

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

## ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS SOLUBILIZADORAS DE FOSFATO: POTENCIAIS NOVOS BIOESTIMULANTES PARA AGRICULTURA

**Lincoln Xavier Correa, Dalila da Costa Gonçalves, Gabriel Mendes Ribeiro,  
Serli de Oliveira Cabral, Wilian Rodrigues Ribeiro, Willian Bucker Moraes,  
André da Silva Xavier.**

Universidade Federal do Espírito Santo - *Campus* Alegre, Alto Universitário, s/n Guararema, Alegre -  
ES, 29500-000- Brasil, lincolnxavier229@gmail.com, dalilant@hotmail.com,  
gabrielmendes0069@gmail.com, biologiaserli@gmail.com, wilianrodrigues@msn.com,  
willian.fito@gmail.com, andre.s.xavier@ufes.br

### Resumo

As bactérias solubilizadoras de fosfato desempenham um papel crucial na ciclagem de fósforo no solo e na sua disponibilização para as plantas, consideradas microrganismos benéficos com potenciais aplicações na agricultura. O presente estudo objetivou selecionar bactérias com potencial de solubilização de fosfato (P) em condições *in vitro*, e selecionar estirpe ou combinação de estirpes para melhorar a biodisponibilidade de P em condições de campo. Um total de 32 cepas previamente selecionadas em meio de cultura TSA, com baixa atividade de água, passaram por uma triagem qualitativa quanto a sua capacidade de solubilizar fosfato. 29 cepas ao final de 11 dias foram positivas para a solubilização de fosfato, sendo que destas 7 obtiveram percentual de solubilização acima de 3. Com estes resultados, espera-se ampliar o banco de microrganismos conhecidos como potenciais agentes solubilizadores de fosfato para futuras aplicações biotecnológicas na agricultura.

**Palavras-chave:** Bioprospecção. Fósforo. Promoção de crescimento vegetal. Sustentabilidade da agricultura.

**Área do Conhecimento:** Engenharia agrônômica

### Introdução

O fósforo (P) é um macronutriente essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas, depois do nitrogênio é o nutriente mais limitante para o rendimento dos cultivos (BELTRAN-MEDINA *et al.*, 2023). Em solos tropicais e altamente intemperizados, o P encontra-se na sua maior parte imobilizado (ALIYAT *et al.*, 2022) e indisponível para a absorção das raízes, sendo necessário que o mesmo seja solubilizado.

Para suprir as demandas nutricionais das plantas e manter níveis elevados de produção agrícola, uma quantidade significativa de fertilizantes fosfatados é tradicionalmente aplicada nos solos. No entanto, é preocupante que aproximadamente 70-90% desses fertilizantes fosfatados sejam retidos no solo na forma de cátions metálicos (WALPOLA *et al.*, 2022). Esse acúmulo excessivo de sais no solo tem contribuído para o aumento da salinidade, um dos principais estresses ambientais que limitam o crescimento e o desenvolvimento da maioria das plantas, resultando consequentemente na redução dos rendimentos das culturas em todo o mundo (JALILI *et al.*, 2009; ETESAMI; MAHESHWARI, 2018). Esta preocupação destaca a necessidade de abordagens agrícolas mais sustentáveis e eficientes no uso de fósforo, como o emprego de microrganismos solubilizadores de fósforo, que podem desempenhar um papel fundamental na otimização da disponibilidade desse nutriente essencial para as plantas.

Os microrganismos solubilizadores de P são parte integrante do seu ciclo no solo, desempenhando funções bioquímicas essenciais, para a ciclagem e a sua biodisponibilidade (CHAGAS JUNIOR *et al.*, 2010; ETESAMI *et al.*, 2021). Estes parceiros microbiológicos podem ser encontrados no solo, no interior das plantas ou na rizosfera, formando uma associação simbiótica com as plantas,

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

proporcionando benefícios mútuos, baseado em grande parte na troca de carbono da planta fixado fotossinteticamente, e P fornecido pelos microrganismos.

Esses microrganismos benéficos são geralmente bactérias ou fungos que liberam diferentes ácidos orgânicos de baixo peso molecular, capazes de se ligar às moléculas ou competirem por fosfatos nos sítios de adsorção, dissolvendo o fosfato por meio de trocas aniônicas (ETESAMI *et al.*, 2021). Após essa solubilização, ocorre uma modificação no equilíbrio de sorção, o que pode resultar em um aumento na transferência líquida de íons de fosfato para a solução do solo. Isso, por sua vez, torna o fósforo biodisponível para as plantas e organismos do solo (ETESAMI; MAHESHWARI, 2018; KHATOON *et al.*, 2020).

O uso de microrganismos solubilizadores de fosfato como biofertilizante é uma abordagem ecologicamente correta de promover o aporte e manutenção de nutrientes nos solos, minimizar a deficiência de P, e reduzir o uso demorado de insumos agrícolas. Nessa perspectiva, encontrar na natureza microrganismos solubilizadores de fosfato aplicáveis a agricultura, é uma abordagem favorável ao meio ambiente e a produção agrícola. Objetivou-se com este trabalho selecionar bactérias com potencial de solubilizar o fosfato em condições *in vitro*, e selecionar estirpe ou combinação de estirpes para melhorar a biodisponibilidade de P em condições de campo.

## Metodologia

Nesse estudo foram utilizadas 32 bactérias pertencentes à coleção de microrganismos do Laboratório de Biotecnologia Agrícola e Ambiental (Biota) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), *campus* de Alegre-ES, previamente cultivados em meio TSA 10% com reduzida atividade de água (*Aw*), utilizando Sorbitol 285 g L<sup>-1</sup> (HALLSWORTH *et al.*, 1998). Os microrganismos foram reativados em meio BDA (Batata 200 g.L<sup>-1</sup>; Dextrose, 20 g.L<sup>-1</sup> e Ágar, 15 g.L<sup>-1</sup>), empregando o método de estrias para obtenção de colônia pura, e em seguida, foram repicadas em tubos de ensaio contendo meio de cultura caldo nutriente (Nutriente Broth), e levados para crescimento em incubadora tipo Shaker regulada para condição de 28 °C ± 2 °C e 160 RPM (rotações por minuto), mantidas *overnight*.

Para avaliação qualitativa, os isolados bacterianos foram inoculados em meio de cultura sólido contendo fosfato insolúvel, segundo o protocolo Nautiyal *et al.*, (1999), utilizando meio de cultura NBRIP sólido (National Botanical Research Institute's Phosphate growth) (10 g de glucose; 5 g de Ca<sub>5</sub>(OH)(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>; 5 g de MgCl<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O; 0,25 g de MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O; 0,2 g de KCl; 0,1 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 20 g de ágar puro e pH 7,0), contendo fosfato tricálcico como fonte de fósforo.

Em cada placa de Petri, contendo meio NBRIP, foram inoculados 3 µL de suspensão bacteriana, bem como controles positivos, que incluíam *Pseudomonas fluorescens*, A1F.3 e *Azospirillum brasiliense*. Utilizou-se água destilada e esterilizada como o controle negativo. O experimento foi realizado em triplicata e seguiu um delineamento inteiramente casualizado. As placas foram incubadas a 28°C ± 2°C durante 11 dias em câmara de crescimento BOD, sem fotoperíodo. A formação de um halo transparente ao redor da colônia indicou a solubilização de fosfato inorgânico.

Foram realizadas medições no 2º, 5º, 9º e 11º dia após a inoculação com repiques pontualmente equidistantes em triplicata nas placas de Petri. Foi mensurado o diâmetro da colônia e do halo da colônia, por meio de paquímetro digital, sendo determinado o Índice de Solubilização (IS), definido pela razão entre o diâmetro médio do halo de solubilização e o diâmetro médio da colônia bacteriana (BERRAQUEIRO *et al.*, 1976).

$$IS = \frac{\text{Diâmetro do halo de solubilização (mm)}}{\text{Diâmetro da colônia bacteriana (mm)}}$$

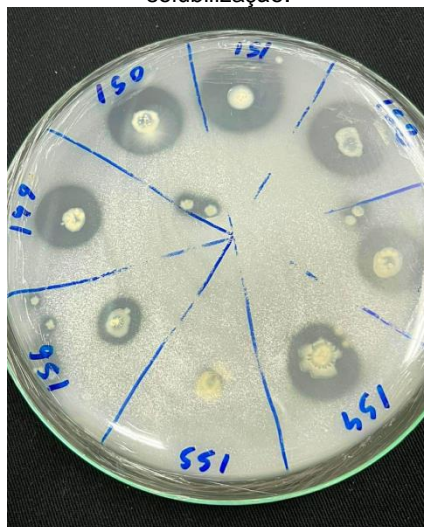
Com base nos índices de solubilização, as bactérias foram classificadas como linhagens com baixa (IS < 2), média (2 ≤ IS < 4) e alta solubilização (IS ≥ 4). Em relação ao início da solubilização, as bactérias foram classificadas como precoces, quando o início da solubilização se deu até o terceiro dia, e tardias, com início da solubilização depois do terceiro dia e 'não-solubilizadoras aparentes', aquelas que não apresentaram solubilização visível até o 11º dia de avaliação (BERRAQUEIRO *et al.*, 1976; CHAGAS JUNIOR *et al.*, 2010). O índice de solubilização foi submetido à análise de variância (ANOVA) através do programa estatístico SISVAR 5.6®, e a comparação entre as médias foi realizada pelo teste de Tukey (p<0,05).

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

## Resultados

Todas as cepas bacterianas aqui estudadas apresentaram crescimento micelial no meio de cultivo enriquecido com sorbitol com baixa atividade de água (0,963 Aw, a 28°C). No teste de solubilização de fosfato, a capacidade de solubilização de fosfato foi confirmada por meio da presença de um halo translúcido no entorno da colônia como pode ser averiguado na Figura 1.

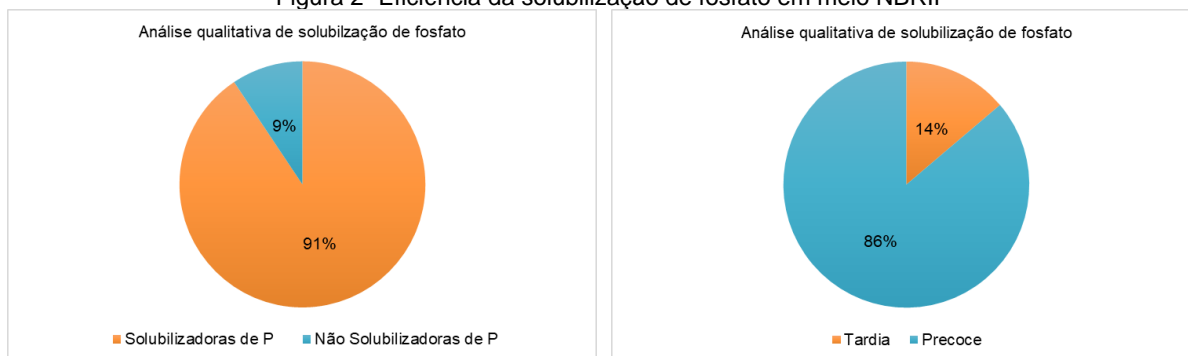
Figura 1 - Teste positivo quanto à solubilização de fosfato inorgânico com a presença de halo de solubilização.



Fonte: o autor.

Dentre os 32 isolados 29 foram capazes de solubilizar P. Qualitativamente dentre o total, 4 cepas foram classificadas como tardias, pois o início da solubilização se iniciou após o terceiro dia, e 25 cepas consideradas precoces, pois o início da solubilização se deu até o 3º dia, e 3 cepas não solubilizadoras, visto que até o 11º dia de avaliação não foi observado a presença do halo translúcido ao redor da colônia bacteriana. Por meio da análise de variância, foram detectadas diferenças significativas entre as cepas estudadas ( $p \leq 0,05$ ). Assim, genericamente falando, as cepas UFES135, UFES146, UFES147 e UFES163 foram as mais promissoras na solubilização de fosfatos inorgânicos, com resultados superiores aos demais. A Figura 2 apresenta a eficiência da solubilização de fosfato em meio NBRIP sólido, indicada pelo índice de solubilização (IS) calculado pela razão entre a média do diâmetro dos halos e a média dos diâmetros das colônias de cada isolado após 11 dias de incubação. Os gráficos apresentam as análises quantitativas e qualitativas.

Figura 2- Eficiência da solubilização de fosfato em meio NBRIP



Fonte: autor.

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

## Discussão

As plantas e os microrganismos desenvolvem interações bióticas que resultam na promoção do crescimento das plantas. Essas associações mutualísticas permitem que as plantas obtenham nutrientes, melhoram a resistência a estresses ambientais, e aumentam sua capacidade de adaptação. Dentre estes microrganismos, os fungos micorrízicos e as bactérias promotoras do crescimento vegetal (PGPB) são os mais estudados, por atuarem de várias maneiras para promover o crescimento das plantas e aumentar o rendimento das culturas (ETESAMI *et al.*, 2021). Dentre estes o subgrupo de bactérias solubilizadoras de fosfato são conhecidos por seu papel preponderante na mineralização e solubilização do fósforo, contribuindo para minimizar a deficiência de P nas plantas.

Na maior parte das vezes, os fosfatos encontram-se na sua forma inorgânica, ou seja, não acessível às plantas, a presença das bactérias solubilizadoras de fosfato no solo está diretamente relacionada com a disponibilização do nutriente na sua forma orgânica, que é assimilável pelos vegetais. As PGPR podem auxiliar as plantas em aumentar a disponibilidade e aquisição de nutrientes por meio da solubilização de P (JALILI ET *et al.*, 2009; CHAGAS JUNIOR *et al.*, 2010).

A maior disponibilidade do P favorece o crescimento das plantas devido principalmente a maior eficiência fotossintética, produção de fitohormônios e demais moléculas que estimulam o crescimento radicular e maior acúmulo de biomassa, contribuindo substancialmente na produtividade das lavouras. Uma bactéria isolada de uma rizosfera de alfafa em uma área de recuperação contaminada por metais pesados na província de Shanxi, China demonstrou alta capacidade de solubilização de P para diferentes fontes de P e promoveu o crescimento da planta, sugerindo ser uma abordagem ecologicamente correta e aumentar a produção agrícola em solo recuperado (CHEN; LIU, 2019).

Combinação de três cepas bacterianas aumentaram significativamente a altura da planta, rendimento de grãos e o teor de nutrientes no trigo em casa de vegetação e sob condição de campo (KUMAR *et al.*, 2014). Um consórcio bacteriano composto por N-fixer (*Rahnella* sp. cepa EU-A3SNfb), solubilizador de P (*Bacillus tropicus* EU-ARP-44) e solubilizador de K (*B. megaterium* EU-ARK-23) proporcionou maiores índices no crescimento do trigo em relação à inoculação individual de bactérias (NEGI *et al.*, 2023).

O P pode ativar vias de sinalização e desencadear a expressão de genes responsivos ao estresse nas plantas, o que pode aumentar sua capacidade de tolerar eventos extremos, melhorando a resiliência das plantas cultiváveis, fortalecendo as propostas de sustentabilidade da agricultura (KUMAR *et al.*, 2014; ETESAMI *et al.*, 2021). Ao melhorar a disponibilidade de fósforo no solo, essas bactérias promovem o crescimento vegetal saudável, aumentam o rendimento das culturas e fortalecem as plantas para enfrentar os desafios climáticos do futuro, desempenhando um papel essencial na busca por uma agricultura mais produtiva e resiliente. A solubilização de fosfato representa uma das inúmeras maneiras pelas quais as bactérias podem atuar como promotores de crescimento das plantas. A interação entre as bactérias benéficas e as plantas é altamente complexa e pode envolver muitos outros mecanismos e benefícios adicionais. Posteriormente ensaios de campo serão realizados a fim investigar os efeitos dos inoculantes microbianos sobre o desempenho de plantas cultiváveis em diferentes condições.

## Conclusão

As bactérias solubilizadoras de fósforo têm um papel fundamental no desenvolvimento de estratégias agrícolas eficientes, ajudando a maximizar a produção agrícola, melhorar a qualidade das culturas e permitir que as plantas enfrentem desafios climáticos futuros de maneira mais robusta e resiliente.

## Referências

ALIYAT, F. Z.; MALDANI, M.; EL GUILLI, M.; NASSIRI, L.; IBIJBIJEN, J. Phosphate-solubilizing bacteria isolated from phosphate solid sludge and their ability to solubilize three inorganic phosphate forms: Calcium, iron, and aluminum phosphates. **Microorganisms**, v. 10, n. 5, p. 980, 2022.



## A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

<https://doi.org/10.3390/microorganisms10050980> Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-2607/10/5/980> Acesso em: 18 jul. 2023

BERRAQUEIRO, F.R.; BAYA, A.M.; CORMENZANA, A.R. Establecimiento de índices para el estudio de la solubilización de fosfatos por bacterias del suelo. **ARS Pharmaceutica**, Granada, v.17, n. 4, p.399-406, 1976. Disponível em: <https://revistaseug.ugr.es/index.php/ars/article/view/24869> Acesso em: 06 jul. 2023.

BELTRAN-MEDINA, I.; ROMERO-PERDOMO, F.; MOLANO-CHAVEZ, L.; GUTIÉRREZ, A. Y.; SILVA, A. M.; ESTRADA-BONILLA, G. Inoculation of phosphate-solubilizing bacteria improves soil phosphorus mobilization and maize productivity. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 126, n. 1, p. 21-34, 2023. <https://doi.org/10.1007/s10705-023-10268-y> Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10705-023-10268-y> Acesso em: 18 jul. 2023.

CHAGAS JUNIOR, A. F.; OLIVEIRA, L. A. D.; OLIVEIRA, A. N. D.; WILLERDING, A. L. Capacidade de solubilização de fosfatos e eficiência simbiótica de rizóbios isolados de solos da Amazônia. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, p. 359-366, 2010. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v32i2.3185> Disponível em: <https://www.scielo.br/j/asagr/a/RRKLxC8xTJk7jBt7TZrjTqr/?lang=pt> Acesso em: 17 jul. 2023.

CHEN, Qian; LIU, Shanjiang. Identification and characterization of the phosphate-solubilizing bacterium *Pantoea* sp. S32 in reclamation soil in Shanxi, China. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 2171, 2019. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02171> Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.02171/full> Acesso em: 21 jul. 2023.

ETESAMI, Hassan; MAHESHWARI, Dinesh K. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 156, n. 30, p. 225-246, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.013> Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147651318301921?casa\\_token=cBrm-xalNyEAAAAA:X4KW7joTRqb6-eeS3-WTIC0Jfhc4C5INT2bEUirpXusEOwyTh70k97r2xhIKaPzU2kkHrKPvvsqYE](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147651318301921?casa_token=cBrm-xalNyEAAAAA:X4KW7joTRqb6-eeS3-WTIC0Jfhc4C5INT2bEUirpXusEOwyTh70k97r2xhIKaPzU2kkHrKPvvsqYE) Acesso em: 18 jul. 2023.

ETESAMI, H.; JEONG, B. R.; GLICK, B. R. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi, phosphate-solubilizing bacteria, and silicon to P uptake by plant. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 699618, 2021. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.699618>

HINSINGER, Philippe. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. **Plant and Soil**, v. 237, n. 2, p. 173-195, 2001. <https://doi.org/10.1023/A:1013351617532>

JALILI, F.; KHAVAZI, K.; PAZIRA, E.; NEJATI, A.; RAHMANI, H. A.; SADAGHIANI, H. R.; MIRANSARI, M. Isolation and characterization of ACC deaminase-producing fluorescent pseudomonads, to alleviate salinity stress on canola (*Brassica napus* L.) growth. **Journal of plant physiology**, v. 166, n. 6, p. 667-674, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2008.08.004> Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0176161708002435?casa\\_token=bK5aFM1mctAAAAAA:mgh3OSPNSh-ioB8sN7VUA6L1HRoTZPb2EL9WCqhACE63mpwSzL0JAQsL0KMr64m-oxpIA9KVIT5](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0176161708002435?casa_token=bK5aFM1mctAAAAAA:mgh3OSPNSh-ioB8sN7VUA6L1HRoTZPb2EL9WCqhACE63mpwSzL0JAQsL0KMr64m-oxpIA9KVIT5) Acesso em: 26 jul. 2023.

KHATOON, Z.; HUANG, S.; RAFIQUE, M.; FAKHAR, A.; KAMRAN, M. A.; SANTOYO, G. Unlocking the potential of plant growth-promoting rhizobacteria on soil health and the sustainability of agricultural systems. **Journal of Environmental Management**, v. 273, n. 1, p. 111118, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111118>

# A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

KUMAR, A.; MAURYA, B. R.; RAGHUWANSHI, R. Isolation and characterization of PGPR and their effect on growth, yield and nutrient content in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 3, n. 4, p. 121-128, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2014.08.003>  
Disponível em:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1878818114001091?via%3Dihub> Acesso em: 16 jul. 2023.

NEGI, R.; KAUR, T.; DEVI, R.; KOUR, D.; YADAV, A. N. Assessment of nitrogen-fixing endophytic and mineral solubilizing rhizospheric bacteria as multifunctional microbial consortium for growth promotion of wheat and wild wheat relative *Aegilops kotschy*. *Heliyon*, v. 8, n. 12, 2022. Disponível em: <http://www.cell.com/heliyon> Acesso em: 20 jul. 2023.

WALPOLA, Buddhi Charana; ARUNAKUMARA, Kodithuwakku Kankanange Indika Upali; YOON, Min Ho. Phosphate solubilization by phosphate solubilizing microorganisms: Insight into the mechanisms. *Korean Journal of Agricultural Science*, v. 49, p.1-19, 2022. <https://doi.org/10.7744/kjoas.20220041>  
Disponível em: <http://ir.lib.ruh.ac.lk/xmlui/handle/iruor/9145> Acesso em: 16 jul. 2023.

## Agradecimentos

Ao Centro de Ciências Agrárias Engenharias e ao Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI) da Universidade Federal do Espírito Santo, *Campus Alegre*, nas dependências dos quais os experimentos ocorreram, bem como o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES).