *et al.* Bactérias solubilizadoras de fosfato em solo rizosférico da caatinga. **Revista geonorte**, v.7, n.26, p.48–60, 2016. Recuperado de: www.periodicos.ufam.edu.br/index.php/revista-geonorte/article/view/2758.

CÓRDOVA, U. A. *et al.* Melhoramento de campo nativo: tecnologia fundamental para a preservação dos campos naturais. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 37, n. 1, p. 77-84, 2024.

DÖBEREINER, J. Isolation and identification of root associated diazotrophs. **Plant Soil**, 110, 207–212, 1989.

MASSENSINI, A. M. *et al.* Isolamento e caracterização de bactérias solubilizadoras de fosfato da rizosfera de *Eucalyptus sp.* **Revista Árvore**, Viçosa, v. 40, n. 1, p. 1-14, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-67622016000100014>



MENDES, A. K. V. **Diversidade genética de bactérias solubilizadoras de fósforo em solos agrícolas do Submédio do Vale do São Francisco**. 2022. 18 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Embrapa Semiárido, Petrolina, 2022.

MENDES, R.; GARBEVA, P.; RAAIJMAKERS, J. M. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. **FEMS Microbiol. Rev.** 37, 634–663, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12028>.

PIRES, L. P. **Fixação e disponibilidade de fósforo no solo: uma revisão**. 2023. 40 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Ambientais, Universidade de Brasília, Brasília – DF, 2023.

TOMAZELLI, D. *et al.* O. Plant diversity and root traits shape rhizosphere microbial communities in natural grasslands and cultivated pastures. **Rhizosphere, Amsterdam**, v. 29, n. 1, p. 1-10, 2024.