



XXIX Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas
XIII Reunião Brasileira sobre Micorrizas
XI Simpósio Brasileiro de Microbiologia do Solo
VIII Reunião Brasileira de Biologia do Solo
Guarapari – ES, Brasil, 13 a 17 de setembro de 2010.
Centro de Convenções do SESC

Potencial de Solubilização de Fósforo *In Vitro* por Isolados Fúngicos do Solo

Ubiana Cássia Silva⁽¹⁾; Eliane Aparecida Gomes⁽²⁾; Ubiraci Gomes de Paula Lana⁽³⁾ & Ivanildo Evódio Marriel⁽²⁾

(1) Estudante Engenharia Agrônômica, Universidade Federal de São João Del-Rey, Campus de Sete Lagoas, Sete Lagoas, MG, CEP: 35701-970, ubiana@yahoo.com.br (apresentador do trabalho); (2) Pesquisadores da Embrapa Milho e Sorgo, Rodovia MG 424, Km 65, Sete Lagoas, MG, CEP: 35701-970, eliane@cnpmc.embrapa.br, imarriel@cnpmc.embrapa.br; (3) Analista da Embrapa Milho e Sorgo, Rodovia MG 424, Km 65, Sete Lagoas, MG, CEP: 35701-970, ubiraci@cnpmc.embrapa.br

RESUMO – O objetivo deste trabalho é selecionar e caracterizar molecularmente 12 isolados de fungos com potencial de solubilização de fosfato de ferro III e fosfatos naturais de Araxá e Itafós *in vitro*. Para tanto, foram utilizados erlenmeyers contendo 50 mL de meio de cultura líquido (NIBRIP), acrescido de 0,1 g de fosfato de ferro III e 0,25 g de fosfato de Araxá ou de Itafós, como fontes de fósforo. Efetuou-se também a caracterização das estirpes, com base na sequência de nucleotídeos da região ITS do rDNA com os primers ITS1 e ITS4. De acordo com os resultados da eficiência de biossolubilização em relação ao controle, pôde-se observar diferença significativa ($p < 0,05$) no potencial de disponibilização de fósforo entre as estirpes avaliadas para todos os fosfatos. Além disso, foram identificados os gêneros *Talaromyces* e *Penicillium* como os de maior destaque na solubilização do fósforo entre as fontes avaliadas. Esses resultados demonstram o potencial de seleção de microrganismos capazes de solubilizar fósforo de diferentes fontes, e sugere o uso destes como bioinoculantes para melhorar a utilização pelas plantas de fósforo do solo ou agregado a fosfatos naturais.

Palavras-chave: Fungos, solubilização, fosfatos naturais, fosfato de ferro III.

INTRODUÇÃO - Dentre os macro nutrientes requeridos pelas plantas, o fósforo é o que mais limita a produtividade agrícola no Cerrado, devido a sua baixa disponibilidade nesses solos em condições naturais (Souza et al., 2004).

O fósforo no solo pode ser encontrado nas formas de fósforo orgânico e inorgânico, de acordo com o

composto em que está ligado. O fósforo orgânico representa até 90% do fósforo total no solo e ocorre principalmente na forma indisponível de fosfatos de inositol (fitato) e outros compostos como ácidos nucleicos e fosfolipídios. O fósforo inorgânico é composto pelos minerais primários, fósforo adsorvido e pequenas quantidades de fósforo da solução do solo. Este mineral pode estar associado a óxidos de ferro (P-Fe), de alumínio (P-Al) e silicatos de alumínio nos solos ácidos e ligado a carbonato de cálcio (P-Ca) nos solos alcalinos (Novais & Smith, 1999).

As fontes de fósforo mais utilizadas na agricultura são os superfosfatos e os fosfatos de amônio, correspondendo a mais de 90 % do P_2O_5 aplicado no solo brasileiro.

Para suprir a demanda nacional desses fertilizantes, cerca de 50% destes adubos é importado, o que contribui para alta dependência nacional do mercado externo, acarretando perdas no potencial competitivo do país, principalmente devido à pressão dos custos do petróleo sobre os preços de transporte (Gonçalves et al., 2008). Além disso, a introdução de grandes quantidades desses insumos pode desencadear prejuízos ambientais aos ecossistemas, como eutrofização e hipoxia dos recursos hídricos.

Dessa forma, tem-se procurado o desenvolvimento de tecnologias que otimizem a eficiência do uso deste nutriente e contribuam para minimizar a dependência dos insumos importados. Uma alternativa seria o uso de fosfatos naturais como fonte de fósforo para a adubação fosfatada. Porém, para a utilização desses fosfatos de rocha é necessário a adição de ácidos que auxiliem na dissolução do fósforo. Outra opção seria a

exsudação de ácidos orgânicos pelas plantas ou por microrganismos rizosféricos (Novais et al., 2007).

Dessa forma, comunidades microbianas que apresentam capacidade de solubilizar fontes de fósforo de baixa solubilidade têm sido consideradas como alternativa para melhorar a disponibilidade deste nutriente no sistema solo-planta (Rodríguez & Fraga, 1999; Siqueira et al., 2004). Entretanto, a utilização eficaz dos microrganismos na solubilização de fósforo depende da seleção de cepas eficientes, bem como da avaliação das características genéticas de cada estirpe, visto que o potencial de solubilização varia de acordo com a espécie avaliada (Nahas, 1999).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho é selecionar e avaliar isolados fúngicos do solo com capacidade de solubilizar fósforo a partir dos fosfatos de Araxá, Itafós e de ferro III, visando à agregoção de valor fertilizante a essas fontes.

MATERIAL E MÉTODOS – Foram avaliados 12 isolados de fungos da Coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Milho e Sorgo na solubilização do fosfato de Araxá e do fosfato de ferro III, sendo os 6 isolados mais eficientes avaliados na solubilização de fosfato de Itafós. Foram utilizados 50 mL de meio de cultura líquido (NIBRIP) (Nautiyal, 1999) em erlenmeyers de 250 mL, contendo 0,25 g do fosfato de Araxá ou Itafós e 0,1g do fosfato de ferro III, como única fonte de fósforo. Foram inoculados cinco discos de 8 mm de micélio de fungos para cada tratamento, exceto para as amostras controle (meio de cultura + fosfato de rocha). Todos os tratamentos foram incubados a 28 °C por 10 dias sob agitação.

Após a filtração das amostras, determinou-se o fósforo solúvel pelo método colorimétrico de Murphy & Riley (1962) e o pH final para todos os tratamentos. Os fungos testados foram identificados com base na sequência de nucleotídeos da região ITS do rDNA com os primers universais ITS1 e ITS4.

Todos os ensaios foram conduzidos segundo delineamento inteiramente casualizado com três repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o programa Sisvar (Ferreira, 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO - De acordo com os resultados da solubilização dos três fosfatos testados foi observada variação significativa ($p < 0,05$) entre as estirpes fúngicas (Fig. 1). O isolado F14, identificado como *Penicillium pinophilum* (Tabela 1) apresentou alto potencial de biossolubilização tanto para o fosfato de Araxá (14,81%) quanto para o fosfato de Itafós (13,61%), sendo a estirpe mais eficiente para esses dois

fosfatos de rocha. Wahid & Mehana (2000) observaram que a inoculação dos fungos *Aspergillus niger*, *A. fumigatus* e *Penicillium pinophilum* aumentou a produção de trigo (28,9 a 32,8%) e feijão (14,7 a 29,4%), utilizando-se fosfato de rocha em comparação com o superfosfato simples. Os gêneros *Penicillium* e *Aspergillus* têm sido considerados os mais eficientes no processo de solubilização de fosfato por isolados de fungos. Silva Filho et al. (2002), avaliaram 56 microrganismos solubilizadores de fosfatos naturais e verificaram melhor desempenho de espécies que pertenciam a esses gêneros.

As estirpes F102 e F105, ambas caracterizadas como *Talaromyces rotundus*, também apresentaram capacidade de solubilização do fosfato de Araxá com liberação de 10,92% e 10,75%, respectivamente e do fosfato de Itafós com liberação de 8,63% e 12,69%, respectivamente. Além disso, o isolado F102 foi o mais eficiente na solubilização do fosfato de ferro III (8,19%), seguido do F14 (6,35%) e do F105 (5,97%). Entretanto, há poucos estudos que abordaram a solubilização do fosfato de ferro III e os resultados não foram tão satisfatórios quando comparados com outros fosfatos. Reyes et al. (1999), por exemplo, verificaram que a solubilização de hidroxiapatita por *Penicillium rugulosum* foi mais eficiente do que a solubilização de fosfatos de ferro e alumínio.

De modo geral, o fosfato de Itafós foi o mais solubilizado comparado aos demais fosfatos testados. Este fato pode ter ocorrido porque a solubilidade dessas rochas depende da granulometria do fosfato ou de sua origem, sendo os fosfatos de origem sedimentar, como é o caso do Itafós, mais solúveis do que os fosfatos de origem ígnea ou metamórfica (Hammond et al., 1986).

Verificou-se também, variação significativa ($p < 0,05$) para os valores do pH final no meio de cultura entre os isolados avaliados nos fosfatos de Araxá e de ferro III (Tabela 1). Para o fosfato de Itafós, apesar de não ter sido encontrada diferença significativa entre os isolados testados, observou-se que nos tratamentos com as estirpes mais eficientes ocorreu maior diminuição do pH. Nautiyal (1999) atribuiu a solubilização das fontes de fósforo à capacidade dos microrganismos de liberarem ácidos orgânicos no meio de cultura e dessa forma, acidificarem o meio. Vários autores também observaram diminuição dos valores de pH nos tratamentos em que foram registrados os maiores níveis de solubilização de fósforo (El-Azouni, 2008; Srividya, et al., 2009).

CONCLUSÕES – O potencial de solubilização dos isolados fúngicos, varia de acordo com a fonte de fósforo utilizada, sendo o maior valor observado

para fosfato de Itafós. Os gêneros *Talaromyces* e *Penicillium* foram mais eficientes na solubilização do fósforo entre as fontes avaliadas. As comunidades de fungos do solo poderão ser utilizadas em programas de biofertilização para otimizar o uso dos fosfatos de rocha na agricultura.

REFERÊNCIAS

- RODRIGEZ, H. & FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotech. Adv.* 17: 319-339,1999.
- EL-AZOUNI, I.M. Effect of phosphate solubilizing fungi on growth and nutrient uptake of soybean (*Glycine max* L.) plants. *J. Appl. Sci. Res.* 4: 592-598, 2008.
- FERREIRA D.N. Sistema de análise estatística para dados balanceados. Lavras: Ufla/Dex/Sisvar; 1998.
- GONÇALVES, J. S.; SOUZA, S.A.M. & FERREIRA, C.R.R.P.T. Financiamento da produção agropecuária e uso de fertilizantes no Brasil, período 1950-2006. *Informações Econômicas*, São Paulo. 38, 2008. Disponível em: <<http://ftp.sp.gov.br/ftpiea/publicacoes/tec2-0908.pdf>>. Acesso em 25/11/2009.
- HAMMOND, L. L.; CHIEN, S. H. & MOKWUNYE, A. U. Agronomic value of unacidulated and partially acidulated phosphate rocks indigenous to the tropics. *Adv. Agron.* 40:89-140, 1986
- MURPHY J. & RILEY J.P. A modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chem. Acta.* 27: 31-36, 1962.
- NAHAS, E. Solubilização microbiana de fosfatos e de outros elementos. In: MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E. & CARVALHO, J.G. (Ed). *Inter-relação fertilidade biologia do solo e nutrição de plantas*. Viçosa, SBCS/UFLA/DCS, 1999.p. 467-486.
- NAUTIYAL, C.S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microb. Lett.* 170: 265-270, 1999.
- NOVAIS. R.F. & SMYTH. T.J. Fósforo em solo e planta em condições tropicais. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1999. 399p.
- NOVAIS. R.F.; SMYTH. T.J. NUNES, F.N. Fósforo. In: NOVAIS. R.F.; ALVAREZ, V.V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B. & NEVES, J.C.L. (Ed) *Fertilidade do solo*. SBCS. Viçosa, 2007.1017p.
- REYES, I.; BERNIER, L.; SIMARD, R.R. & H. ANTOUN. Effect of nitrogen source on the solubilization of different inorganic phosphates by an isolate of *Penicillium rugulosum* and two UV-induced mutants. *FEMS Microb. Ecol.* 28:281-290, 1999.
- RODRIGEZ, H. & FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotech. Adv.* 17: 319-339,1999
- SILVA FILHO, G.N.; NARLOCH, C. & SCHARF, R. Solubilização de fosfatos naturais por microrganismos isolados de cultivos de *Pinus* e *Eucalyptus* de Santa Catarina. *Pesq. Agrop. Bras.*37: 847-854, 2002.
- SIQUEIRA, J.O.; ANDRADE, A.T. & FAQUIN, V. O papel dos microrganismos na disponibilidade e aquisição de fósforo pelas plantas. In: YAMADA, T. & ABDALLA, S.R.S. (ed) *Anais do simpósio sobre o fósforo na agricultura brasileira: Fósforo na agricultura brasileira*. Piracicaba, Potatos, 2004.p.1-11.
- SOUZA, D.M.G. de; LOBATO, E. & REIN, T.A. Adubação com fósforo. In: SOUZA, D.M.G. de & LOBATO, E. (Ed). *Cerrado: Correção do solo e adubação*. 2 ed. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica, 2004.p.147-168.
- SRIVIDYA S.; SOUMYA S. & POOJA K. Influence of environmental factors and salinity on phosphate solubilization by a newly isolated *Aspergillus niger* F7 from agricultural soil. *Afric. J. Biotech.*, 8:1864-1870, 2009.
- WAHID, O. A. A. & MEHANA, T. A. Impact of phosphate-solubilizing fungi on the yield and phosphorus-uptake by wheat and faba bean plants. *Microbiol. Res.*, 155: 221-227, 2000.

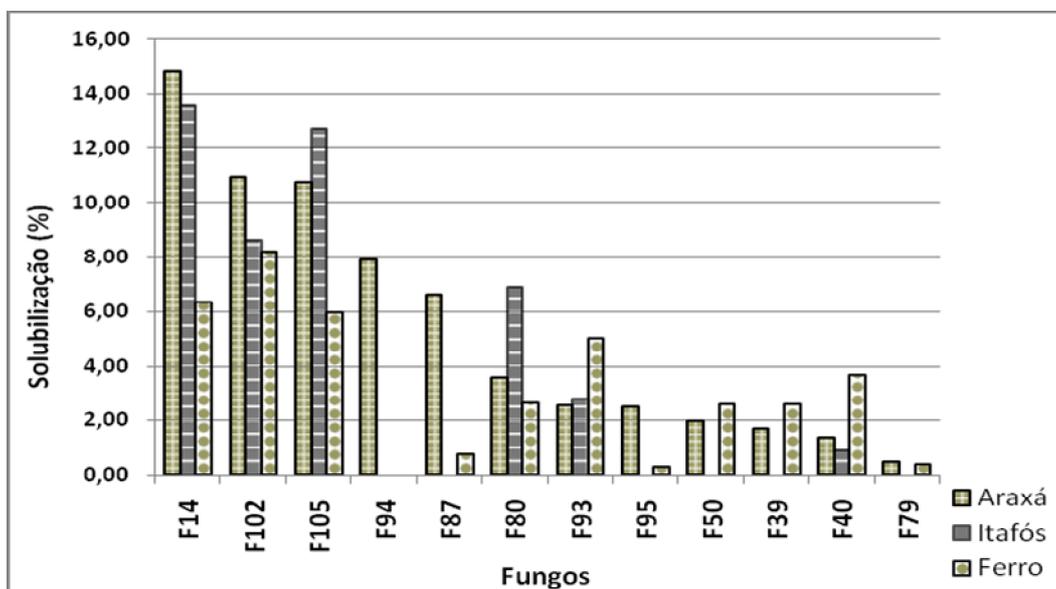


Figura 1. Porcentagem de solubilização de fosfatos de Araxá, Itafós e de ferro III por isolados de fungos (médias de três repetições).

Tabela 1. Caracterização molecular dos fungos e pH final no meio de cultura (médias de três repetições)

Espécie	Acesso (n°GenBank)	E-Value	Similaridade	pH Araxá	pH Ferro	pH Itafós
F102 <i>Talaromyces rotundus</i>	EU497950.1	0,0	95%	3,58	2,57	4,47
F105 <i>T. rotundus</i>	AF285115.1	0,0	95%	3,62	2,63	3,65
F40 <i>Aspergillus terreus</i>	AY822630.1	0,0	99%	4,28	2,96	4,04
F80 <i>T. rotundus</i>	EU497950.1	0,0	94%	3,81	2,42	4,83
F93 <i>A. terreus</i>	AY822631.1	0,0	99%	5,22	2,73	4,53
F14 <i>Penicillium pinophilum</i>	AB369480.1	0,0	98%	3,73	2,58	3,51
F50 <i>A. terreus</i>	FJ462767.1	0,0	95%	4,65	2,78	-
F79 <i>A. terreus</i>	FJ462767.1	0,0	98%	4,65	2,92	-
F94 <i>T. rotundus</i>	AF285115.1	0,0	94%	3,61	3,69	-
F87 <i>P. radicum</i>	EU262660	0,0	97%	3,77	2,52	-
F39 <i>A. terreus</i>	AJ001333.1	0,0	99%	4,04	2,67	-
F95 <i>P. citrinum</i>	FJ571468.1	0,0	97%	4,38	2,54	-