

Seleção de Bactérias Solubilizadoras de Fosfato Inorgânico, Presentes em Biofertilizantes

Screening of Inorganic Phosphate Solubilizing Bacteria on Biofertilizers

SHIOMI, Humberto Franco. UNICENTRO, e-mail: hfshiomi@yahoo.com.br;
DEDORDI, Cássio. UNICENTRO, e-mail: chalera26@yahoo.com.br;
VICENSI, Marcelo. UNICENTRO, e-mail: marcelo_vicensi@hotmail.com;
OLIARI, Ires Cristina Ribeiro. UNICENTRO, e-mail: irescristina21@hotmail.com

Resumo

O objetivo deste trabalho foi realizar uma seleção de isolados bacterianos presentes em biofertilizantes, preparados a partir da digestão aeróbia e anaeróbia de esterco bovino, com habilidade metabólica de solubilizar duas fontes diferentes de fosfato inorgânico (fosfato de Al e fosfato de Ca), em testes *in vitro*. Para o isolamento foi utilizado o método da diluição seriada até 10^{-4} e plaqueamento em meio extrato de levedura (EL), suplementado, de forma individual, com as fontes de fosfato inorgânico. A seleção foi realizada por análise visual, pela observação da presença de um halo transparente ao redor da colônia. Foram selecionados nove isolados com habilidade metabólica para solubilizar fosfato de cálcio e seis para fosfato de alumínio. Os isolados mais promissores foram multiplicados e armazenados para utilização futura, por microbiolização de sementes, associados à incorporação de pó de basalto ao substrato de plantio, para verificação de solubilização de fosfato e promoção de crescimento vegetal.

Palavras chave: Fosfatos de alumínio e cálcio, promoção de crescimento vegetal.

Abstract

The aim of this work was realize a screening of bacterial strains in biofertilizers, prepared from aerobic and anaerobic digestion of cattle with metabolic ability to solubilize two different sources of inorganic phosphate (aluminum phosphate and calcium phosphate) in vitro assessments. To the isolation was used the method of serial dilution until 10^{-4} and plating in yeast extract (EL) medium, supplemented individually, with the sources of inorganic phosphate. The screening was realized by visual analysis, watching the presence of a transparent circle around the colony. Was selected nine strains with metabolic ability to solubilize calcium phosphate and six to aluminum phosphate. The most promising strains were multiplied and stored for future use by seeds microbiolization with the incorporation of basalt powder in substrate of planting for verification of phosphate solubilization and plant growth promotion.

Keywords: Calcium and aluminum phosphate , plant growth promotion.

Introdução

No município de Guarapuava a agricultura familiar ocupa cerca de 41% da área total, realizando o cultivo agrícola com baixo índice tecnológico e com apenas 58% destes agricultores utilizando fertilizantes para a nutrição vegetal (FÁVARO et al., 2004). A região compreendida pelo município detêm os menores valores de IDH-M (índice de desenvolvimento humano municipal), além das menores medianas de frequência escolar e de renda do Estado do Paraná (IPARDES, 2003).

A utilização de biofertilizantes produzidos a partir da digestão aeróbica e anaeróbica de esterco bovino, conjuntamente com pó de basalto podem se apresentar como uma forma promissora e viável para utilização como fertilizantes, uma vez que, além do baixo impacto ambiental, representam uma opção barata e de fácil disponibilidade para o produtor rural, que se aproveita do material disponível na propriedade para o preparo do biofertilizante e do pó de basalto,

subproduto de pedreiras que comercializam esta rocha na região.

Esses biofertilizantes possuem uma complexa e elevada comunidade microbiana, com a presença de bactérias, fungos leveduriformes e filamentosos e actinobactérias (CASTRO et al., 1992; ELAD; SHTINBERG, 1994; MACQUILKEN et al., 1994; WELTZIEN; KATTERER, 1986; YOHALEM et al., 1996), seus metabólitos e compostos orgânicos e inorgânicos, com efeitos sobre a planta e sua população epifítica, quando da sua pulverização sobre a parte aérea.

É conhecida a capacidade de microrganismos em solubilizar fosfatos de rocha, os quais vem recebendo a atenção dos pesquisadores, principalmente, pela possibilidade de seu emprego em programas de interação com microrganismos fixadores de N_2 (NAHAS, 1999; SANTOS, 2002). Entre os gêneros de bactérias mais eficientes na solubilização de fosfatos inorgânicos destacam-se isolados de *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Rhizobium* (RODRIGUEZ e FRAGA, 1999), enquanto nas populações fúngicas destacam-se os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* (SILVA FILHO et al., 2002), além de *Penicillium rugulosum* (REYES et al., 1999) e *Penicillium radicum*, na solubilização de $Ca_3(PO_4)_2$, $CaHPO_4$, $FePO_4 \cdot 4H_2O$ e $AlPO_4$ em meio líquido (WHITELOW et al., 1999).

Assim, o presente trabalho teve como objetivo realizar a seleção de isolados de bactéria solubilizadoras de fosfato inorgânico presentes em biofertilizantes, através de testes *in vitro*, visando a verificação futura do seu real potencial de solubilização de fosfato inorgânico, em testes sob condições de casa-de-vegetação e de campo, na promoção do crescimento vegetal de culturas de interesse econômico.

Metodologia

Preparo do biofertilizante - O biofertilizante utilizado foi produzido e coletado junto ao Departamento de Agronomia da Unicentro, campus de Guarapuava-PR. O mesmo foi elaborado de duas formas: a partir da digestão aeróbica e aneróbica de esterco bovino, ativados pela adição periódica de melaço de cana-de-açúcar e leite, conforme descrito por Santos (1992) modificado.

Isolamento de bactérias solubilizadoras de fosfato inorgânico - Para o isolamento da comunidade bacteriana presente nos biofertilizantes, com 30 dias de preparo, foi utilizado o método da diluição seriada até 10^{-4} e plaqueamento em meio extrato de levedura (EL). O meio de cultura foi suplementado, de forma individual, com as fontes de fosfato inorgânico (fosfato de cálcio e fosfato de alumínio), visando observar a habilidade metabólica das bactérias em solubilizar fosfato inorgânico de diferentes fontes, conforme os procedimentos descritos por Souchie et al. (2005). A seleção massal das bactérias solubilizadoras de fosfato, foi realizada por análise visual, pela observação da presença de um halo transparente ao redor da colônia, em 2 repetições por diluição e por fonte de fosfato. As colônias mais promissoras foram isoladas e armazenadas em frascos de vidro inclinado, contendo meio EL e armazenadas sob refrigeração. Por se tratar de uma seleção preliminar de isolados com potencial para utilização futura em programas de promoção de crescimento vegetal, não houve a preocupação em se estabelecer um delineamento experimental estatístico.

Resultados e discussão

Para a detecção dos isolados selecionados foi observada a formação de um halo transparente ao redor da colônia cultivada em meio sólido, em contraste com o meio opaco, resultados esses compatíveis com os observados por Kang et al. (2002), Kumar et al. (2001) e Souchie et al. (2005).

Do levantamento realizado visando detectar a presença de alguma formação de halo transparente, indicando atividade de metabolização de fontes de fosfato inorgânico adicionado ao meio de cultura por isolados bacterianos presentes nos biofertilizantes, observou-se que nove deles apresentavam tal característica para fosfato de cálcio e seis para fosfato de alumínio, os

quais foram retirados das duas maiores diluições (10^{-3} e 10^{-4})

Pode-se especular a sua utilização em testes futuros visando selecionar os que agem na promoção do crescimento vegetal, em condições de casa-de-vegetação e de campo, solubilizando fosfato proveniente de rocha fosfatada (fosfato de cálcio) e de solos ácidos (fosfato de alumínio) e disponibilizando esse elemento para os vegetais de interesse agrícola.

Conclusões

Biofertilizantes produzidos a partir da digestão aeróbica e anaeróbica de esterco bovino apresentam populações bacterianas capazes de solubilizar fosfato inorgânico, em testes *in vitro*.

Referências

CASTRO, C.M.; SANTOS, A.C.V.; AKIBA, F. *Bacillus subtilis* isolado do biofertilizante 'Vairo' com ação fungistática e bacteriostática a alguns fitopatógenos. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 3, 1992, Águas de Lindóia. *Anais...* Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1992. p.291.

ELAD, Y.; SHTINBERG, D. Effect of compost water extracts on grey mould (*Botrytis cinerea*). *Crop Protection*, Guildford, v.13, p.109-114, 1994.

FÁVARO, J.L.; SALVADOR, E.D.; FÁVARO JR, J.L. A presença da agricultura familiar na região de Guarapuava-PR. In: SEMANA DE ESTUDOS AGRONÔMICOS DA UNICENTRO, 2., 2004, Guarapuava. *Anais...* Guarapuava: Unicentro, 2004. p.11-19.

IPARDES. *Índice de desenvolvimento Humano Municipal – IDHM – 2000. Anotações sobre o desempenho do Paraná*. Curitiba: IPARDES, 2003. 47p.

KANG, S.C.; HA, C.G.; LEE, T.G.; MAHESHWARI, D. K. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a soilinhabiting fungus *Fomitopsis* sp. PS 102. *Current Science*, Bangalore, v. 82, n. 4, p. 439-442, 2002.

KUMAR, V.; BEHL, R. K.; NARULA, N. Establishment of phosphate-solubilizing strains of *Azotobacter chroococcum* in the rhizosphere and their effect on wheat cultivars under greenhouse conditions. *Microbiological Research*, Jena, v. 156, n. 1, p. 87-93, 2001.

MACQUILKEN, M.P.; WHIPPS, J.M.; LYNCH, J.M. Effects of water extracts of a composted manure-straw mixture on the plant pathogen *Botrytis cinerea*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Oxford, v.10, p.84-91, 1994.

NAHAS, E. Solubilização microbiana de fosfatos e de outros elementos. In: SIQUEIRA, J.O.; et al. (eds.). *Interrelação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas*. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1999. p.467-486.

REYES, I.; BERNIER, L.; SIMARD, R.R.; ANTOUN, H. Effect of nitrogen source on the solubilization of different inorganic phosphates by an isolate of *Penicillium rugulosum* and two UV-induced mutants. *FEMS Microbiology Ecology*, Amsterdam, v.28, p.281-290, 1999.

RODRIGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*, New York, v.17, p.319-339, 1999.

SANTOS, K.S. *Atuação de fosfato natural com adição de enxofre com Acidithiobacillus na*

Resumos do VI CBA e II CLAA

solubilização de fósforo e no desenvolvimento de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia*) em solo de tabuleiro. 2002. 68 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2002.

SANTOS, L.A.C.V. *Biofertilizante líquido, o defensivo da natureza*. Niterói: EMATER, 1992, 16p. (Agropecuária Fluminense, 8).

SILVA FILHO, G.N.; NARLOCH, C.; SCHARF, R. Solubilização de fosfatos naturais por microrganismos isolados de cultivos de *Pinus* e *Eucalyptus* de Santa Catarina. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.37, p.847-854, 2002.

SOUCHIE, E. L. et al. 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.

WELTZIEN, H.C.; KATTERER, N. Control of downy mildew, *Plasmopara viticola* (de Bary) Berlese et de Toni, on grapevine leaves through water extracts from composted organic wastes. *Journal of Phytopathology*, Berlin, v.116, p.186-188, 1986.

WHITELAW, M.A.; HARDEN, T.J.; HELYAR, K.R. Phosphate solubilization in solution culture by the soil fungus *Penicillium radicum*. *Soil Biology and Biochemistry*, Elmsford, v.31, p.655-665, 1999.

YOHALEM, D.S.; NORDHEIN, E.V.; ANDREWS, J.H. The effect of water extracts of spent mushroom compost on scab in the field. *Phytopathology*, St. Paul, v.86, p.914-922, 1996