

SELEÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS HALOTOLERANTES E HALOFÍLICAS COM POTENCIAL DE SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO

Data de aceite: 03/07/2023

Érico Atílio de Paiva Teles

Mestrando do Programa de Pós-graduação em Agronomia-Ciências do Solo (PPGA-CS)

Júlia Ferreira Xavier

Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia-Ciências do Solo (PPGA-CS)

João Vitor da Silva Gonçalves

Estudante de graduação em Agronomia (UFRRJ)

Fernanda Seixas Arcenio

Estudante de graduação em Agronomia (UFRRJ)

Everaldo Zonta

Professor Titular; Departamento de Solos (UFRRJ)

Irene da Silva Coelho

Professora Associada; Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária (UFRRJ)

RESUMO: A salinização dos solos coloca em risco a produção agrícola mundial, pois afeta cada vez mais regiões do planeta. Outra questão que tem limitado a produção agrícola é a baixa disponibilidade de fósforo no solo para as plantas. Isso ocorre devido à baixa concentração natural desse elemento nos solos e pela sua alta afinidade a outros elementos, o que reduz a eficiência de fertilizantes fosfatados. A utilização de inoculantes de bactérias solubilizadoras de fosfato vem se apresentando como uma abordagem promissora tanto para o estabelecimento e incremento da produção de culturas sob condições de deficiência nutricional, quanto para aquelas que se desenvolvem sob estresse ambiental. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar a capacidade de solubilização de fosfato de cálcio dibásico em meio sólido e líquido de 29 isolados bacterianos provenientes da rizosfera de plantas halófitas. A partir dos resultados observados, dois isolados, *Bacillus sp.* (186) e *Kushneria sp.* (102), ambos halotolerantes, apresentaram resultados promissores no que tange a capacidade de solubilização de fosfato mineral. Para confirmar a capacidade de promoção de crescimento desses isolados será necessário a realização de ensaios de

inoculação em casa de vegetação e em campo para avaliar as contribuições das estirpes bacterianas na produtividade de plantas.

PALAVRAS-CHAVE: estresse salino, microbiologia do solo, plantas halófitas; promoção de crescimento vegetal.

SELECTION OF HALOTOLERANT AND HALOPHILIC RHIZOBACTERIA WITH POTENTIAL FOR PHOSPHATE SOLUBILIZATION

ABSTRACT: Soil salinization puts world agricultural production at risk, as it affects more and more regions of the planet. Another issue with limited agricultural production is the low availability of phosphorus in the soil for plants. This is due to the low natural concentration of this element in soils and its high affinity to other elements, which reduces the efficiency of phosphate fertilizers. The use of inoculants of phosphate-solubilizing bacteria has been presented as a promising approach for the establishment and increase of the production of cultures under conditions of nutritional deficiency, as for those that develop under environmental stress. Thus, this work aimed to evaluate the solubilization capacity of dibasic calcium phosphate in solid and liquid media of 29 bacterial isolates from the rhizosphere of halophytic plants. From the observed results, two isolates, *Bacillus* sp. (186) and *Kushneria* sp. (102), both halotolerant, showed promising results regarding the solubilization capacity of mineral phosphate. To confirm the growth-promoting capacity of these isolates, inoculation tests in a greenhouse and the field will be necessary to evaluate the contributions of bacterial strains to plant productivity.

KEYWORDS: salt stress, soil microbiology, halophyte plants; promotion of plant growth.

INTRODUÇÃO

A salinização dos solos é um dos fatores abióticos que mais colocam em risco a produção agrícola. Sua ocorrência está ligada a fatores ambientais como a taxa de precipitação e evaporação, o intemperismo de rochas, relevo, altura do lençol freático, entre outros. Contudo, atividades antrópicas como o manejo inadequado da água e do solo e utilização de agrotóxicos e fertilizantes químicos, podem intensificar o processo de salinização (SANGAR et al., 2021).

O fósforo (P) é o segundo macronutriente mais limitante para o desenvolvimento de culturas vegetais (ZHU et al., 2011). Na fase sólida do solo o fósforo encontra-se majoritariamente associado a compostos orgânicos ou a fração mineral, uma vez que o P solúvel possui uma grande afinidade com outros elementos presentes no solo, como cálcio em solos calcários e, ferro e alumínio em solos ácidos (GOMES, 2010). Dessa forma, quando adicionado aosolo, o P é rapidamente imobilizado e se torna inacessível às plantas, o que aumenta a demanda de fertilizantes minerais, que pode gerar diversos problemas ambientais como a poluição de solos e corpos d'água, além de representar um desperdício desse recurso bastante limitado (GAMUYAO et al., 2012). Outra questão importante é a dependência do comércio internacional de fertilizantes, em 2018 os fertilizantes fosfatados

representaram 23% do total de importações de fertilizantes do país (GLOBALFERT, 2019), e, fatores externos, como os atuais conflitos no leste europeu, levam ao aumento dos custos de importação e podem colocar em risco a produção nacional.

Em vista disso, a aplicação de bactérias solubilizadoras de fosfato (BSF) capazes de tolerar alta salinidade é um dos principais focos de pesquisa no que tange o estabelecimento de estratégias que possibilitem uma agricultura sustentável em solos afetados por sais, apresentando um melhor aproveitamento dos recursos ambientais. Dessa forma, trabalhos tem demonstrado que a utilização de bactérias solubilizadoras de fosfato é uma estratégia viável em solos com baixa disponibilidade desse nutriente e afetados por sais (ZHU et al., 2011).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de solubilizar fosfato de cálcio dibásico (CaHPO_4) em meio sólido e em meio líquido de bactérias provenientes da rizosfera de plantas halófitas.

MATERIAL E MÉTODOS

Origem dos isolados: Vinte e nove bactérias, pertencentes aos gêneros *Bacillus* sp. (7), *Brevibacterium* sp. (1), *Halomonas* sp. (6), *Kushneria* sp. (5), *Micrococcus* sp. (1) *Oceanobacillus* sp.(1), *Ochrobacterium* sp. (3), *Pseudomonas* sp. (4) e *Salinicola* sp. (1), foram analisadas. Estas bactérias foram isoladas da rizosfera das plantas halófitas *Sporobolus virginicus*, *Cyperus ligularis*, *Blutaparon portulacoides* e *Salicornia gaudichadiana*. As coletas foram realizadas em diferentes regiões do estado do Rio de Janeiro, sendo estas: planícies hipersalinas (Guaratiba-RJ), salina desativada (São Pedro da Aldeia- RJ) e entorno da lagoa hipersalina (Araruama-RJ). Os isolados bacterianos foram identificados a nível de gênero (XAVIER, 2021); e classificados quanto a salinidade em halotolerantes e halofílicos (AMOOZEGAR et al., 2019).

Avaliação da capacidade de solubilização de fosfato mineral em meio sólido: Os isolados bacterianos foram inoculados em tubos de ensaio contendo 5 mL de meio DYGS e incubados por 24 horas a 150 rpm. Posteriormente, a densidade óptica (DO) de cada cultura foi ajustada para 0,9- 1,0 por espectrofotometria a 600 nm. Uma alíquota de 7 uL das culturas foi inoculada em discos de papel de 6 mm dispostos sobre meio sólido NBRIP acrescido 3% de NaCl e contendo CaHPO_4 como fonte de fosfato. As bactérias foram inoculadas no meio em triplicata e, como controle positivo foi inoculada em cada placa a estirpe de *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAI 5. A determinação do halo de solubilização formado ao redor das colônias foi realizada no terceiro e décimo dia após a inoculação. Os índices de solubilização (IS) foram calculados através da fórmula:

$$IS = \text{diâmetro do halo (mm)} / \text{diâmetro da colônia (mm)}$$

Nos testes em meio de cultura líquido, todos os isolados apresentaram algum nível de solubilização do fosfato de cálcio dibásico (Figura 2), assim como a redução do pH (Figura 3). O isolado de *Bacillus* sp. (186) apresentou a maior capacidade de solubilização, atingindo aproximadamente 126 g/L de P solubilizado no meio após os 14 dias de incubação, além da maior redução do pH, para 3,9. O isolado *Kushneira* sp. (102) também apresentou uma variação de P solúvel elevada em relação aos demais, de 110 g/L e um pH final de 4,0.

É possível notar que a acidificação do meio está relacionada com a capacidade de solubilização dos isolados, uma vez que os isolados que apresentaram a menor taxa de P solubilizado, também promoveram as menores reduções de pH, a exemplo dos isolados 19, 34, 54 e 94. Porém esta relação não ocorreu em todos os isolados, como o isolado *Halomonas* sp. (12) e *Bacillus* sp. (85) que reduziram o pH para 3,8 e 4 e solubilizaram cerca de 70 g/L e 80 g/L de P, respectivamente. Já o isolado *Brevibacterium* sp. (48) reduziu o pH a 4,5 e solubilizou aproximadamente 100 g/L.

Para confirmar a capacidade de promoção de crescimento desses isolados será necessário a realização de ensaios de inoculação em casa de vegetação e em campo para avaliar as contribuições das estirpes bacterianas na produtividade de plantas. Além disso, em solos intemperizados, como a maior parte dos solos brasileiros, o fosfato está geralmente associado a metais como ferro e alumínio, o que indica a necessidade de testes de solubilização com outras fontes de fosfato mineral (GOMES et al., 2010).

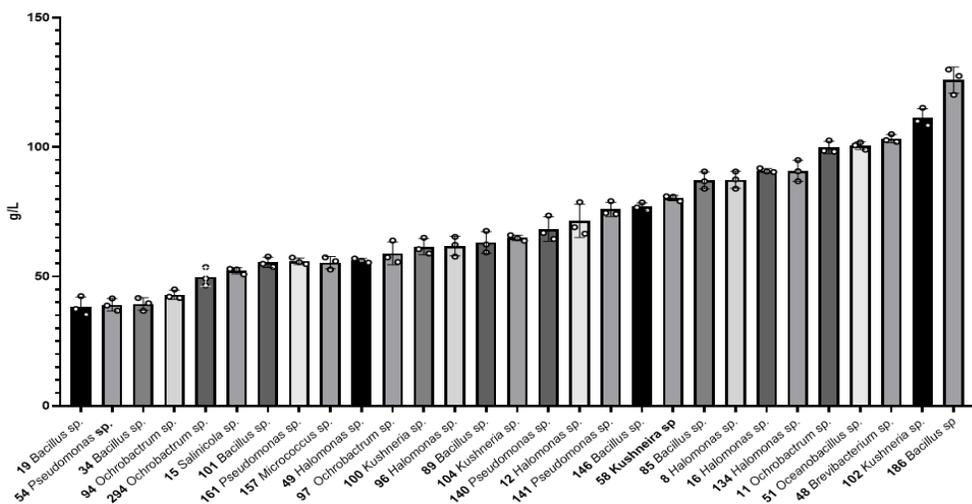


Figura 2 – Média e desvio padrão do índice de solubilização em meio líquido de bactérias halotolerantes e halofílicas isoladas da rizosfera de plantas halófitas.

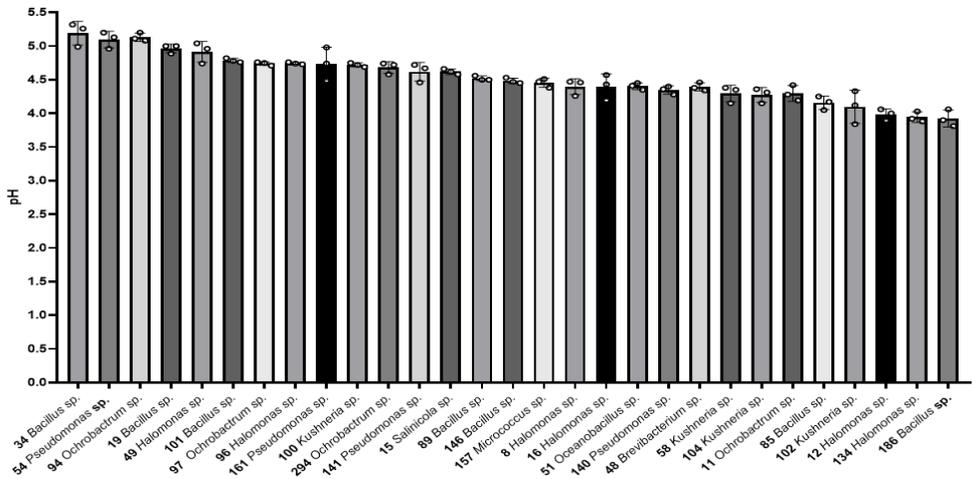


Figura 3 – Média e desvio padrão do pH do meio líquido após 14 dias.

CONCLUSÕES

As bactérias provenientes da rizosfera de plantas halófitas analisadas nesse trabalho foram capazes de solubilizar fósforo a partir do fosfato de cálcio dibásico em pelo menos um dos meios de cultura testados. A partir dos resultados observados, os isolados 186 e 102 são promissores para o desenvolvimento de inoculantes biológicos para promover o melhor aproveitamento do fosfato em solos salinos.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AMOOZEGAR, M. A. et al. Halophiles and their vast potential in biofuel production. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 1895, 2019.

BASHAN, Y.; KAMNEV, A. A.; DE-BASHAN, L. E. Tricalcium phosphate is inappropriate as a universal selection factor for isolating and testing phosphate-solubilizing bacteria that enhance plant growth: a proposal for an alternative procedure. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, n. 4, p. 465–479, May 2013.

BERRAQUERA, F. R.; BAYA, A.; CORMENZANA, A. R. Establecimiento de índices para el estudio de la solubilización de fosfatos por bacterias del suelo. **Ars. Pharm.** 1976.

GAMUYAO, R. et al. The protein kinase Pstol1 from traditional rice confers tolerance of phosphorus deficiency. **Nature**, v. 488, n. 7412, p. 535–539. 2012.

GLOBALFERT. Fosfatados – Principais origens de importação no Brasil em 2018. Boletins. Disponível em: <https://www.globalfert.com.br/boletins/fosfatados-principais-origens-de-importacao-no-brasilem-2018-2/>. Acesso em: 01 Out. 2022

GOMES, E.A. et al. Prospecção de Comunidades Microbianas do Solo Ativas no Aproveitamento Agrícola de Fontes de Fósforo de Baixa Solubilidade. **Documentos** 107, 2010.

SAGAR, A. et al. Halotolerant Rhizobacteria for Salinity-Stress Mitigation: Diversity, Mechanisms and Molecular Approaches. **Sustainability**, v. 14, n. 1, p. 490, 2022.

XAVIER, J. F.; **Isolamento e Caracterização de Bactérias Associadas À Rizosfera de Plantas Halófitas**. 2021. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Ciências do Solo) - Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2021.

ZHU, F. et al. Isolation and Characterization of a Phosphate- Solubilizing Halophilic Bacterium *Kushneria* sp. YCWA18 from Daqiao Saltern on the Coast of Yellow Sea of China. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, p. 615032, 2 Jun. 2011.