

MICRORGANISMOS COM POTENCIAL DE SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO NATURAL POR MEIOS SELETIVOS

Autores: Vinicius de Souza Monteiro, Gabriel Mendes Ribeiro, Kamila Dias da Silva, Marina Martins Moraes, Felipe Vaz Andrade, Leandro Fonseca de Souza.

Universidade Federal do Espírito Santo – Campus Alegre/Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, Alto Universitário, S/N, Guararema – 29500-000 – Alegre-ES, Brasil,
viniciusmonteiro.15@hotmail.com, gabrielmendes0069@gmail.com, kamila.d.silva@edu.ufes.br
marina.mmartins28@hotmail.com, felipevazandrade@gmail.com, leandro.f.souza@ufes.br.

Resumo

O estudo apresentado foca no isolamento de microrganismos com potencial para solubilização de fósforo a partir de meios seletivos com fosfato natural. O fósforo é um nutriente essencial para o crescimento das plantas, mas sua forma insolúvel no solo limita sua absorção pelas plantas. Microrganismos solubilizadores de fósforo (MSF) possuem a capacidade de transformar formas insolúveis de fósforo em formas solúveis, facilitando a absorção pelas plantas e promovendo um uso mais eficiente de fosfatos naturais. O isolamento foi realizado a partir de solo proveniente de agricultura orgânica (uso de cama de frango) por mais de 30 anos. A metodologia incluiu diluição seriada de amostras de solo (10^{-3} e 10^{-5}) o uso de meios NBRIP (National Botanical Research Institute Phosphate) modificados com fosfato natural: OCP Phosactiv, Heringer, Termofosfato OrgLab, Yoorin Mg, Gefoscal e TSA (Tryptic Soy Agar) em duas diluições (10% e 100%) para o cultivo de microrganismos a partir do solo. A seguir, foi realizada seleção de colônias isoladas, purificação das colônias, avaliação de morfologia e testes de solubilização de fósforo em meio sólidos NBRIP modificado com os diferentes substratos rochosos como fonte de fósforo, comparando resultados de solubilização com o do isolado comercial *Pantoea agglomerans*. Os resultados mostraram que a estratégia Yoorin Mg, partindo da diluição seriada 10^{-5} , foi a de maior quantidade de isolados solubilizadores.

Palavras-chave: microbiologia agrícola. sustentabilidade. agroecologia. bioinsumos.

Área do Conhecimento: Engenharia Agrônômica / Agronomia.

Introdução

Para se desenvolverem e completarem o ciclo de vida, as plantas dependem de diversos elementos. Esses elementos são divididos em macro e micronutrientes, conforme a quantidade presente nos tecidos vegetais. Entre os macronutrientes encontra-se o fósforo (Ferreira, 2012) que desempenha funções em processos fisiológicos como a formação de raízes, a floração, a produção de sementes, a fotossíntese e a maturação (Ferreira, 2012; Cruz *et al.*, 2024). Apesar de sua importância, o fósforo aplicado ao solo pode não estar disponível para absorção pelas plantas, pois grande parte encontra-se em formas insolúveis ou de baixa solubilidade, limitando o transporte e absorção pelas plantas, e consequentemente comprometendo a produtividade agrícola (Nautiyal, 1999).

Diante desse cenário, alternativas sustentáveis para aumentar a disponibilidade de fósforo têm sido amplamente estudadas, com destaque para o uso de microrganismos solubilizadores de fosfato (MSF). Esses microrganismos possuem a capacidade de liberar formas solúveis de fósforo a partir de compostos insolúveis presentes no solo, tornando o nutriente disponível às plantas e contribuindo para um melhor aproveitamento dos fertilizantes fosfatados (Sylvester-Bradley *et al.*, 1982; Alves *et al.*, 2002). Além disso, estudos recentes destacam o potencial multifuncional dessas bactérias, não apenas na solubilização de fósforo, mas também na promoção do crescimento vegetal, representando uma estratégia promissora para a agricultura sustentável (Cruz *et al.*, 2024).

Esse estudo tem como objetivo isolar microrganismos com potencial de solubilização de fósforo mediante meios seletivos e fosfato natural de baixa solubilidade.

Metodologia

O solo utilizado para a experimentação foi coletado no Sítio Rossmann, localizado no município de Santa Maria de Jetibá, Espírito Santo (20°02'15.6"S 40°46'56.4"W), com as seguintes características químicas: pH CaCl_2 : 6,45; M.O. Colorimétrica: 40,4 g/dm³; Cálcio (KCl 1 mol/L): 94,9 mmolc/dm³; Magnésio (KCl 1 mol/L): 13,9 mmolc/dm³; Potássio (Resina): 1,17 mmolc/dm³; H+Al SMP: 13,9 mmolc/dm³; Fósforo (Resina): 809,5 mg/dm³; SB: 109,93 mmolc/dm³; CTC: 123,83 mmolc/dm³; V: 89%. A área é manejada sob o sistema de agricultura orgânica, certificada pelo Instituto Chão Vivo, caracterizando-se pela ausência de insumos químicos e adoção de práticas sustentáveis no manejo de café arábica (*Coffea arabica*).

Foram coletadas amostras de solo de 3 locais da entrelinha do café: a região rizosférica (próxima à raiz); a região próxima da rizosfera (aproximadamente 30cm, porém com significativa presença de material orgânico) e a região afastada da rizosfera (aproximadamente 60cm).

Após coleta, as amostras foram levadas ao laboratório de microbiologia da UFES campus de Alegre, onde passaram pelo processo de diluição seriada, e as diluições 10^{-3} e 10^{-5} selecionadas para plaqueamento. Para isso, partiu-se de 1 g de solo para 9 mL de solução salina estéril (NaCl 0,85%). Após isso, foi utilizado o método de semeadura por espalhamento (ou spread-plate). As diluições 10^{-3} e 10^{-5} foram plaqueadas em 6 meios NBRIP sólido, sendo que 5 desses foram feitos em NBRIP sólido modificados (Nautiyal, 1999), sendo preparados com 10 g de glicose, 5 g de $\text{Ca}_5(\text{OH})(\text{PO}_4)_3$ (em substituição ao fosfato tricálcio, foram utilizados 5 fosfatos naturais: OCP Phosactiv, Heringer, Termofosfato OrgLab, Yoorin Mg e Gefoscal), 5 g de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,25 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,2 g de KCl, 0,1 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 18 g de ágar e pH 7,0, para volume total de 1 L). Outro meio utilizado foi o meio Tryptic Soy Agar (TSA) a 10% e 100% (15,0 g de triptona, 5,0 g de digestão papaica de soja, 5,0 g de cloreto de sódio, 15,0 g de ágar e pH 7,3, para volume total de 1 L). As bactérias foram incubadas por 7 dias, a 28°C.

Após período de incubação foi realizada a repicagem das colônias em novas placas de TSA, utilizando uma alça estéril para garantir a obtenção de culturas puras. As colônias que apresentaram características morfológicas diferenciadas foram selecionadas e repicadas em placas adicionais para purificação. A purificação foi realizada repetidamente até que colônias isoladas, com características morfológicas distintas, fossem obtidas cepas puras.

Para a caracterização morfológica, as colônias purificadas foram observadas quanto a suas características macroscópicas, como forma, cor, textura e borda. Para a preservação do material, as cepas purificadas foram mantidas em tubos contendo ágar nutriente (1,0 g de extrato de carne, 2,0 g de extrato de levedura, 5,0 g de peptona, 5,0 g de cloreto de sódio, 15,0 g de ágar e pH final ajustado para $6,8 \pm 0,2$ a 25°C) e glicerol 40% para garantir a viabilidade a longo prazo.

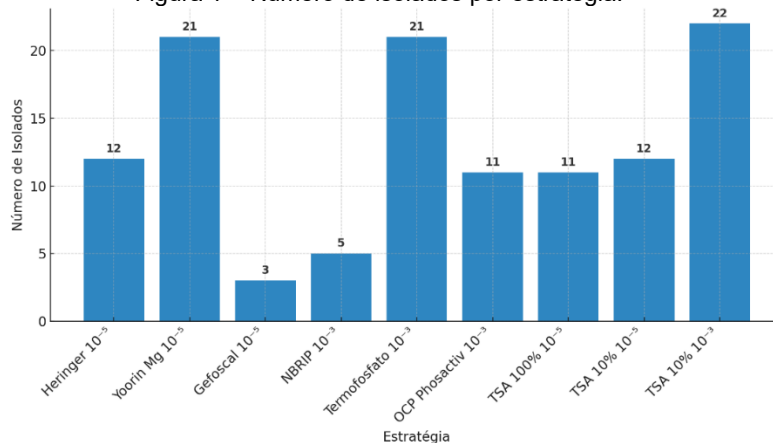
Para verificar a capacidade de solubilização das cepas, foi feito "spot test" em meio NBRIP, o diâmetro do halo e da colônia foram medidos após 14 dias incubadas a 28°C (Nautiyal, 1999). O isolamento de bactérias com capacidade de solubilizar fósforo foi confirmado pela formação de uma área clara (halo) ao redor da colônia (INUI, 2009), comparando com o crescimento do controle positivo (*Pantoea agglomerans*), que possui capacidade de solubilização de fósforo (Verma, 2009), servindo assim, para comprovar se o meio de cultura e as condições do ensaio permitem a detecção da atividade de solubilização.

Resultados

Conforme a Figura 1, observamos o valor total de 118 isolados obtidos a partir dos tratamentos estudados (fosfatos naturais e diluições). A distribuição de isolados entre os tratamentos variaram, com Gefoscal, diluição seriada 10^{-5} , apresentando a menor quantidade de isolados (3), enquanto TSA 10%, diluição 10^{-3} , se destacou com o maior número de isolados (22), seguida do Yoorin Mg, diluição 10^{-5} e Termofosfato OrgLab diluição 10^{-3} com 21 isolados.

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

Figura 1 – Número de isolados por estratégia.

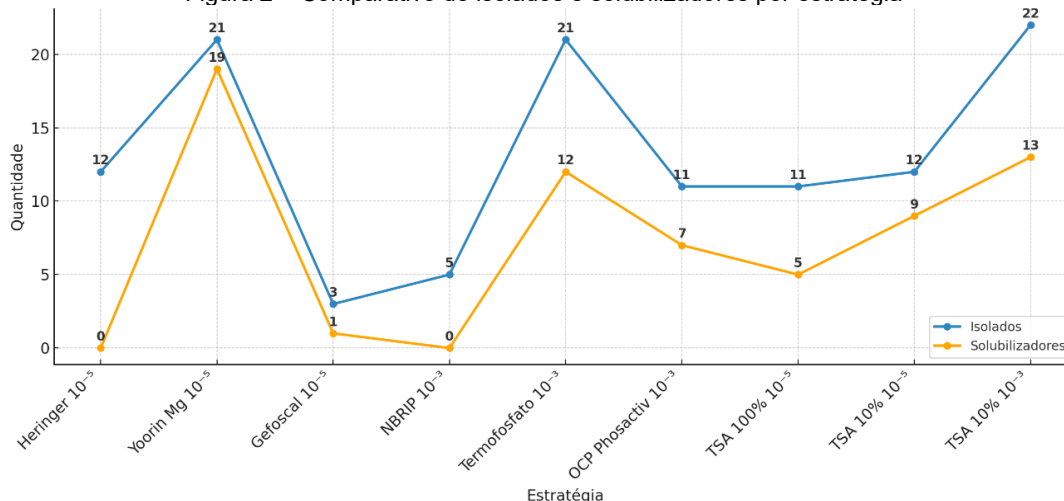


Fonte: Elaborado pelos próprios autores.

Conforme apresentado na Figura 2, em relação aos isolados solubilizadores tivemos um total de 66. O tratamento Yoorin Mg 10⁻⁵ se destacou com 19 solubilizadores, representando o maior número de solubilização. A estratégia TSA 10%, diluição seriada 10⁻³, obteve 13 solubilizadores, também mostrando um bom desempenho. Já as estratégias Heringer, diluição 10⁻⁵ e NBRIP, diluição 10⁻³ não apresentaram solubilizadores, o que sugere que, apesar da quantidade de isolados, essas estratégias não foram eficazes na obtenção de microrganismos com capacidade de solubilização de P a partir de amostras diluídas de solo.

De forma geral, os tratamentos TSA (100% e 10%) demonstraram um bom equilíbrio entre isolados e solubilizadores, com TSA 10%, diluição 10⁻³, se destacando em ambas as categorias.

Figura 2 – Comparativo de isolados e solubilizadores por estratégia



Fonte: Elaborado pelos próprios autores.

Discussão

Tanto o tratamento Yoorin Mg, diluição 10⁻⁵ e Termofosfato OrgLab, diluição 10⁻³, mostraram um bom desempenho em termos de solubilização, isso possivelmente se dá pelo fato de serem termofosfatos. Os termofosfatos são fertilizantes fosfatados insolúveis em água, mas torna-se altamente solúvel quando entra em contato com ácidos fracos presentes no solo, especialmente na região rizosférica das plantas, o que proporciona uma liberação gradual de sua solubilidade (Prado,

2018). Sendo assim, podemos assimilar as características desse grupo de fosfato natural com uma das características dos microrganismos que é solubilização de fosfato inorgânico, pois normalmente produzem e secretam ácidos, como o ácido cítrico (Alori, 2017). TSA 10%, diluição 10^{-3} se destacou por ser um meio mais generalista e bem nutritivo, por não ser seletivo, ele não contém substâncias que inibem o crescimento de microrganismos específicos, tornando-o ideal para cultivos gerais.

Conclusão

A pesquisa evidenciou que microrganismos com capacidade de solubilizar fósforo podem ser isolados do solo e possivelmente possuem a capacidade de melhorar a disponibilidade desse nutriente, especialmente em sistemas agrícolas orgânicos. A estratégia Yoorin Mg, diluição 10^{-5} se destacou como a mais eficaz na obtenção de isolados solubilizadores de fósforo, seguida por outras estratégias como o Termofosfato da OrgLab. Esses microrganismos contribuem para práticas agrícolas mais sustentáveis, sendo assim, mais estudos devem ser realizados para concluir quais microrganismos são esses e porque essa relação com determinados meios de cultura.

Referências

ALORI, Elizabeth T.; GLICK, Bernard R.; BABALOLA, Olubukola O. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 971, 2017.

ALVES, L.; MENDOZA, E. A.; SILVA FILHO, G. N. Microrganismos solubilizadores de fosfatos e o crescimento de pinus e eucalipto. **Revista brasileira de ciência do solo**, v. 26, p. 939-947, 2002.

CRUZ, D. R. C. *et al.* Microorganismos multifuncionais na agricultura: uma revisão sistemática sobre bactérias solubilizadoras de fósforo. **Contribuciones A Las Ciencias Sociales**, v. 17, n. 3, p. e5854, 2024.

FERREIRA, Magna Maria Macedo. Sintomas de deficiência de macro e micronutrientes de plantas de milho híbrido BRS 1010. **Revista Agro@ambiente On-line**, v. 6, n. 1, p. 74-83, 2012.

INUI, Rosangela Naomi. Isolamento e identificação de bactérias solubilizadoras de fósforo e produtoras de auxinas em solo com cana-de-açúcar. 2009. x, 78 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2009. Disponível em: <<http://acervodigital.unesp.br/handle/11449/92654>>. Acesso em: 4 set. 2025.

NAUTIYAL, C. Shekhar. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS microbiology Letters**, v. 170, n. 1, p. 265-270, 1999.

PRADO, Emília Rezende. Avaliação de termofosfato em plantas de alface sob condições de casa de vegetação. 2018. Dissertação (Mestrado em Olericultura) – Instituto Federal Goiano. Disponível em: <chromeextension://efaidnbmninnibpcapjpcglclefindmkaj/https://repositorio.ifgoiano.edu.br/bitstream/prefi/x/110/1/Tcc.Emilia%20rezende%20.pdf>. Acesso em: 8 set. 2025.

SYLVESTER-BRADLEY, Rosemary et al. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfatos na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. **Acta Amazonica**, v. 12, n. 1, p. 15-22, 1982.

VERMA, Subhash C.; LADHA, Jagdish K.; TRIPATHI, Anil K. Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. **Journal of biotechnology**, v. 91, n. 2-3, p. 127-141, 2001.

*A Ciência do **NANO** e seu impacto transformador no **MACRO***

Agradecimentos

Agradeço à Fundação de Amparo a Pesquisas no Espírito Santo (Fapes) e a Secretaria de Estado da Agricultura, Abastecimento, Aquicultura e Pesca do Espírito Santo pela bolsa de iniciação científica ao primeiro autor e pelo apoio financeiro para execução desse projeto (INOVAGRO 2024), além disso, aos colegas e orientador que contribuíram para o desenvolvimento do projeto e à família Rossman, por permitir acesso à propriedade e a coleta de solos.