

## ISOLAMENTO DE MICROORGANISMOS COM POTENCIAL PARA BIOSOLUBILIZAÇÃO DE POTÁSSIO

**ANGELA MARIA VICTORIA GIACUMMO ELVIRA<sup>1</sup>; RAFAELA DE SILVEIRA CASTRO<sup>2</sup>; CARLA COELHO PORTO<sup>3</sup>; PRISCILLA COSTA GOOBI<sup>4</sup>; MARIA LAURA TURINO MATTOS<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas – angelavictoriagiacummo@gmail.com*

<sup>2</sup>*Instituto Federal do Rio Grande do Sul – castrosilveirarafaela@gmail.com*

<sup>3,4,5</sup>*Embrapa Clima Temperado – maria.laura@embrapa.br*

### 1. INTRODUÇÃO

O potássio (K) é o segundo nutriente mais importante exigido pelas culturas depois do nitrogênio (RESENDE et al. 2006), sendo absorvido em quantidades significativas pelas raízes na forma de cátions monovalentes (DALCIN, G., 2008). A maioria dos solos agrícolas contém grandes quantidades de potássio, mas a maior parte desse nutriente está pouco disponível as plantas (DUARTE, L. M., 2019), sendo necessário o uso de fertilizantes para corrigir continuamente as deficiências nutricionais e manter o alto rendimento das culturas (CARA, D. V. C., et al., 2012). O Brasil importou cerca de 11 milhões de toneladas de cloreto de potássio em 2022 (CEPEA, 2023). Diante da crescente demanda do agronegócio e para reduzir a dependência da importação de potássio, estão sendo investigadas fontes alternativas de potássio utilizadas na formulação de fertilizantes (CARA, D. V. C., et al., 2012; DOURADO, M. DE L., 2018). A microbiota do solo desempenha um papel importante na ciclagem biogeoquímica de nutrientes nos ecossistemas. A biossolubilização é um processo natural que ocorre no solo devido à colonização de superfícies minerais por microrganismos. Neste microambiente, os microrganismos facilitam a dissolução da matriz mineral, liberando nutrientes retidos na estrutura mineral em forma química que pode ser absorvida pelas plantas (DOURADO, M. DE L., 2018; UROZ, S., et al., 2009). Assim, a utilização de fontes alternativas de potássio aliada às tecnologias que possibilitam tornar mais disponível às plantas o nutriente presente nos minerais, oferece a possibilidade para a indústria brasileira de fertilizantes, de desenvolver novos processos e tecnologias para reduzir a dependência do país de fontes externas de potássio (DUARTE, L. M., 2019).

O objetivo deste trabalho foi isolar microrganismos de agrominerais silicáticos e avaliar o seu potencial como biossolubilizares de potássio.

### 2. METODOLOGIA

O trabalho foi executado no laboratório de Microbiologia do Solo da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. O isolamento dos microrganismos por enriquecimento foi realizado com duas fontes de agrominerais silicáticos comerciais: Agromineral A [(siltito glauconítico) composto por 11% K<sub>2</sub>O, 25% Si, 0,5% Mg e 0,08% Mn] e Agromineral B [(sienito) composto por 8,1% K<sub>2</sub>O]. Um volume de 25 mL de caldo MISK foi transferido para frascos elenmeyers de 250 mL. Após autoclavagem dos frascos, foi adicionado 2,5 g de cada um dos agrominerais. Os frascos foram incubados em um agitador orbital (220 rpm) a 30 °C. Após sete dias de incubação, foi transferido 1,0 mL de cada frasco para tubos

contendo 9 mL de solução salina estéril, estabelecendo-se uma diluição seriada de  $10^{-1}$  até  $10^{-4}$ . De cada diluição foram realizados os plaqueamentos, utilizando-se a alça de *Drigalski*, em placas de Petri contendo o meio sólido MISK. Após, as placas foram incubadas a 28 °C por 24 horas. Para o isolamento das colônias fenotipicamente distintas foi utilizado como referência as características morfológicas como pigmentação, tamanho, elevação, forma, detalhes ópticos, superfície e borda. A purificação das colônias foi realizada em placas contendo Agar Nutritivo por meio da técnica de esgotamento com alça de platina. Os acessos bacterianos obtidos tiveram sua capacidade de solubilização de potássio avaliada por meio do teste de formação de halo. Em função disso, realizou-se uma revisão de literatura e dois meios de cultura foram selecionados, com as seguintes composições químicas para um volume de 1 L: (1) Aleksandrov: constituído por 5,0 g de glicose; 2,0 g de extrato de levedura; 0,01 g de sulfato de magnésio heptahidratado; 0,133 g de cloreto férrico hexahidratado; 2,0 g de carbonato de cálcio e 1,6 g de cloreto de potássio; (2) MISK composto por 5,0 g de sacarose; 0,6 g de fosfato de amônio monobásico; 0,2 g cloreto de cálcio dihidratado; 0,2 g de sulfato de magnésio heptahidratado; 0,0017 g de cloreto férrico hexahidratado; 0,002 g de molibdato de sódio dihidratado e 10 g de cloreto de potássio. Para ambos os meios foi adicionado 15 g de agar e o pH foi ajustado para  $7,0 \pm 0,2$ . Os acessos foram repicados para placas, em triplicata, com auxílio de alça de platina, sendo as placas incubadas por até 14 dias a 28 °C. A identificação do halo foi feita de forma visual e o diâmetro foi medido com auxílio do paquímetro, sendo que quanto maior o halo, maior a capacidade da bactéria de solubilização de potássio. A partir desses dados foi obtido o índice de solubilização (IS) por meio da relação do diâmetro ( $\phi$ ) do halo e a colônia da bactéria conforme a equação:  $IS = \frac{\phi_{\text{halo}} (\text{mm})}{\phi_{\text{colonia}} (\text{mm})}$ .

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho, foi possível isolar cinco bactérias do enriquecimento com os agrominerais, sendo denominadas de CMM1200, CMM1206, CMM1207, CMM1208 e CMM1209 e preservadas na Coleção de Microrganismos Multifuncionais de Clima Temperado (CMMCT), cadastrada no SISGEN sob o N°A9D4105. O acesso CMM 1200 foi isolado do agromineral A (11% K<sub>2</sub>O) e os demais acessos (CMM1206, CMM1207, CMM1208 e CMM1209) foram isolados do agromineral B (8,1% de K<sub>2</sub>O). Após treze dias de incubação das placas contendo meio MISK, formaram halo os acessos: CMM 1200, CMM 1207, CMM 1208. Os acessos CMM 1206 e CMM 1209 cresceram no meio, mas não formaram halo. Em cultivos laboratoriais, quando um microrganismo dissolve o potássio em meio de cultura sólido contendo cloreto de potássio há formação de uma zona de clarificação ao redor da colônia, correspondente à acidificação do meio e dissolução do potássio (Nautiyal, C. S., 1999). Os diâmetros das colônias, seus respectivos halos e o índice de solubilização (IS) estão descritos na Tabela 1. No meio de cultura Aleksandrov os acessos CMM 1206, CMM 1207 e CMM 1208 formaram halo e os acessos CMM 1200 e CMM 1209 cresceram nesse meio, mas não formaram halo. Os diâmetros das colônias, seus respectivos halos e o índice de solubilização (IS) estão descritos na Tabela 2.

**Tabela 1.** Medidas do diâmetro do halo formado (mm) dos acessos no meio de cultura MISK, isolados de agrominerais silicáticos, para avaliação do potencial como biossolubilizares de potássio, em experimento realizado na Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

<b>Característica avaliada</b>	<b>Acesso microbiano</b>				
	<b>CMM 1200</b>	<b>CMM 1206</b>	<b>CMM 1207</b>	<b>CMM 1208</b>	<b>CMM 1209</b>
<b>Halo</b>	17,45	9,10	17,96	18,08	29,51
<b>Colônia</b>	7,73	9,10	15,10	10,76	29,51
<b>IS<sup>(1)</sup></b>	2,25	0,00	1,18	1,68	0,00

<sup>(1)</sup>Índice de solubilização.

**Tabela 2.** Medidas do diâmetro do halo formado (mm) dos acessos no meio de cultura Aleksandrov, isolados de agrominerais silicáticos, para avaliação do potencial como biossolubilizares de potássio, em experimento realizado na Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

<b>Característica avaliada</b>	<b>Acesso microbiano</b>				
	<b>CMM 1200</b>	<b>CMM 1206</b>	<b>CMM 1207</b>	<b>CMM 1208</b>	<b>CMM 1209</b>
<b>Halo</b>	19,48	40,83	15,62	14,64	33,04
<b>Colônia</b>	19,48	9,16	12,88	11,29	33,04
<b>IS<sup>(1)</sup></b>	0,00	4,45	1,21	1,29	0,00

<sup>(1)</sup>Índice de solubilização

O acesso 1200 formou halo somente no meio MISK (IS 2,25), indicando que alguma fonte de nutriente no meio tornou-se limitante, provavelmente a fonte de carboidrato (sacarose), induzindo rota metabólica alternativa para o seu crescimento, que incluiu a assimilação da fonte solúvel de potássio no meio. O acesso 1206 destacou-se pela formação de halo somente no meio Aleksandrov (IS 4,45). Os acessos 1207 e 1208 apresentaram comportamento semelhante nos dois meios de cultura, com crescimento e formação de halo. O acesso 1209 não demonstrou capacidade de solubilização de potássio nos dois meios de cultura. Os maiores IS verificados foram dos acessos CMM 1200 (IS 2,25), em meio MISK e, CMM 1206 (IS 4,45) em meio Aleksandrov. Em continuidade, serão realizados trabalhos visando quantificar a contribuição desses microrganismos na biodisponibilização de K de agrominerais silicáticos.

#### **4. CONCLUSÕES**

O Isolamento possibilitou recuperar cinco bactérias em caldos enriquecidos com agrominerais silicáticos com 8,1% e 11% de K<sub>2</sub>O. Fatores nutricionais do meio líquido MISK favoreceram o isolamento de bactérias de agromineral silicático com 8,1% de K<sub>2</sub>O. A composição nutricional do meio sólido Aleksandrov favoreceu a maior expressão de acessos para solubilização de fonte de K solúvel e proporcionou ao acesso destaque (CMM 1206) o maior índice de solubilização (4,45 cm de diâmetro).

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

UROZ S, CALVARUSO C, TURPAULT MP, FREY-KLETT P. Mineral weathering by bacteria: ecology, actors and mechanisms. **Trends Microbiol**, v. 17, n. 8, p. 378-87, 2009.

LUZ, A. B.; LINS, F. A. F. **Rochas & minerais industriais: usos e especificações**. 2.Ed. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2008. 990p.

CARA, D. V. C. et al. **Solubilização biológica de potássio**. Rio de Janeiro: CETEM/MCTI, 2012. 42p. (Série Tecnologia Ambiental, 66).

NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms, **FEMS Microbiology Letters**, v.170, p. 265–270, 1999.

VILELA DE RESENDE, Á.; DE SOUZA MARTINS, É.; GOUVEIA DE OLIVEIRA, C; COELHO DE SENA, M.; TORRES TOLEDO MACHADO, C.; IOSHITERU KINPARA, D.; CYRINO DE OLIVEIRA FILHO, E. Suprimento de potássio e pesquisa de uso de rochas “*In natura*” na agricultura brasileira. **Revista Espaço e Geografia**, [S. I.], v. 9, n. 1, p. 19–42, 2022. Disponível em: <https://periodicos.unb.br/index.php/espacoegeografia/article/view/39768>. Acesso em: 27 ago. 2023.

DALCIN, G. **Seleção de microrganismos promotores da disponibilidade de nutrientes contidos em rochas, produtos e rejeitos de mineração**. 2008. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Santa Catarina.

DUARTE, L. M. **Extração de potássio a partir da rocha verde empregando ácidos orgânico e fungos**. 2019. 38f. Dissertação (Mestrado, em qualidade ambiental) - Programa de Pós-graduação em Qualidade Ambiental, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil.

DOURADO, M. DE. L. **Novas rotas de produção de fertilizante potássico: a biossolvilização de agromineirais**. 2018. Monografia, (Bacharel em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química e de Petróleo, Universidade Federal Fluminense.

SAGA. **Potássio: Reservas, Mercado e Produção**, 8 jun. 2021. Disponível em: <https://sagaconsultoria.com/potassio-reservas-mercado-e-producao/>. Acesso em: 27 ago. 2023.

CEPEA. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. **Com forte dependência do mercado externo, setor nacional de fertilizantes enfrenta desafios**. Disponível em: Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada - CEPEA-Esalq/USP. Acesso em: 14 març. 2023.