

## Solubilização de fosfato de rocha por bactérias diazotróficas isoladas de raízes e folhas de *Cymbidium* sp.<sup>(1)</sup>

**Júlia Brandão Gontijo<sup>(2)</sup>; Fernanda Miranda de Oliveira<sup>(3)</sup>; Joelma Gonçalves<sup>(3)</sup>; Klever Cristiano Silveira<sup>(4)</sup>; Marihus Altoé Baldotto<sup>(5)</sup>; Lílian Estrela Borges Baldotto<sup>(5)</sup>.**

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos do CNPq, da FAPEMIG e da FUNARBE.

<sup>(2)</sup> Estudante, *Campus* Florestal, Universidade Federal de Viçosa, Rodovia LMG 818, Km 06, CEP 35690-000, Florestal, MG, Bolsista PROBIC/FAPEMIG, [julia.gontijo@ufv.br](mailto:julia.gontijo@ufv.br); <sup>(3)</sup> Estudante, *Campus* Florestal, Universidade Federal de Viçosa, [fernanda.m.miranda@ufv.br](mailto:fernanda.m.miranda@ufv.br), [joelma.goncalves@ufv.br](mailto:joelma.goncalves@ufv.br); <sup>(4)</sup> Estudante, *Campus* Florestal, Bolsista FUNARBE/FUNARBE, [klever.silveira@ufv.br](mailto:klever.silveira@ufv.br); <sup>(5)</sup> Professores, *Campus* Florestal, Universidade Federal de Viçosa, [marihus@ufv.br](mailto:marihus@ufv.br); [lilian.estrela@ufv.br](mailto:lilian.estrela@ufv.br).

**RESUMO:** O nitrogênio e o fósforo são de fundamental importância para a produtividade agrícola, mas se apresentam em teores limitados no solo e essa carência é suprida com o uso de fertilizantes químicos. Alternativamente, a formulação de inoculantes e/ou biofertilizantes contendo bactérias promotoras de crescimento e proteção de plantas tem apresentado resultados satisfatórios para várias culturas. O conhecimento da associação entre orquídeas e bactérias que atuam solubilizando fosfatos e fixando o nitrogênio atmosférico, auxiliará no desenvolvimento de sistemas de manejo mais sustentáveis, já que a obtenção de fertilizantes nitrogenados e fosfatados necessita um alto gasto energético ou de jazidas não renováveis. O presente trabalho objetivou avaliar a capacidade de solubilização de fosfato de rocha *in vitro* por bactérias diazotróficas isoladas de raízes e folhas de *Cymbidium* sp.. O trabalho foi realizado na Universidade Federal de Viçosa, *Campus* Florestal. As 17 estirpes de bactérias pertencentes à coleção UFV-CAF, previamente isoladas dos meios JMV, JMV-L, NFB, JNFB e LGI foram crescidas em meio líquido DYGS por 24 h, a 30 °C e 120 rpm. Aliquotas de 20 µL das soluções bacterianas foram colocadas em placas de Petri com meio de cultura sólido contendo fosfato de Araxá e incubadas a 30 °C por sete dias. A capacidade de solubilizar fosfato de rocha foi avaliada por meio do crescimento positivo das colônias. Das 17 estirpes, 15 solubilizaram fosfato, apontando para a possibilidade de uso de bactérias diazotróficas na solubilização de fosfatos de rocha, representando uma alternativa importante para o enriquecimento de inoculantes e ou biofertilizantes.

**Termos de indexação:** inoculante, biofertilizante, floricultura.

### INTRODUÇÃO

O fósforo é crucial no metabolismo das plantas, desempenhando papel importante na transferência de energia da célula, na respiração e na fotossíntese. É também componente estrutural dos

ácidos nucleicos, assim como de muitas coenzimas, fosfoproteínas e fosfolípidos. As limitações na disponibilidade de P no início do ciclo vegetativo podem resultar em restrições no desenvolvimento, das quais a planta não se recupera posteriormente, mesmo aumentando o suprimento de P a níveis adequados. O suprimento adequado de P é essencial desde os estádios iniciais de crescimento da planta (Grant, 2001).

Mesmo em muitos casos sendo abundante no solo, o fósforo se encontra pouco disponível para as plantas, uma vez que facilmente forma complexos insolúveis. Sendo a produção de fertilizantes à base de fósforo não vantajosa tanto econômica quanto ambientalmente (Vassilev, 2003), portanto, estudos relacionados à solubilização de fosfato de rocha por bactérias são cada vez mais exigidos.

A expansão do Setor de Floricultura e Plantas Ornamentais associada à possibilidade de utilizar bactérias promotoras de crescimento, que podem fixar nitrogênio atmosférico e solubilizar fosfatos, incentiva a realização de pesquisas visando não apenas compreender as interações entre bactérias-orquídeas, como também, realizar o isolamento, caracterização e re-introdução das bactérias promotoras de crescimento no ambiente de cultivo.

Segundo Hallmann et al. (1997), as bactérias promotoras de crescimento de plantas também possuem o potencial de solubilizar óxidos de zinco, sintetizar fitohormônios, sintetizar sideróforos, realizar controle biológico e induzir resistência sistêmica na planta hospedeira.

Para o cultivo de orquídeas propagadas *in vitro*, por exemplo, a formulação de inoculantes contendo bactérias promotoras de crescimento seria importante para acelerar o desenvolvimento das plântulas e diminuir o longo período necessário de aclimatização das mudas em casa-de-vegetação (Baldotto et al., 2010).

Dentre as orquídeas cultivadas, destacam-se os híbridos de *Cymbidium*, grupo numeroso de plantas epífitas e terrestres, rizomatosas, originárias da Ásia, com inflorescência longa, com cores variadas, formadas principalmente na primavera (Lorenzi & Souza, 2008).



Dentro deste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade de solubilização de fosfato de rocha *in vitro* por bactérias diazotróficas isoladas de raízes e folhas de *Cymbidium* sp.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Setor de Floricultura da Universidade Federal de Viçosa, *Campus Florestal* (UFV-CAF).

As bactérias diazotróficas foram previamente isoladas de raízes e folhas de *Cymbidium* sp., compondo a coleção de bactérias promotoras de crescimento de plantas da UFV-CAF. Foram isoladas 3 estirpes do meio JMV, 6 estirpes do meio JMV, 3 estirpes do meio NFb, 3 estirpes do meio JNFb e 2 estirpes do meio LGI, totalizando 17 isolados bacterianos.

Posteriormente, as bactérias foram crescidas em meio líquido DYGS por 24 h, a 30 °C e 120 rpm. Alíquotas de 20 µL das soluções bacterianas foram colocadas em placas de Petri com meio de cultura sólido contendo 10 g L<sup>-1</sup> de glicose, 5 g L<sup>-1</sup> de cloreto de amônio (NH<sub>4</sub>Cl), 1 g L<sup>-1</sup> de cloreto de sódio (NaCl), 1 g L<sup>-1</sup> de sulfato de magnésio heptahidratado (Mg SO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O), 5,0 g L<sup>-1</sup> de fosfato de Araxá, 15 g L<sup>-1</sup> de ágar, 1 L de água destilada a pH 7,0 e incubadas a 30 °C por sete dias.

A avaliação da solubilização de fosfato foi realizada por meio do crescimento positivo das colônias. Foram realizadas três repetições para cada estirpe bacteriana.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente trabalho verificou que as bactérias diazotróficas isoladas de raízes e folhas de *Cymbidium* apresentaram a capacidade de solubilizar fosfato de rocha *in vitro*, formando um halo de solubilização ao redor da colônia, conforme mostrado na **figura 1**.

Das 17 estirpes de bactérias diazotróficas avaliadas, 15 apresentaram a capacidade de solubilizar fosfato de Araxá *in vitro* (**Tabela 1**).

A habilidade dessas bactérias em solubilizar fosfatos talvez seja atribuída à redução do pH do meio (Rodríguez & Fraga, 1999). A liberação de ligantes orgânicos, agentes complexantes, polímeros extracelulares, ácidos inorgânicos, prótons durante a assimilação de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, entre outros cátions, são outros mecanismos envolvidos no processo de solubilização de fosfatos por microrganismos (Rodríguez & Fraga, 1999)

O uso de inóculos contendo bactérias

diazotróficas, ou seja, com potencial de fixar o nitrogênio atmosférico, e concomitantemente, com o potencial de solubilizar fosfato de rocha, poderia resultar em incrementos na produtividade agrícola, com menor ônus econômico e ambiental.

## CONCLUSÕES

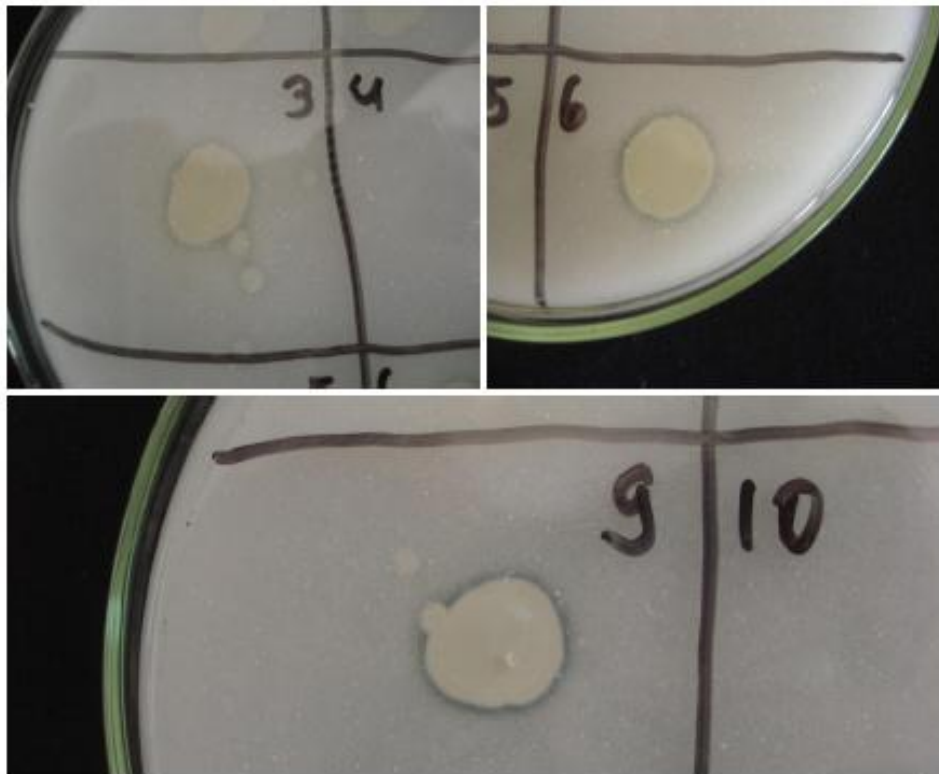
Das 17 estirpes diazotróficas pertencentes à coleção de bactérias promotoras de crescimento de plantas da UFV-CAF, 15 apresentaram a capacidade de solubilizar fosfato de rocha.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG, APQ 03929-10), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Processo 470567/2011-2) e à Fundação Arthur Bernardes (FUNARBE, Funarpeq 2011-12) pelos auxílios financeiros e bolsas concedidas.

## REFERÊNCIAS

- BALDOTTO, L. E. B.; BALDOTTO, M. A.; OLIVARES, F. L. VIANA, A. P. & BRESSAN-SMITH, R. Seleção de bactérias promotoras de crescimento no abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. Merrill) cultivar Vitória durante a aclimatização. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 34: 349-360, 2010.
- GRANT, C. A.; FLATEN, D. N; TOMASIEWICK, D. J. & SHEPPARD, S. C. A importância do fósforo no desenvolvimento inicial da planta. *Informações Agrônomicas*, nº 95, 2001.
- HALLMANN, J.; QUADT-HALLMANN, A.; MAHAFFEE, W. F. & KLOPPER, J. W. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*, 43: 895-914. 1997.
- LORENZI, H. & SOUZA, H. M. Plantas ornamentais no Brasil. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda. 2008. 1088p.
- RODRÍGUEZ, H & FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*, 17: 319-339. 1999.
- VASSILEV, N. & VASSILEVA, M. Biotechnological solubilization of rock phosphate on media containing agro-industrial wastes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61:435-440. 2003.



**Figura 1** – Colônias de bactérias diazotróficas isoladas de raízes e folhas de *Cymbidium* sp. solubilizadoras de fosfato de Araxá.

**Tabela 1** - Caracterização dos isolados bacterianos diazotróficos de *Cymbidium* sp. quanto à capacidade de solubilizar fosfato de rocha *in vitro*.

Identificação dos isolados bacterianos <sup>1</sup>		Solubilização de fosfato de Araxá
1	UFV 11161	Sim
2	UFV 11151	Sim
3	UFV 12141	Sim
4	UFV 11261	Não
5	UFV 11251	Sim
6	UFV 12261	Sim
7	UFV 12251	Sim
8	UFV 12262	Sim
9	UFV 12252	Sim
10	UFV 11361	Sim
11	UFV 11362	Sim
12	UFV 12321	Sim
13	UFV 11441	Sim
14	UFV 12421	Sim
15	UFV 11442	Sim
16	UFV 11521	Sim
17	UFV 11541	Não

<sup>1</sup> Identificação dos isolados bacterianos: nome UFV seguido dos números que indicam: nome científico da planta hospedeira (1 – *Cymbidium*), tecido vegetal usado no isolamento (1 – Raiz, 2 – Folha), meio de cultura usado no isolamento (1 – JMV, 2 – JMV-L, 3 – NFb, 4 – JNFb, 5 – LGI, 6 – LGI-P), diluição e número de ordem do isolado na coleção.