

## SELEÇÃO DE MICRORGANISMOS SOLUBILIZADORES DE FOSFATO

Paula Cerezini, Karina Maria Lima Milani, Elcio Libório Balota

**Resumo** - A solubilização de fosfato por microrganismos é um importante processo para a disponibilização de fósforo às plantas. Esse trabalho teve como objetivo selecionar isolados pela sua capacidade de solubilização de fosfato *in vitro*. Primeiramente foram obtidos 35 isolados procedentes de várias espécies de plantas em diferentes manejos do solo. A capacidade de solubilização de fosfato foi avaliada pelo tamanho do halo da colônia e pela solubilização do fosfato em meio líquido. Todos os isolados testados acidificaram o meio e apresentaram capacidade de solubilizar o fosfato em meio líquido. Entretanto, esta capacidade diferiu entre os isolados testados. IPRS-74, IPRS-82 e IPRS-090 foram os isolados que apresentaram maior capacidade de solubilização com potencial para compor inoculante microbiano.

**Palavras-Chave:** solubilização de fosfato, fósforo solúvel, fosfatase ácida.

## SELECTION OF PHOSPHATE SOLUBILIZING MICRORGANISMS

**Abstract-** The solubilization of phosphate by microorganisms is an important process for the release of phosphorus to plants. This study aimed to select phosphate solubilizing microorganismos by its ability of solubilization of phosphate *in vitro*. Firstly it was obtained 35 isolates from several plant species under different soil management. The phosphate solubilizing was evaluated by the size of the colony halo and for the phosphate solubilization in liquid medium. All isolates acidified the medium and presented phosphate solubilizing capacity in the liquid medium. However the potential for P solubilization in liquid medium differed among isolates. IPRS-74, IPRS-82 and IPRS-090 showed higher solubilization capacity with potential to compose microbial inoculant.

**KeyWord:** phosphate solubilization, soluble phosphorus, acid phosphatase.

### 1. INTRODUÇÃO

O fósforo é um macronutriente essencial para o metabolismo e desenvolvimento dos organismos. No solo, embora o fósforo total seja alto está em grande parte indisponível às plantas, porque está ligado a componentes orgânicos e inorgânicos, causando limitações no desenvolvimento das plantas com conseqüências na produção agrícola (Grant et al. 2001).

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 sua produção (Souchie et al., 2005).

Microrganismos presentes no solo são capazes de aumentar a disposição de fósforo às plantas através dos processos de mineralização e solubilização

desse elemento. Os microrganismos envolvidos nesse processo excretam ácidos orgânicos, atuando diretamente na dissolução do fósforo ou pela ação quelante sobre os cátions liberando fosfatos solúveis (Richardson, 1994). As formas orgânicas de fósforo também podem ser mineralizadas por enzimas fosfatases, capazes de catalizar a hidrólise de ésteres e anidridos de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (Tabatabai, 1994).

O objetivo deste trabalho foi selecionar microrganismos com capacidade de solubilizar fosfato *in vitro*, em meio sólido e em meio líquido.

### 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os microrganismos foram isolados a partir de amostras de solo da rizosfera e de raízes de várias espécies de plantas (canola, cana-de-açúcar, girassol e samambaia). Amostras de raízes maceradas e de solos foram submetidas a diluições sucessivas, inoculadas em meio sólido para

solubilizador de fosfato (Sylvester-Bradley et al. 1982) e caracterizado pela formação de um halo transparente formado ao redor das colônias (Kang et al., 2002). As colônias que apresentaram o halo característico foram repicadas sucessivamente no mesmo meio objetivando sua purificação.

A avaliação da capacidade de solubilização de fosfato in vitro foi feita pelo tamanho do halo e pela solubilização do fosfato em meio líquido. A medição do tamanho diâmetro do halo foi calculado pela fórmula: Diâmetro do halo = Diâmetro total halo/Diâmetro da colônia. Os microrganismos que apresentaram maior diâmetro de halo foram selecionados (IPRS 074, IPRS 081, IPRS 082, IPRS 090, IPRS 091, IPRS 107) para avaliar sua capacidade de solubilização em meio líquido. Após o crescimento em meio YMA líquido foi feito à padronização do inóculo (DO = 0,5 à 600nm) e transferido para tubos contendo meio líquido com CaHPO<sub>4</sub> e mantidos sob agitação de 130 rpm, a 28°C por 15 dias. Após este período, as amostras foram centrifugadas e no sobrenadante determinou-se: pH, teores de P solúvel (Mehlich 1) e fosfatase ácida (Tabatabai, 1994).

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando do pacote estatístico SAS.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente foram obtidos 35 isolados com capacidade de solubilizar fosfato, procedente de amostras de varias espécies de plantas e manejo do solo no estado do Paraná.

Dos isolados testados foi evidenciado que todos apresentaram capacidade de solubilização de fosfato em meio sólido, evidenciando que eles não perderam esta capacidade no processo de purificação e armazenagem (Tabela 1). O isolado IPRS-090 apresentou maior diâmetro de halo.

Dos 6 isolados selecionados para a avaliação em meio líquido, todos acidificaram levemente o meio, ocorrendo um decréscimo de até 25% do pH com relação ao branco, o que indica a produção de ácidos orgânicos e liberação de prótons (Kang et al., 2002).

A capacidade de solubilização in vitro pelos microrganismos solubilizadores de fosfato (MSF) diferiu entre os isolados. Os valores de P-solúvel variaram de 56,74 µg PO-34 mL<sup>-1</sup> (IPRS-107) à 232,54 µg PO-34 mL<sup>-1</sup> (IPRS-82). Os isolados IPRS-082 e IPRS-090 apresentaram valores de solubilização superior em 309% e 276%, respectivamente, com relação ao IPRS-107 (Figura 1).

Todos isolados apresentaram alta atividade da fosfatase ácida em relação ao branco, sendo que a maior atividade foi apresentada pelo IPRS-074 com valor superior a 13 µg p-nitrofenil mL<sup>-1</sup> (Figura 2).

### 4. CONCLUSÃO

Todos os isolados obtidos mantiveram sua capacidade de solubilizar o fosfato em meio sólido.

Os isolados IPRS-74, IPRS-82 e IPRS-090 apresentaram potencial para futuramente compor um inoculante microbiano.

Tabela 1. Diâmetro de halo formado ao redor das colônias, em meio sólido. Letras iguais não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

M S F	Diâmetro Halo (cm)
IPRS 090	2,17 a
IPRS 093	1,78 b
IPRS 082	1,71 c
IPRS 081	1,67 c
IPRS 085	1,67 c
IPRS 091	1,67 c
IPRS 096	1,60 d
IPRS 095	1,57 d
IPRS 094	1,54 d
IPRS 107	1,47 e
IPRS 092	1,45 e
IPRS 100	1,44 e
IPRS 074	1,36 f
IPRS 076	1,36 f
IPRS 097	1,33 f
IPRS 103	1,33 f
IPRS 105	1,33 f
IPRS 088	1,21 g
IPRS 101	1,20 g
IPRS 104	1,20 g
IPRS 089	1,17 g
IPRS 102	1,15 g
IPRS 084	1,08 h

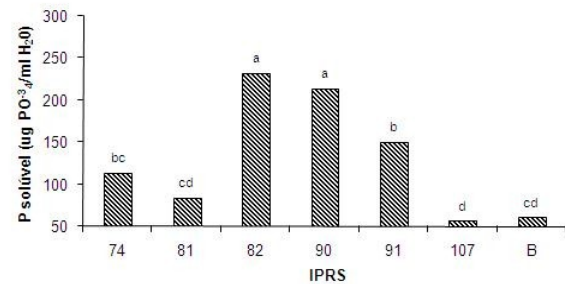


Figura 1. Teor de P solúvel proporcionado por MSF em meio líquido, após 15 dias de incubação. Média de 3 repetições. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. \*B: Branco.

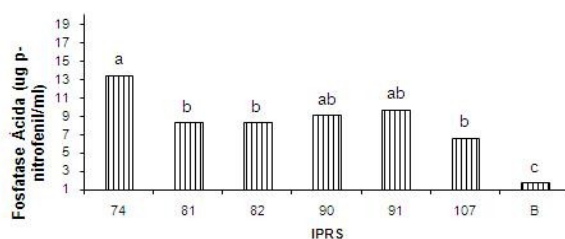


Figura 2. Atividade da fosfatase ácida promovida por MSF, após 15 dias de incubação. Média de 3 repetições. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. \*B: Branco.

## REFERÊNCIAS

- GRANT, C.A.; FLATEN, D.N.; TOMASIEWICZ, D.J.; SHEPPARD, S.C. A importância do fósforo no desenvolvimento inicial da planta. Piracicaba: Potafos, 2001. 5 p. (Informações Agronômicas, 95).
- KANG, S.C.; HÁ, C.G.; LEE, T.G.; MAHESHWARI, D.K. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a soil-inhabiting fungus *Fomitopsis* sp. PS 102. *Current Science*. Bangalore, v.82, n. 4, p. 439-442, fev. 2002.
- RICHARDSON, A.E. (1994). Soil microorganisms and phosphorus availability. In *Soil Biota Management in Sustainable Farming Systems* (Pankhurst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R. and Grace, P.R., eds). Melbourne, Australia: CSIRO, pp. 50-62.
- 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.
- SYLVESTER-BRADLEY, R.; ASAKAWA, N.; LA TORRACA, S.; MAGALHÃES, F.M.M. & PEREIRA, R.M. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfato na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. *Acta Amazônica*, 12: 15-22, 1982.
- TABATABAI, M.A. 1994. Enzymes. In: WEAVER, R.W., AUGLE, S., BOTTOMLY, P.J., BEZDICEK, D., SMITH, S., TABATABAI, A., WOLLUM, A. (eds.), *Methods of soil analysis. Part 2. Microbial and biochemical properties*, n. 5. Soil Science Society of America, Madison, p.775-833, 1994.