



## Solubilização de fosfatos por bactérias endofíticas<sup>(1)</sup>.

**Clayton Albuquerque de Sousa<sup>(2)</sup>; Mario de Andrade Lira Junior<sup>(3)</sup>; Fernando José Freire<sup>(4)</sup>; Júlia Kuklinsky Sobral<sup>(5)</sup>.**

<sup>(1)</sup>Trabalho executado com recursos do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq.

<sup>(2)</sup>Professor; Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba; Princesa Isabel, PB; clayton.sousa@ifpb.edu.br; <sup>(3)</sup>Professor; Universidade Federal Rural de Pernambuco; Recife, PE; mario.lira@depa.ufrpe.br; <sup>(4)</sup>Professor; Universidade Federal Rural de Pernambuco; Recife, PE; f.freire@depa.ufrpe.br;

<sup>(5)</sup>Professor; Universidade Federal Rural de Pernambuco; Garanhuns, PE; jksobral@uag.ufrpe.br

**RESUMO:** Microrganismos solubilizadores de fosfato aumentam a disponibilidade do fósforo e podem aumentar a eficiência de uso de fertilizantes fosfatados. O trabalho visou selecionar bactérias solubilizadoras de fosfato inorgânico como potencial promotoras de crescimento vegetal. Foram utilizados isolados de folhas e raízes de cana de açúcar pré-selecionados como potenciais solubilizadores em laboratório. Um experimento foi conduzido em sacos plásticos, contendo areia e vermiculita cultivadas com sorgo e feijão caupi, submetidos a nove tratamentos de inoculação, acrescidos de mais uma fonte de P na forma de fosfato de rocha. A colheita se deu em 60 dias e foram analisadas as mesmas variáveis. Os isolados UAGC 19 e 65 devem ser melhor estudados por serem maiores solubilizadores para as duas espécies vegetais estudadas.

**Termos de indexação:** microrganismo, fósforo, BPCP.

### INTRODUÇÃO

Solos altamente intemperizados são predominantes nas regiões tropicais, como é o caso do Brasil, e são caracterizados pela baixa disponibilidade de nutrientes às lavouras, com destaque para a limitação de P. Os solos agrícolas, de modo geral, apresentam teores totais de fósforo variando de 200 a 3.000 mg dm<sup>-3</sup>, porém, menos de 0,1 % dessas reservas encontra-se disponível às plantas (Nahas, 1999).

A dinâmica do P em solos é complexa, devido ao fenômeno de fixação de P, isto é, à transformação de P-lábil em P não-lábil. Este mecanismo é explicado pela grande afinidade que o fósforo tem com Ca, Fe e Al, existindo no solo uma grande variedade de compostos de P com Ca, Fe e Al, muitos de caráter transitório, outros de caráter mais estáveis (Raij, 2004). Em solos alcalinos, ocorre a formação de compostos de cálcio insolúveis formados pela reação do P com o Cálcio (Raij, 2004).

Para disponibilização do P precipitado junto ao Ca, plantas e microrganismos solubilizadores de fosfato inorgânico acidificam naturalmente o solo rizosférico por meio da liberação de H<sup>+</sup> e ácidos orgânicos (Novais & Smyth, 1999; Rodríguez & Fraga, 1999).

As associações com microrganismos solubilizadores de P estão entre os fatores que influenciam no potencial das espécies ou cultivares em absorver P do solo (Siqueira et al., 2004).

Em se tratando da aplicação dos MSFI, Richardson (2001) aponta duas estratégias: o manejo da população indígena do solo para otimizar sua capacidade de mobilizar o P não disponível e o desenvolvimento de inoculantes microbianos específicos.

Diante disto, a proposta do trabalho foi avaliar o crescimento vegetal como resposta dos isolados selecionados.

### MATERIAL E MÉTODOS

Dois experimentos paralelos foram conduzidos com plantas de feijão caupi e sorgo granífero com sete isolados bacterianos, a estirpe padrão *Pseudomonas fluorescens* (R-243) obtida da coleção pertencente a Embrapa Agrobiologia, e um tratamento sem inoculação, utilizando como fontes de fósforo o fosfato de cálcio, fosfato de potássio e a rocha Apatita de Irecê moída.

O experimento foi conduzido em sacos plásticos pretos com vermiculita de textura média e areia lavada e autoclavadas, recebendo solução nutritiva de Hoagland sem P (Hoagland & Arnon, 1950) a cada dois dias.

O substrato recebeu uma dose de fósforo calculada para os 2 dm<sup>3</sup> do substrato.saco<sup>-1</sup>, com base na Recomendação de Adubação para o Estado de Pernambuco (2008).

Sementes de feijão caupi variedade IPA-206 e de sorgo granífero foram desinfestadas superficialmente e semeadas na quantidade de três e cinco sementes por saco respectivamente. Cinco dias após a germinação foi feito o desbaste deixando uma planta por vaso.

Os sete isolados e a estirpe padrão foram



multiplicados em erlenmeyers contendo 50 mL de meio TS mantidos em agitador rotativo (120 rpm) com uma população final estimada em  $5 \times 10^8$  ufc mL<sup>-1</sup>. A inoculação foi realizada aplicando-se 2 mL do inoculante na região ao redor do colo da raiz.

A coleta das plantas se deu aos 60 dias após o plantio para avaliação da matéria seca da parte aérea, teor de fósforo na parte aérea através da digestão nitro-perclórica seguida de colorimetria com amarelo de vanadato (Embrapa, 1999) e conteúdo de fósforo na parte aérea.

A análise estatística foi conduzida para cada espécie vegetal isoladamente através de um delineamento em blocos casualizados em arranjo fatorial 3 x 9 (três fontes de fósforo x 7 isolados ou estirpe padrão *Pseudomonas fluorescens* (R-243) ou ausência de inoculação), com três repetições.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A massa seca da parte aérea sofreu influência dos isolados apenas quando a fonte de P utilizada foi o fosfato de rocha, tanto para a cultura do feijão quanto para o sorgo. Nas fontes de P fosfato de cálcio e fosfato de potássio, os isolados não proporcionaram MSPA diferentes, o que leva a indicação de que a dose utilizada foi suficiente para suprir as duas culturas, já que as plantas não inoculadas tiveram desenvolvimento semelhante às inoculadas (**Tabela 1**).

**Tabela 1.** Massa seca da parte aérea (MSPA) de feijão caupi conduzido em casa de vegetação sob tratamentos de nove solubilizadores de fosfato e três fontes de fósforo.

Inoculação	Fonte de fósforo		
	Fosfato de cálcio	Fosfato de potássio	Fosfato de rocha
	MSPA (g planta <sup>-1</sup> )		
Sem inoculação	11,7 aA	13,1 aA	2,4 bB
UAG 5	13,4 aA	12,4 aA	2,8 bB
UAG 16	13,5 aA	14,8 aA	2,9 bB
UAG 17	12,7 aA	12,7 aA	2,9 bB
UAG 19	13,9 aA	14,5 aA	12,4 aA
UAG 26	14,1 aA	12,8 aA	2,9 bB
UAG 47	12,7 aA	13,2 aA	2,0 bB
UAG 65	12,6 aA	12,6 aA	14,6 aA
Pseudomo	13,1 aA	13,8 aA	12,2 aA
nas			
CV %	12		

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

No fosfato de rocha, os isolados UAG 19 e 65 e a estirpe *Pseudomonas* promoveram as maiores MSPA no feijão (**Tabela 1**). No sorgo, estes mesmos isolados e o isolado UAG 47 não se diferenciaram da estirpe padrão, obtendo as maiores MSPA (**Tabela 2**). A presença do isolado UAG 47 no grupo que resultou em maiores MSPA no sorgo, indica que a espécie vegetal também exerce influência na efetividade do processo de solubilização, através de um possível processo seletivo e especificidade na associação entre planta e bactérias solubilizadoras de fosfato.

**Tabela 2.** Massa seca da parte aérea (MSPA) de sorgo granífero conduzido em casa de vegetação sob tratamentos de nove solubilizadores de fosfato e três fontes de fósforo.

Inoculação	Fonte de fósforo		
	Fosfato de cálcio	Fosfato de potássio	Fosfato de rocha
	MSPA (g planta <sup>-1</sup> )		
Sem inoculação	28,0 aA	27,2 aA	7,8 bB
UAG 5	25,9 aA	25,9 aA	6,4 bB
UAG 16	28,1 aA	27,2 aA	6,7 bB
UAG 17	26,1 aA	26,8 aA	6,3 bB
UAG 19	28,9 aA	26,7 aA	13,5 abB
UAG 26	30,0 aA	27,1 aA	7,4 bB
UAG 47	30,6 aA	29,0 aA	26,2 aA
UAG 65	26,5 aA	27,1 aA	28,4 aA
Pseudomo	25,1 aA	28,4 aA	25,1 aA
nas			
CV %	21		

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Dados transformados por  $x^{2,3}$ .

Os melhores isolados solubilizadores no fosfato de rocha demonstraram solubilização equivalente às fontes solúveis, pois não foram verificadas diferenças entre a MSPA das plantas inoculadas com eles e as plantas que receberam as outras fontes de P, para cada uma das espécies (**Tabelas 1 e 2**).

O teor de fósforo no feijão caupi só apresentou diferença entre os isolados quando utilizado fosfato de potássio como fonte de P (**Tabela 3**).

**Tabela 3.** Teor de fósforo na parte aérea de feijão caupi conduzido em casa de vegetação sob tratamentos de nove solubilizadores de fosfato e três fontes de fósforo.

Inoculação	Fonte de fósforo		
	Fosfato de cálcio	Fosfato de potássio	Fosfato de rocha



	Teor de P na parte aérea (g kg <sup>-1</sup> )		
Sem inoculação	2,84 aA	2,46 abA	0,91 aA
UAG 5	3,56 aA	5,57 aA	1,11 aA
UAG 16	4,10 aA	3,69 abA	1,83 aA
UAG 17	2,40 aA	1,31 bA	1,18 aA
UAG 19	5,52 aA	2,84 abA	3,18 aA
UAG 26	3,70 aA	2,74 abA	1,30 aA
UAG 47	3,95 aA	4,69 abA	1,53 aA
UAG 65	3,53 aA	3,08 abA	2,10 aA
Pseudomo	3,66 aA	3,01 abA	0,92 aA
nas			
CV %	36		

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

As diferenças entre as fontes não foram significativas, mas os valores absolutos dos teores de P para o fosfato de rocha foram na maioria inferiores aos das outras duas fontes mais solúveis.

No sorgo, as diferenças para o teor de P na parte aérea das plantas só foram consequência da fonte de P utilizada (**Tabela 4**). O fosfato de rocha foi a fonte que proporcionou menores teores.

**Tabela 4.** Teor de fósforo na parte aérea, conteúdo de fósforo da parte aérea (P total) de sorgo granífero conduzido em casa de vegetação sob tratamentos de nove solubilizadores de fosfato e três fontes de fósforo.

Fonte de P	Teor de P na planta (g kg <sup>-1</sup> )
Fosfato de cálcio	2,80 a
Fosfato de potássio	2,96 a
Fosfato de rocha	1,64 b
CV %	22

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Dados transformados por  $\sqrt{x}$ .

Os isolados proporcionaram conteúdo de P na parte aérea semelhante a estirpe *Pseudomonas*, quando utilizado o fosfato de cálcio no feijão caupi (**Tabela 5**). Para o fosfato de potássio e para o fosfato de rocha, respectivamente quatro e dois isolados não diferenciaram da *Pseudomonas*.

**Tabela 5.** Conteúdo de fósforo da parte aérea (P total) de feijão caupi conduzido em casa de vegetação sob tratamentos de nove solubilizadores de fosfato e três fontes de fósforo.

Inoculação	Fonte de fósforo		
	Fosfato de cálcio	Fosfato de potássio	Fosfato de rocha
	Conteúdo de P (mg planta <sup>-1</sup> )		
Sem	3,31 bcA	3,21 bcdA	0,21 bB

inoculação	Teor de P na parte aérea (g kg <sup>-1</sup> )		
UAG 5	4,88 abA	6,92 aA	0,32 bB
UAG 16	5,53 abA	5,35 abA	0,53 bB
UAG 17	0,65 cA	0,35 dB	0,34 bB
UAG 19	7,38 aA	4,00 abcB	3,93 aB
UAG 26	5,19 abA	0,76 cdB	0,38 bB
UAG 47	4,87 abA	6,18 aA	0,30 bB
UAG 65	4,23 abA	0,75 cdB	3,07 abA
Pseudomo	4,76 abA	4,14 abA	1,13 abB
nas			
CV %	34		

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Na cultura do sorgo, o conteúdo de P presente na parte aérea só foi diferente entre os isolados, quando utilizado fosfato de rocha. O isolado UAG 47 proporcionou o maior conteúdo e o isolado UAG 26 o menor (**Tabela 6**).

**Tabela 6.** Conteúdo de P da parte aérea (P total) de sorgo granífero conduzido em casa de vegetação sob tratamentos de nove solubilizadores de fosfato e três fontes de fósforo.

Inoculação	Fonte de fósforo		
	Fosfato de cálcio	Fosfato de potássio	Fosfato de rocha
	Conteúdo de P (mg planta <sup>-1</sup> )		
Sem inoculação	7,11 aA	5,80 aA	0,27 abA
UAG 5	9,23 aA	6,56 aA	0,49 abA
UAG 16	9,51 aA	9,20 aA	1,20 abA
UAG 17	5,83 aAB	9,69 aA	0,56 abB
UAG 19	9,30 aA	7,45 aA	3,66 abA
UAG 26	7,22 aA	7,26 aA	0,12 bA
UAG 47	6,42 aA	8,13 aA	9,72 aA
UAG 65	6,96 aA	7,89 aA	7,71 abA
Pseudomo	5,59 aA	9,97 aA	6,51 abA
nas			
CV %	20		

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Dados transformados por  $\sqrt{x+1}$ .

O fato do conteúdo de P apresentar diferença para os isolados, enquanto o teor de P não apresentou, pode indicar o efeito benéfico de alguns isolados na promoção do crescimento vegetal através de outros mecanismos, além da solubilização de P. O conteúdo de P é uma variável derivada da MSPA e do teor de P, desta forma, os isolados não influenciaram diretamente e exclusivamente o teor de P. Alguns gêneros bacterianos utilizados neste trabalho já são



reconhecidamente promotores de crescimento vegetal, entre eles *Pseudomonas* (Rodríguez e Fraga, 1999), *Enterobacter* (Shahid et al., 2012), *Klebsiella* e *Pantoea* (Moreira et al., 2010). A promoção de crescimento vegetal por alguns isolados através de outros mecanismos proporcionou um desenvolvimento maior da parte aérea de algumas plantas, tendo consequências direta na quantidade total de fósforo contida na planta.

Entre as três fontes, o isolado UAG 17 proporcionou maior conteúdo na fonte fosfato de potássio e o menor na fonte fosfato de rocha.

Alguns isolados utilizados apresentaram características que devem ser melhor estudadas, e possuem potencial para a produção de inoculantes e uma futura utilização como promotoras de crescimento vegetal. Segundo Fernández et al., (2007), a seleção de uma bactéria solubilizadora de fosfato eficiente como possível inoculante para solos deficientes em P deve ser baseada na combinação de ensaios com solo e experimentos da casa de vegetação campo. A metodologia adotada permite avaliar melhor o potencial de promoção de crescimento dos isolados.

## CONCLUSÕES

Os isolados UAGC 19 e 65 são maiores solubilizadores e proporcionam maior desenvolvimento vegetal.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo financiamento do trabalho.

## REFERÊNCIAS

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Org. Fabio Cesar da Silva. Brasília. Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia. 1999. 370p.

FERNÁNDEZ, L.A.; ZALBA, P.; GÓMEZ, M.A.; SAGARDOY, M.A. Phosphate-solubilization activity of bacterial strains in soil and their effect on soybean growth under greenhouse conditions. *Biology and Fertility of Soils*, v.43, p.805–809, 2007.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water-culture method for growing plants without soil. Berkeley: California Agricultural Experiment Station, 1950.

MOREIRA, F.M.S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R.S.A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. *Comunicata Scientiae* v.2, p.74-99, 2010.

NAHAS, E. Solubilização microbiana de fosfatos e de outros elementos. In: SIQUEIRA, J.O. *et al.* Inter-Relação Fertilidade, Biologia do Solo e Nutrição de Plantas. Lavras, SBCS, 818 p. 1999.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J. (Eds.). Fósforo em solo e planta em condições tropicais. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 399 p.

RAIJ, B. V. Fósforo no solo e interação com outros elementos. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S.R.S., eds. Fósforo na Agricultura Brasileira. Piracicaba, Potafos, p.107-115, 2004.

RECOMENDAÇÕES DE ADUBAÇÃO PARA O ESTADO DE PERNAMBUCO (2ª aproximação) por Francisco José de A. Cavalcanti. Recife, IPA, 2008. 198p.

RICHARDSON, A.E. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Australian Journal of Plant Physiology*, v. 28, p.897-906, 2001.

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*, v.17, n.4-5, p.319-339, 1999.

SHAHID, M.; HAMEED, S.; IMRAN, A.; ALI, S.; VAN ELSAS, J.D. Root colonization and growth promotion of sunflower (*Helianthus annuus* L.) by phosphate solubilizing *Enterobacter* sp. Fs-11. *World Journal Microbiology Biotechnology*, v.24, p.2749–2758, 2012.

SIQUEIRA, J.O.; ANDRADE, A.T.; FAQUIM, V. O papel dos microrganismos na disponibilização e aquisição de fósforo pelas plantas. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S.R.S., eds. Fósforo na agricultura brasileira. Piracicaba, Potafos, p.117-149, 2004.