

## PRODUÇÃO DE ÁCIDO INDOL ACÉTICO E SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO POR BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS

Ana Beatriz Carvalho Terra<sup>1</sup>

Ligiane Aparecida Florentino<sup>2</sup>

Adriano Bortolotti da Silva<sup>3</sup>

### Sistemas de produção sustentável

#### Resumo

Cerca de 50% das áreas cultivadas no Brasil correspondem à pastagem, com uso predominante do gênero *Brachiaria*. No entanto, devido à degradação excessiva, a capacidade produtiva desses locais é afetada negativamente, tornando-se necessário técnicas de manejo que visem a recuperação do solo. O uso de bactérias fixadoras de nitrogênio, ou diazotróficas, pode substituir total ou parcialmente a necessidade de fertilizantes químicos nitrogenados, reduzindo os impactos ambientais e promovendo melhoria nas características do solo. Esses organismos ainda são capazes de produzir fitormônios que estimulam o crescimento vegetal (Ácido Indol Acético) e aumentam a disponibilidade de nutrientes como fósforo e potássio por meio da solubilização. O objetivo do estudo foi analisar a capacidade das bactérias diazotróficas de produzir ácido indol acético (AIA) e solubilizar fosfato. No teste de produção de AIA, as estirpes foram cultivadas em meio Dygs líquido, na ausência e presença de triptofano. A solubilização de fósforo, foi realizada em meio GL líquido. Na presença de triptofano, as estirpes UNIFENAS 100-63 e UNIFENAS 100-69 foram as que apresentaram maior produção de AIA. Já em solubilização de Fosfato *in vitro*, a UNIFENAS 100-52 foi a que obteve melhor resposta. O uso dessas estirpes pode aumentar o potencial de fixação biológica, disponibilidade de fósforo na solução do solo e promover crescimento vegetal. No entanto, mais estudos são recomendados para avaliar o potencial dessas bactérias em gramíneas forrageiras de forma a garantir um maior sucesso em campo.

Palavras-chave: Bactérias promotoras de crescimento; Solubilização de fosfato; Sustentabilidade.

---

Orientação: Inserir aqui: 1º- vínculo Institucional; 2º- departamento e 3º- contato eletrônico. (Regra: Times New Roman, itálico, 10).

<sup>1</sup> Doutoranda Agricultura Sustentável UNIFENAS – Departamento ciências agrárias, [anabeatriz.terra@hotmail.com](mailto:anabeatriz.terra@hotmail.com)

<sup>2</sup> Prof. Dr. UNIFENAS – Campus Alfenas - Departamento ciências agrárias, [ligiane.florentino@unifenas.br](mailto:ligiane.florentino@unifenas.br)

<sup>3</sup> Prof. Dr. UNIFENAS – Campus Alfenas - Departamento ciências agrárias, [adriano.silva@unifenas.br](mailto:adriano.silva@unifenas.br)

## INTRODUÇÃO

No Brasil, estima-se que grande parte dos solos cultivados sob pastagem (acima de 50%) encontram-se em algum estágio de degradação (Macedo et al., 2014), a presença de pastagem degradada é particularmente comum em áreas associadas às fronteiras agrícolas, fazendo com que o setor pecuário não atinja sua capacidade máxima de produção. Nesses locais, há predomínio de gramíneas do gênero *Brachiaria*

Nesse sentido, justifica-se a necessidade do uso de técnicas e práticas de manejo que visam recuperar esses solos. Sendo o uso de bactérias diazotróficas uma alternativa sustentável, não só para melhorias nas características do solo, auxiliando no processo de recuperação das áreas degradadas, mas também, atuando como promotoras de crescimento vegetal, produzindo fitormônios, como o ácido indol acético (AIA) e aumentando a disponibilidade de nutrientes, como o fósforo e potássio, por meio da solubilização desses nutrientes presentes em minerais ou rochas no solo (Florentino et al., 2017).

Estudos desenvolvidos por Guimarães et al. (2011) e Bosa et al. (2016), relatam o potencial de algumas bactérias diazotróficas em estimular o desenvolvimento de *Brachiaria* sp. No entanto, pesquisas relacionadas às relações entre esses microrganismos e gramíneas ainda apresentam-se incipientes, fazendo com que sejam necessários trabalhos voltados para a identificação das propriedades fisiológicas bacterianas afim de identificar aquelas que proporcionarão maior sucesso quando aplicadas em campo. Dessa forma, objetiva-se com esse estudo analisar a capacidade das bactérias diazotróficas de produzir ácido indol acético (AIA) e solubilizar fosfato.

## METODOLOGIA

Foram selecionadas 18 estirpes bacterianas isoladas de solo rizosférico de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (Dias, 2015). Para determinar a produção de Ácido Indol Acético (AIA), as 18 estirpes e um controle positivo contendo *Azospirillum brasilense* (Ab-V5), foram cultivadas em meio DYGS na ausência e presença ( $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) de triptofano (Trp), seguindo metodologia de Pedrinho et al. (2010). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial  $19 \times 2$  (19 tratamentos

na ausência ou presença de Trp). A concentração de AIA foi avaliada pelo método colorímetro quantitativo, durante a fase log de crescimento bacteriano, com aproximadamente  $10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>. A concentração final de AIA foi estimada utilizando-se uma curva padrão obtida usando meio DYS esterilizado com concentrações conhecidas de AIA (0, 25, 50, 75 e 100 µg.mL<sup>-1</sup>). A absorbância foi medida utilizando um espectrofotômetro (Shimadzu UV-1800) a um comprimento de onda de 535nm.

Para o experimento de solubilização de fosfato *in vitro*, além das 18 estirpes selecionadas foram ainda utilizadas 5 estirpes da coleção da EMBRAPA agrobiologia: *Azospirillum brasilense* Ab-V5, *Bradyrhizobium elkanii* BR 29 and BR 2003 *Rhizobium tropici* BR 322, and *Rhizobium* sp. BR 8802. As estirpes bacterianas foram cultivadas em placas Petri contendo meio FAM por 3 dias a 28°C. Após o sétimo dia de incubação, os sobrenadantes foram separados por centrifugação (10.000 rpm, 4°C, 10 minutos) e o seu pH final foi medido em um pHmêtro. As concentrações de fósforo solúvel foram avaliadas em um espectrofotômetro (TECNAL, modelo 1105) (Tedesco et al., 1995). Para as análises dos resultados foi utilizado correlação linear entre a concentração de fósforo e os valores de pH de cada tratamento utilizando o programa AgroEstat – versão 10 (Barbosa; Maldonado Júnior, 2011).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No experimento para avaliar a produção de AIA, houve variação entre as estirpes testadas, sendo que as estirpes UNIFENAS 100-63 e 100-69 produziram maiores teores de AIA tanto na presença como na ausência do Trp. No entanto, a Ab-V5 se destacou na produção de AIA na presença de Trp. Resultados similares para a Ab-V5 foram obtidos previamente (Pedrinho et al., 2010; Florentino et al., 2017).

A produção de AIA se destaca entre os benefícios resultantes da interação de bactérias com gramíneas forrageiras (Figueiredo et al., 2016). O AIA é um fitormônio que contribui para o crescimento vegetal, atuando diretamente no desenvolvimento radicular. Nesse trabalho, a maior produção dessa substância pela maioria das estirpes ocorreu quando cultivadas em meio contendo triptofano (Tabela 1), o que pode ser explicado pelo fato deste composto atuar como um importante precursor para a síntese de AIA.

De acordo com Naveed et al., (2015), o L-triptofano, pode promover um aumento na produtividade de Ácido indol acético pelas bactérias, uma vez que sua presença no meio de cultivo provoca um efeito estimulatório nas vias de ativação fisiológica, responsáveis pela assimilação desse aminoácido usado como precursor para biossíntese bacteriana de AIA. Dessa forma, a produção de AIA pode ser dependente da concentração de triptofano utilizada no meio de cultivo (Chagas Jr. et al. 2009; Florentino et al., 2017). No entanto, mais estudos são necessários para avaliar a contribuição dessas estirpes em fornecer AIA para as plantas.

Já no experimento realizado para avaliação de solubilização de fosfato natural, foi observado que a concentração de fósforo (P) ( $\text{g.L}^{-1}$ ) presente em meio GL após a inoculação foram superiores ao tratamento controle. Nota-se também que as estirpes se diferiram quanto a sua capacidade em solubilizar fosfato. Dentre as estirpes testadas, a UNIFENAS 100-52 obteve melhor resultado quando comparada as demais e ao tratamento controle, seguida pelas estirpes BR 2003 e UNIFENAS 100-51 que foram estatisticamente semelhantes entre si.

De acordo com Pineda (2014), a variabilidade no potencial de solubilização entre as estirpes ocorre em função da capacidade dessas em reduzir o pH por meio da liberação de ácidos orgânicos. Os ácidos orgânicos secretados podem dissolver o fosfato mineral como resultado da troca de ânions  $\text{PO}_4^{3-}$  ou podem quelatizar íons de  $\text{Fe}^{2+/3+}$  e  $\text{Al}^{3+}$  associados com fosfatos. Pode-se observar que as estirpes capazes de solubilizar quantidades significativas de P apresentaram maior acidificação do meio.

## CONCLUSÕES

Na presença de triptofano, as estirpes UNIFENAS 100-63 e UNIFENAS 100-69 foram as que apresentaram maior produção de AIA. Já em solubilização de Fosfato *in vitro*, a UNIFENAS 100-52 foi a que obteve melhor resposta. O uso dessas estirpes pode aumentar o potencial de fixação biológica, disponibilidade de fósforo na solução do solo e promover crescimento vegetal. Mais estudos são recomendados para avaliar o potencial dessas bactérias em gramíneas forrageiras de forma a garantir um maior sucesso em campo.

## A GRADECIMENTOS

À Capes pela concessão da bolsa CAPES/PROSUP e à UNIFENAS pelo apoio para realização do trabalho

## REFERÊNCIAS

- BARBOSA, J. C.; MALDONADO J. R. W. AgroEstat: Sistema de Análises Estatísticas de Ensaio Agrônomicos. Jaboticabal, SP: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, 2011.
- BOLSA, C. K. et al. 2016. Características produtivas e nutricionais do capim-xaraés inoculado com bactérias diazotróficas associativas. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 68, n. 5, p. 1360-1368, 2016.
- CHAGAS-JUNIOR, A. F. et al. Produção de ácido indolacético por rizóbios isolados de caupi. Revista ceres, v. 56, n. 6, p. 812-817, 2009.
- DIAS, M. S. Diversity and potential use of N<sub>2</sub>-fixing bacteria in Brachiaria. 2015. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal: Área de Concentração em Produção Animal) - Universidade Jose do Rosário Vellano, Alfenas, 2015.
- FIGUEREDO, E. F. et al. Biossíntese de ácido indol acético por bactérias diazotróficas associadas à brachiaria humidicola por diferentes vias metabólicas. Ciência & Tecnologia: FATEC-JB, v. 8, sup., p. 1-10, 2016.
- FLORENTINO, L. A. et al. Potassium solubilization in phonolite rock by diazotrophic bacteria. Comunicata Scientiae, v. 8, n. 1, p. 17-23, 2017.
- GUIMARÃES, S. L. et al. Produção de capimmarandu inoculado com Azospirillum spp. Enciclopédia Biosfera, v. 7, n. 13, p. 819-825, 2011.
- MACEDO, M. C. M. et al. Degradação de pastagens, alternativas de recuperação e renovação, e formas de mitigação. In: ENCONTRO DE ADUBAÇÃO DE PASTAGENS DA SCOT CONSULTORIA - TEC - Fértil, 2489 1., 2014, Ribeirão Preto, SP. Anais... Bebedouro: Scot Consultoria, 2014. p. 158-181.
- NAVEED, M. et al. L-Tryptophan-dependent biosynthesis of indole-3-acetic acid (IAA) improves plant growth and colonization of maize by Burkholderia phytofirmans PsJN. Annals of Microbiology, v. 65, n. 3, p. 1381-1389, 2015.
- PEDRINHO, E. A. N. et al. Identificação e avaliação de rizobactérias isoladas de raízes de milho. Bragantia, v. 69, n. 4, p. 905-911, 2010.
- PINEDA, M. E. B. La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. Ciencia y Tecnología Agropecuaria, v. 15, n. 1, p. 101-113, 2014.
- TEDESCO, M. J. et al. Análises de solo, plantas e outros materiais. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174 p. (Boletim técnico de solos)/ UFRGS. Departamento de solos, 5.)