

## 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 estágios 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

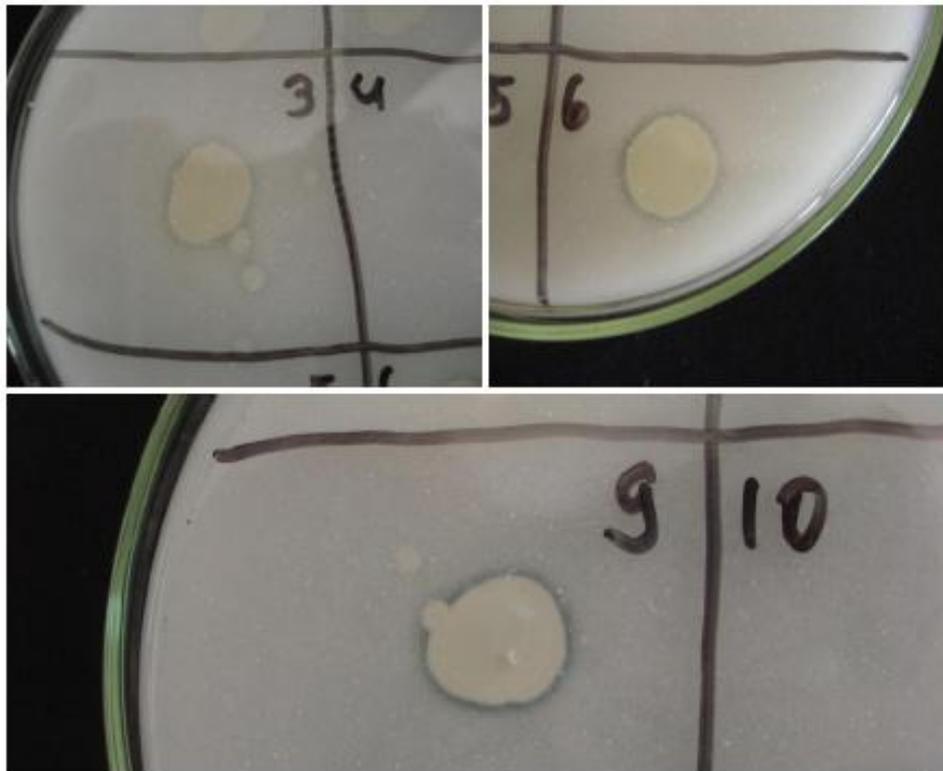
Das 17 estirpes diazotróficas pertencentes à coleção de bactérias promotoras de crescimento de plantas da UFV-CAF, 15 apresentaram a capacidade de solubilizar fosfato de rocha.

## 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.