



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
COLEGIADO DO CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



**Ciências
Biológicas**
UEL

TRABALHO DE CONCLUSÃO DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

DEBORAH CAROLINE BESSA DA SILVA

ESTUDO DE BACTÉRIAS MOBILIZADORAS DE NUTRIENTES DO SOLO

Londrina – Paraná

2025

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DO CURSO DE
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

DEBORAH CAROLINE BESSA DA SILVA

ESTUDO DE BACTÉRIAS MOBILIZADORAS DE NUTRIENTES DO SOLO

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina como um dos requisitos à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Admilton Gonçalves de Oliveira Junior
Coorientador: Sandriele Aparecida Noriler

Londrina – Paraná
2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL .

Da Silva, Deborah Caroline Bessa Da Silva. ESTUDO DE BACTÉRIAS MOBILIZADORAS DE NUTRIENTES DO SOLO / Deborah Caroline Bessa Da Silva Da Silva. - Londrina, 2025.

40 f.

Orientador: Admilton Gonçalves de Oliveira Junior. Coorientador: Sandrielle Aparecida Nouler. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, 2025.

Inclui bibliografia.

1. Solubilização de fosfato e potássio - TCC. 2. Inoculantes - TCC. 3. Macronutrientes - TCC. 4. Biofertilizantes - TCC. I. Gonçalves de Oliveira Junior, Admilton . II. Aparecida Nouler, Sandrielle. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Graduação em Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU 579

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Admilton Gonçalves de Oliveira Junior

Profa. Dra. Sandrielle Aparecida Nouler

Prof. Dr. Doumit Camilios Netos

Dra. Maria Luiza Abreu Nicoletto

Prof. Dr. Gerson Nakasato (suplente)

Londrina, 18 de fevereiro de 2025

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao orientador, pela oportunidade de crescimento profissional, que me fez crescer como pessoa também, me ajudou a sair do meu comodismo. Sou grata à coorientadora Sandrielle e aos outros amigos do LABIM, especialmente Daniel e Ângelo, que me acompanharam de perto os experimentos por esses 2 anos. Sou imensamente grata aos meus pais e ao meu marido pelo apoio e por sempre acreditarem no meu potencial todos os dias, e sem todos eles eu não conseguiria perseverar. Agradeço também a Universidade Estadual de Londrina (UEL), ao CNPq e à fundação Araucária pois foram importantes ao longo do desenvolvimento do trabalho.

DA SILVA, Deborah. **Estudo de bactérias mobilizadoras de nutrientes de solo.** 2025. 40 fls. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2025.

RESUMO

As bactérias do solo possuem diversas propriedades que podem promover o crescimento das plantas, como a solubilização de nutrientes presentes em minerais. Este projeto teve como objetivo caracterizar bactérias isoladas de solo em relação ao seu potencial de solubilizar potássio e fosfato, além de identificar os mecanismos envolvidos nesse processo. Para avaliar o potencial de solubilização, foram apresentados a formação e o tamanho dos halos em dois meios: NBRIP (fonte de fosfato) e Aleksandrov (fonte de potássio). Além disso, os mecanismos de solubilização foram investigados pela variação de pH, a qual foi registrada para identificar a possível produção de ácidos orgânicos. A identificação desses compostos foi realizada por meio da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Performance (CLAE), utilizando uma coluna de troca iônica e um sistema aquoso acidificado, com padrões de ácido cítrico, ácido propiônico e ácido málico. A partir das análises, pode-se inferir que o isolado L340 aumentou a concentração de H⁺ em meio NBRIP entre o terceiro e quarto dia de fermentação, acidificando-o. O isolado L317 quando fermentado em meio NBRIP, produziu pequenas quantidades de ácido cítrico, já em meio Aleksandrov identificou-se o ácido propiônico. Por fim, no isolado L53 foi possível identificar, em meio NBRIP, o ácido cítrico e propiônico, o primeiro estando em maior concentração, já em meio Aleksandrov foi identificado apenas o ácido propiônico. Esses achados reforçam a importância das bactérias solubilizadoras na disponibilização de nutrientes essenciais para as plantas, destacando seus potenciais mecanismos de ação.

Palavras-chave: mobilização de potássio, solubilização de fosfato, biofertilizantes, macronutrientes, inoculantes, promoção de crescimento de plantas.

DA SILVA, Deborah. **Study of soil nutrient mobilizing bacteria**. 2025. 40 pgs. Final Dissertation (Graduation in Biological Sciences) – State University of Londrina. Londrina. 2025.

ABSTRACT

Soil bacteria have various properties that can help promote plant growth, such as making nutrients in minerals more accessible. This project aimed to characterize bacteria isolated from soil concerning their ability to solubilize potassium and phosphate, as well as identify the mechanisms involved in this process. To evaluate the solubilization potential, the formation and size of halos were assessed in two media: NBRIP (a phosphate source) and Aleksandrov (a potassium source). Additionally, the solubilization mechanisms were investigated by measuring pH changes, which were recorded to identify potential organic acid production. The identification of these compounds was carried out using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC), employing an ion-exchange column and an acidified aqueous system, with standards of citric acid, propionic acid, and malic acid. From the analyses, it can be inferred that the isolate L340 increased the concentration of H⁺ in the NBRIP medium between the third and fourth days of fermentation, leading to its acidification. The isolate L317, when fermented in NBRIP medium, produced small amounts of citric acid, while in the Aleksandrov medium, propionic acid was identified. Lastly, in isolate L53, citric and propionic acids were found in the NBRIP medium, with citric acid being present in higher concentration, while only propionic acid was identified in the Aleksandrov medium. These findings reinforce the importance of solubilizing bacteria in making essential nutrients available for plants, highlighting their potential mechanisms of action.

Keywords: potassium mobilization, phosphate solubilization, biofertilizers, macronutrients, inoculants, promoting plant growth.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1 A IMPORTÂNCIA DA AGRICULTURA NA ECONOMIA BRASILEIRA	10
2.2 IMPORTÂNCIA DE BIOINOCULANTES NA AGRICULTURA.....	11
2.2.2 A Importância do Potássio	12
2.3 GÊNERO <i>BACILLUS</i> COMO MOBILIZADOR DE NUTRIENTES DO SOLO	12
2.4 O GÊNERO <i>PSEUDOMONAS</i> COMO MOBILIZADOR DE NUTRIENTES DO SOLO	13
2.5 MECANISMOS MOBILIZAÇÃO DE NUTRIENTES DO SOLO	14
3 MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1 MICRORGANISMOS	16
3.2 IDENTIFICAÇÃO DE LINHAGENS	16
3.3 CARACTERIZAÇÃO MICRO E MACROMORFOLÓGICA.....	17
3.4 PREPARO DO INÓCULO	17
3.5 ANÁLISE QUALITATIVA DA SOLUBILIZAÇÃO DE POTÁSSIO E FOSFATO.....	17
3.6 MICRORGANISMOS SELECIONADOS	18
3.7 FERMENTAÇÃO E ANÁLISE DE PH DOS FERMENTADOS EM MEIO NBRIP E ALEKSANDROV ..	19
3.8 DEFINIÇÃO DA PRODUÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS	19
3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	20
4. RESULTADOS	21
4.1 IDENTIFICAÇÃO DE LINHAGENS	21
4.2 CARACTERIZAÇÃO MICRO E MACROMORFOLÓGICA.....	22
4.3 ANÁLISE DO ÍNDICE DE SOLUBILIZAÇÃO (SI)	23
4.4 ANÁLISES DE PH	28
4.5 ANÁLISE DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)	30
5. DISCUSSÃO	34
6 CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

A utilização de fertilizantes químicos na agricultura causa impactos ambientais significativos, desde a fabricação até a aplicação, gerando poluição tanto do solo quanto da água (CHANDINI et al. , 2019). Há uma demanda crescente por aumento da produção de alimentos, visando reduzir danos ambientais (HUNTER et al. , 2017). O Plano Nacional de Fertilizantes incentiva o uso de insumos biológicos com microrganismos, que favorecem o desenvolvimento vegetal (ESTRATÉGICOS, 2021; MAHANTY et al. , 2017). Bactérias associadas a plantas, conhecidas como promotoras do crescimento, auxiliam na absorção de nutrientes essenciais (SINGH et al. , 2020). Existem diversos mecanismos pelos quais as bactérias promovem o desenvolvimento de uma planta, sendo um dos principais a disponibilização de nutrientes para absorção pelas raízes (SINGH et al., 2020). Já foi relatado que diversos grupos de bactérias são capazes de solubilizar nutrientes essenciais de minerais, como potássio e fosfato, para a planta, como também produzir moléculas que auxiliam na aquisição de micronutrientes (GHOSH; BERA; CHAKRABARTY, 2020; HU; CHEN; GUO, 2006). Dentre as estratégias associadas a estes microrganismos estão a conversão de fosfatos inorgânicos em formas solúveis por processos de acidificação, quelação, produção de ácidos orgânicos e atividades enzimáticas (BEHERA et al., 2017). Neste contexto, a investigação desses mecanismos demonstrados pelas bactérias pode fornecer uma base teórica e aplicada importante para a melhoria da eficiência de utilização de nutrientes e disponibilidade de macronutrientes pelas culturas e auxiliar no aumento da produção.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A IMPORTÂNCIA DA AGRICULTURA NA ECONOMIA BRASILEIRA

Foram abordados em (GRANGEAT, 2019) os principais impactos da agricultura industrial no Brasil. Na qual as pesquisas mostram que o uso de insumos químicos afeta a água, a fauna, a flora e os seres humanos. A contaminação da água por herbicidas é um problema reconhecido desde a década de 1970, apesar de legislações que limitam pesticidas na água potável. Os fertilizantes nitrogenados estão relacionados à eutrofização e ao declínio da biodiversidade. Os impactos de agrotóxicos na fauna e flora são bem conhecidos a curto prazo, mas desconhecidos a longo prazo, como no caso do DDT. Além dos insumos químicos, a mecanização e a mudança de práticas agrícolas causam erosão do solo e dependência de energias fósseis, contribuindo para mudanças climáticas e danos ambientais. (GRANGEAT, 2019) Para a melhoria dessa situação, a autora sugere também a mudança da agricultura atual para agroecossistemas sustentáveis (AS). O surgimento da ideia de “agroecossistema sustentável” (AS) foi essencialmente uma resposta ao declínio dos recursos naturais em relação a Revolução Verde (Altieri, et al., 2005). De fato, a agricultura industrial (AI) instaurou um ecossistema desbalanceado e insustentável (Gliessman, 1990)

Em síntese, um agroecossistema sustentável pode ser entendido como a implementação de princípios ecológicos na atividade agrícola. O agroecossistema sustentável se relaciona de forma respeitosa com a natureza, criando um sistema alimentar justo e saudável para o bem-estar humano. Isso engloba a avaliação da produção, do tratamento, da venda e do consumo. (GRANGEAT, 2019) Sendo assim, a conclusão é que a implementação da agroecologia deve ser feita em

quatro fases: 1) Eliminação progressiva dos insumos externos; 2) Eficiência do uso de insumos; 3) Substituição de insumos (tecnologias alternativas, ...) e 4) Redesenho do sistema (diversificação, ...) (Altieri, et al., 1996).

2.2 IMPORTÂNCIA DE BIOINOCULANTES NA AGRICULTURA

2.2.1 A Importância do Fósforo

O fósforo (P) é fundamental para o crescimento e desenvolvimento das plantas, sendo indispensável para a produção agrícola. Contudo, o fósforo adicionado ao solo tende a se ligar às partículas do solo, tornando-se inacessível para as plantas. A utilização de bactérias solubilizadoras de fosfato (BSFs) surge como uma estratégia promissora para melhorar a disponibilidade de fósforo no solo. Essas bactérias têm a capacidade de solubilizar fosfatos inorgânicos insolúveis, transformando-os em formas que as plantas conseguem absorver. Esse processo ocorre através de diversos mecanismos, como a produção de ácidos orgânicos, a liberação de enzimas fosfatases, entre outros. (ABREU, C. et al. [s.l: s.n.]). Além disso, o fósforo também é um componente estrutural de genes e cromossomos, além de diversas coenzimas, fosfoproteínas e fosfolipídios. Os dois principais fatores que contribuem para a escassez de fósforo em solos tropicais são os baixos níveis de fósforo nos materiais que deram origem aos solos (as rochas que originaram os solos) e a elevada exposição das rochas aos intemperismos durante o processo de formação dos solos. Os caminhos possíveis incluem o uso adequado de fertilizantes (minerais e orgânicos), o estímulo ao desenvolvimento do sistema radicular das plantas cultivadas e a utilização de inoculantes que solubilizam fósforo (LINS, 2022).

2.2.2 A Importância do Potássio

O potássio é um nutriente vital, sendo o cátion mais abundante nas plantas e o mais absorvido pelos vegetais. Ele desempenha um papel crucial na ativação de enzimas, na regulação osmótica, além de promover e regular processos essenciais de transporte dentro das plantas. (MACHADO DURÃES, [s.d.]

As bactérias mobilizadoras de potássio (BSK) desempenham um papel crucial na solubilização de minerais potássicos. Segundo (SATTAR et al., 2019).

2.3 GÊNERO *BACILLUS* COMO MOBILIZADOR DE NUTRIENTES DO SOLO

Bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPC), podem agir por meio da produção de hormônios de crescimento, fixação biológica de nitrogênio (FBN) e aumento na disponibilização de nutrientes no solo (ARAÚJO, 2008). Bactérias são capazes de reduzir do efeito nocivo do estresse salino, produzir metabólitos secundários com efeitos antibióticos, antifúngicos e inseticidas. Além disso, podem promover a indução de defesa dos vegetais resultando em melhor crescimento e desenvolvimento das plantas e conseqüentemente maior sanidade e produtividade (VERMA et al., 2019; UMESHA et al., 2018; YADAV et al., 2020; VERMA et al., 2019; RIBEIRO et al., 2018).

Estudos mostram que a produção de ácidos orgânicos é um dos principais mecanismos de solubilização de potássio em diversas espécies de *Bacillus* (BADR et al., 2006; SHENG et al., 2008; LIU et al., 2012; MEENA et al., 2016).

Os resultados encontrados por Oliveira et al (2020) também indicam a viabilidade da inoculação com *Bacillus*, neste experimento a campo tanto *B. megaterium* como *B. subtilis* incrementaram significativamente a produtividade de

milho em diferentes anos de cultivo em duas condições de solo.

2.4 O GÊNERO *PSEUDOMONONAS* COMO MOBILIZADOR DE NUTRIENTES DO SOLO

Pseudomonas spp. são bactérias ubíquas em solos agrícolas e atuam como uma posse de biocontrole multifuncional contra fitopatógenos. Elas são mais adequadas como agentes de biocontrole devido à sua diversa adaptabilidade catabólica, propriedades eficientes de colonização de raízes e sua capacidade de produzir uma ampla gama de metabólitos antifúngicos. Várias espécies de *Pseudomonas* mostraram múltiplos atributos de promoção do crescimento de plantas, como atividade de solubilização de fosfato, ácido indol acético (IAA), sideróforo e produção de HCN. (Ray, S., & Patel, H. 2021)

De fato, *Pseudomonas* é um gênero bacteriano amplamente difundido, que apresenta a maior atividade solubilizadora de P no solo da rizosfera (Reyes-Castillo et al., 2019 apud Bahena et al., 2015). *Pseudomonas azotoformans* também tem sido relatada como bactéria solubilizadora de K (Reyes-Castillo et al., 2019 apud Saha et al., 2016).

As pseudomonas são bactérias simbióticas, isto é, habitam tecidos vegetais e trocam substâncias benéficas com eles. Na agricultura, a interação entre plantas e esses organismos é extensivamente investigada. Há outros microrganismos simbióticos, tais como bactérias que fixam nitrogênio, fungos micorrízicos e bactérias que estimulam o crescimento, que já são empregados na agricultura industrial. Organismos como as pseudomonas se alimentam de substâncias extraídas das plantas e as disponibilizam para a planta. Essas substâncias terão a função de estimular o crescimento ou de controlar de forma biológica pragas e enfermidades.

Portanto, estudos envolvendo espécies deste gênero são extensivamente realizados (FRANCHI. Leonardo, 2022).

2.5 MECANISMOS MOBILIZAÇÃO DE NUTRIENTES DO SOLO

Os principais mecanismos de solubilização de P empregados pelos microrganismos incluem: liberação de ácidos orgânicos, sideróforos, prótons, íons hidroxila, CO₂; liberação de enzimas extracelulares (mineralização bioquímica de P) e liberação de P durante a degradação do substrato (mineralização biológica de P) (McGill; Cole, 1981).

As bactérias solubilizadoras de Potássio têm um papel crucial na dissolução de minerais de potássio. Apesar da escassez de dados, (Sattar et al. 2019) oferecem uma detalhada análise dos processos de solubilização de potássio por bactérias, categorizando-os em a) solubilização direta, b) solubilização indireta, c) complexação através da secreção de polissacarídeos extracelulares e d) formação de biofilme.

2.5.1 Ácidos Orgânicos como Mecanismo de Mobilizar Nutrientes

No processo de solubilização direta, os microrganismos solubilizam potássio através da produção de ácidos orgânicos potentes, tais como ácido oxálico, tartárico e cítrico, além de íons H⁺; e através do intemperismo químico induzido por ácido carbônico. O processo de exsudação de ácidos orgânicos é crucial para a solubilização de minerais de potássio, tais (Carvalho Alves et al. apud Kour et al., 2020).

Um dos principais mecanismos bioquímicos envolvidos na solubilização de P é produção de ácidos orgânicos como acetato, láctico, oxálico, tartárico, succínico e principalmente o ácido glucônico que atuam dissolvendo diretamente o material fosfático e/ou quelando cátions que acompanham o ânion fosfato (Santos De Abreu et al. apud Chen et al., 2006).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MICRORGANISMOS

Foram utilizados 20 isolados bacterianos (Tabela 1) de solo pertencentes à coleção microbiológica do Laboratório de Biotecnologia Microbiana (LABIM/UEL), mantidas em caldo triptona de soja (TSB) suplementado com 20 % de glicerol em ultra freezer -80 °C.

Tabela 1: Linhagens bacterianas presentes no banco do LABIM.

Linhagens				
C4	C5	L46	L47	L48
L49	L50	L51	L52	L53
L54	L55	L57	L317	L329
L330	L337	L338	L340	L343

3.2 IDENTIFICAÇÃO DE LINHAGENS

Durante o trabalho foi possível realizar a identificação molecular das linhagens C5, L46, L47, L48, L49, L50, L51, L52, L53, L54, L55, L57, L317, L329 e L340 a partir de dados de sequenciamento obtidos anteriormente em outro trabalho. Com a região 16S do genoma, foi conduzido uma comparação com linhagens referência do banco de dados do National Center for Biotechnology Information (NCBI) utilizando o web server BLAST. Para identificação foi utilizado como critério o e-value, o valor de identidade e a porcentagem de identidade. As demais 5 linhagens não identificadas até o presente momento estão em processo de sequenciamento para posterior identificação.

3.3 CARACTERIZAÇÃO MICRO E MACROMORFOLÓGICA

Para caracterização macromorfológica da colônia e microscópica do tipo de parede celular, os isolados foram cultivados em TSA e incubados a 28 °C por 14 h. As colônias crescidas foram caracterizadas de acordo com seu tamanho, coloração, elevação, tipo de borda e textura. Para caracterização microscópica das células, a partir de uma colônia isolada, foi realizado coloração de Gram para determinação do tipo de parede celular.

3.4 PREPARO DO INÓCULO

Para preparo de inóculo, o isolado foi repicado a partir do estoque em meio de cultura solidificado triptona de soja ágar (TSA) e incubado por 20 h a 28 °C. A partir de uma colônia isolada da cultura crescida, um novo repique foi realizado com as mesmas condições. A partir da nova cultura, foi preparado em solução salina (0,85%) uma suspensão bacteriana contendo aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, de acordo com a escala 0,5 de McFarland.

3.5 ANÁLISE QUALITATIVA DA SOLUBILIZAÇÃO DE POTÁSSIO E FOSFATO

Para avaliação da capacidade de solubilização de potássio (K) presente em minerais de Feldspato Potássico, foi inoculado 10 µL de suspensão bacteriana (preparada conforme item 3.5) em dois pontos equidistantes em meio de cultura Aleksandrov (0,5 % glicose; 0,05 % sulfato de magnésio; 0,0005 % cloreto de ferro III; 0,01 % carbonato de cálcio; 0,2 % fosfato de sódio dibásico; 0,2 % feldspato

potássico como fonte de K insolúvel; 2 % ágar bacteriológico, pH = 7).

As placas foram incubadas por até 7 dias a 28°C em estufa bacteriológica e uma placa sem inóculo foi utilizada como controle. A solubilização de K foi determinada pela formação de um halo translúcido em volta da colônia. O índice de solubilização de K (ISP) foi determinado de acordo com a seguinte equação:

$$ISP = \frac{(dc + dh)}{dc}$$

Onde dc = diâmetro da colônia e dh = diâmetro do halo.

Para avaliação da capacidade de solubilização de fosfato o mesmo procedimento metodológico foi utilizado, porém com utilização do meio de cultura NBRIP (1 % Glicose; 0,5 % Cloreto de Magnésio Hexahidratado; 0,025 % Sulfato de Magnésio Heptahidratado; 0,02 % Cloreto de Potássio, 0,01 % Sulfato de Amônia; 0,5 % Fosfato Tricálcio como fonte de fosfato insolúvel; 2 % ágar bacteriológico, pH = 7) e um período de incubação de até 14 dias.

A solubilização de fosfato foi determinada pela formação de um halo translúcido em volta da colônia. O índice de solubilização de fosfato (ISF) foi determinado de acordo com a seguinte equação:

$$ISF = \frac{(dc + dh)}{dc}$$

Onde dc = diâmetro da colônia e dh = diâmetro do halo. Os dois experimentos foram realizados em triplicata e repetidos três vezes.

3.6 MICRORGANISMOS SELECIONADOS

Para os testes apresentados a seguir nesse trabalho foram utilizados os isolados L53, L317 e L340 selecionados a partir dos testes mencionados

anteriormente, sendo eles testes *in vitro* e *in sílico*, o que significa que além da capacidade nos testes realizados foi baseado a diversidade molecular dos isolados como critério de seleção. O preparo do inóculo foi realizado conforme o tópico 3.3.

3.7 FERMENTAÇÃO E ANÁLISE DE PH DOS FERMENTADOS EM MEIO NBRIP E ALEKSANDROV

Para análise de pH foi utilizado o meio de cultivo Aleksandrov líquido, que é frequentemente utilizado em estudos de solubilização de K, sendo composto por (%): 0,5 glicose, 0,05 sulfato de magnésio, 0,0005 cloreto de ferro III, 0,01 carbonato de cálcio, 0,2 fosfato de sódio dibásico e 0,2 feldspato potássico (fonte insolúvel de K), com pH final ajustado para 7. Também foi utilizado o meio de cultivo NBRIP líquido, que é amplamente utilizado em estudos de solubilização de P, sendo composto por (%): 1,0 glicose, 0,5 cloreto de magnésio hexahidratado, 0,025 sulfato de magnésio heptahidratado, 0,02 cloreto de potássio, 0,01 sulfato de amônia, 0,5 fosfato tricálcio (fonte insolúvel de P), com pH final ajustado para 7. Para cultivo dos isolados foram utilizados Erlenmeyers contendo 40% de sua capacidade com meio de cultivo. A partir da suspensão concentrada de células, foi retirado uma alíquota equivalente a 1% do volume de meio de cultivo do Erlenmeyer (v/v) e transferida para o frasco. Os frascos foram incubados em incubadora com agitação orbital, a 30 °C, 200 rpm durante 5 dias e foram retiradas alíquotas a cada 24h para determinação do pH até o tempo final de fermentação. O experimento foi repetido três vezes.

3.8 DEFINIÇÃO DA PRODUÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS

As culturas bacterianas foram centrifugadas por 10 min a 8.860 x g a 4 °C. O

sobrenadante obtido foi filtrado utilizando membrana 0,22 μm para obtenção do sobrenadante livre de células (SLC). O SLC foi submetido a cromatografia líquida de alta eficiência em um cromatógrafo líquido de alto desempenho (RIGOL L-3000) equipado com uma coluna de troca iônica Aminex HPX-87X (9 μm , 300 mm x 7,8 mm, Bio-Rad). Para fase móvel, foi utilizado água contendo 0,005 mol/L de ácido sulfúrico, o fluxo foi de 1 ml/min e o comprimento de onda utilizado para detecção foi de 210 nm, durante 20 min. Foram utilizados soluções-padrão dos seguintes ácidos orgânicos: ácido acético, ácido cítrico, ácido málico e ácido propiônico. Os picos obtidos nos cromatogramas das amostras foram comparados com os padrões para sugerir quais ácidos podem ter sido produzidos.

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk, de Bartlett e de Durbin-Watson para validação dos pressupostos de distribuição normal, homogeneidade das variâncias e independência dos resíduos, respectivamente. Os dados que atenderem os pressupostos foram submetidos à Análise de Variância e Teste de Comparação de Médias de Scott-Knott, com $p < 0,05$. Dados que não atenderem os pressupostos foram submetidos a análise não-paramétrica de Kurskall-Wallis e ao Teste de Dunnett. Todas as análises foram realizadas no software R (v 4.1.2).

4. RESULTADOS

4.1 IDENTIFICAÇÃO DE LINHAGENS

A análise da região 16S do DNA (Tabela 2) permitiu a identificação de 6 gêneros distintos (*Bacillus*, *Enterobacter*, *Kosakonia*, *Pseudomonas*, *Priestia* e *Staphylococcus*), sendo a maioria pertencente a *Bacillus* (53 %) e *Priestia* (20 %), dois gêneros de bactérias Gram-positivas de interesse agrônômico devido à sua capacidade de promoção do crescimento de plantas e facilidade de produção industrial.

Além disso, outros dois gêneros de interesse são *Kosakonia* e *Pseudomonas*, que contém espécies amplamente utilizadas na agricultura, como *K. sacchari*, *K. radicincitans*, *P. fluorescens* e *P. putida*, devido a sua capacidade de solubilizar nutrientes e, no caso de *Kosakonia*, fixar nitrogênio, um atributo não investigado neste trabalho. (JOSHI et al. 2018).

Tabela 2: Identificação das linhagens bacterianas.

Linhagem	Espécie
C5	<i>Priestia megaterium</i>
L46	<i>Bacillus mycoides</i>
L47	<i>Priestia megateirum</i>
L48	<i>Bacillus nitratireducens</i>
L49	<i>Bacillus nitratireducens</i>
L50	<i>Bacillus mycoides</i>
L51	<i>Bacillus mycoides</i>
L52	<i>Bacillus arachidis</i>
L53	<i>Bacillus nitratireducens</i>
L54	<i>Staphylococcus warneri</i>

L55	<i>Kosakonia cowanii</i>
L57	<i>Kosakonia cowanii</i>
L317	<i>Bacillus paralicheniformis</i>
L329	<i>Enterobacter quasihormaechei</i>
L340	<i>Pseudomonas nitroreducens</i>

4.2 CARACTERIZAÇÃO MICRO E MACROMORFOLÓGICA

Na caracterização micromorfológica, foi observado que 8 são Gram-negativas com formato de cocus, 12 são Gram-positivas com formato de bacilo. Foi observado também uma variedade macromorfológica das linhagens, podendo ter colônias de formato circular ou irregular, borda lisa, filamentosa ou ondulada, são planas ou convexas, secas ou mucoides e podem ou não apresentar brilho, com coloração variando entre branca, bege e amarela (Tabela 3). O conhecimento das características de um microrganismo é fundamental para a microbiologia, especialmente quando são estudadas muitas linhagens, pois essas características são úteis para um maior controle de qualidade e contaminação.

Tabela 3: Caracterização macromorfológica das colônias das linhagens.

Linhagens	Formato	Tipo de borda	Elevação	Textura	Propriedades ópticas
C4	Circular	Lisa	Convexa	Mucoide	Brilhosa e branca
C5	Circular	Lisa	Convexa	Mucoide	Brilhosa e branca
L46	Circular	Lisa	Convexa	Seca	Opaca e branca
L47	Circular	Lisa	Convexa	Seca	Opaca e bege
L48	Irregular	Filamentosa	Plana	Seca	Opaca e bege
L49	Irregular	Filamentosa	Plana	Seca	Opaca e bege
L50	Irregular	Filamentosa	Plana	Seca	Opaca e bege
L51	Irregular	Filamentosa	Plana	Seca	Opaca e bege

L52	Irregular	Filamentosa	Plana	Seca	Opaca e bege
L53	Irregular	Filamentosa	Plana	Seca	Opaca e bege
L54	Circular	Lisa	Convexa	Mucoide	Brilhosa e bege
L55	Circular	Lisa	Convexa	Mucoide	Brilhosa e bege
L57	Circular	Lisa	Convexa	Mucoide	Brilhosa e bege
L317	Irregular	Filamentosa	Plana	Seca	Opaca e bege
L329					
L330					
L337	Circular	Lisa	Convexa	Mucoide	Brilhosa e bege
L338	Circular	Lisa	Convexa	Mucoide	Brilhosa e branca
L340	Circular	Ondulada	Plana	Seca	Opaca e bege claro
L343	Circular	Lisa	Convexa	Mucoide	Brilhosa e bege

4.3 ANÁLISE DO ÍNDICE DE SOLUBILIZAÇÃO (SI)

Os resultados da análise de solubilização de potássio levaram a identificação de 10 linhagens com capacidade de solubilização (Tabela 4). Dentre as linhagens solubilizadoras de potássio, destacam-se L337, L338 e L340, que apresentam os maiores valores de diâmetro de solubilização e ISP, demonstrando ser isolados com potencial para a próxima etapa de desenvolvimento da tecnologia.

Outras linhagens com menor capacidade de solubilização, mas que ainda são de interesse são as linhagens L53, L55, L57 e L317, que são pertencentes a gêneros de interesse para o desenvolvimento de inoculantes.

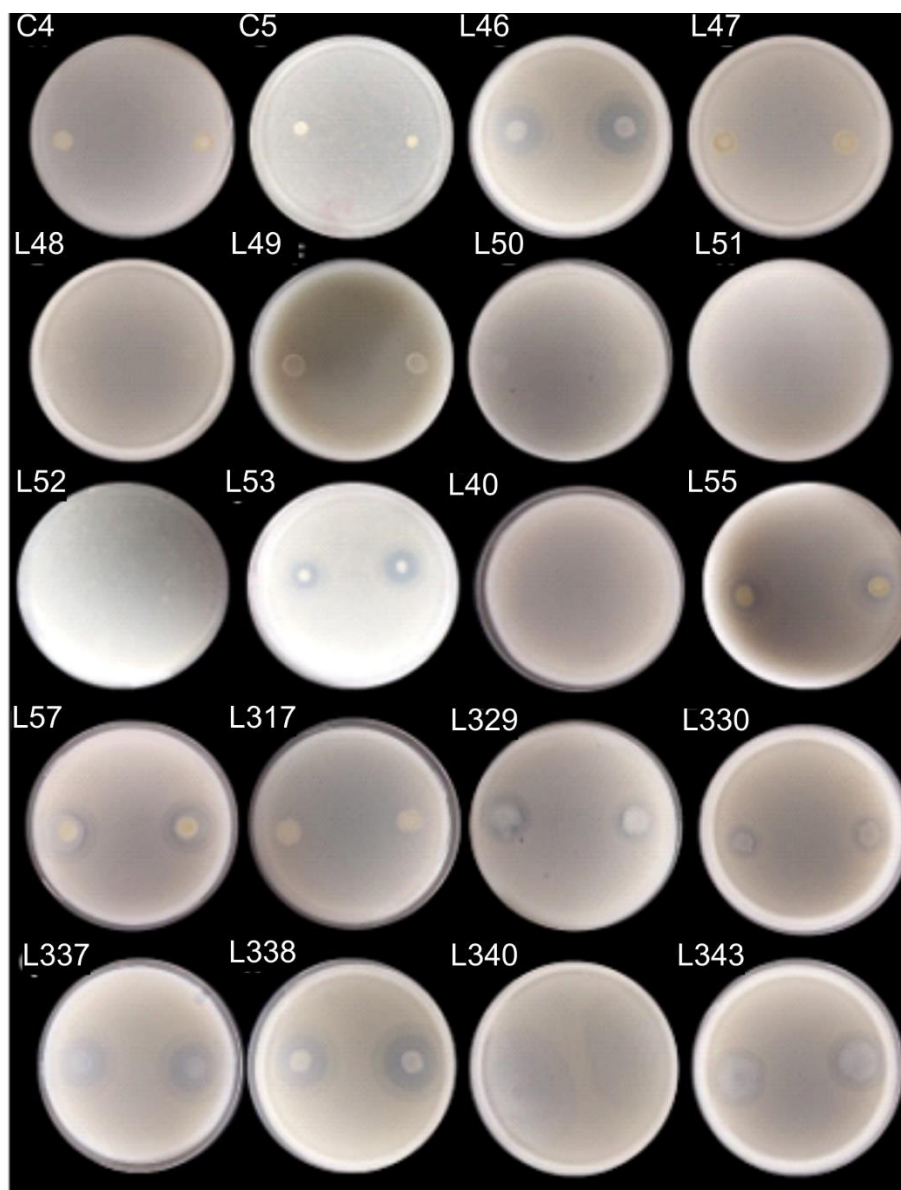
As linhagens L330 e L343 também demonstraram capacidade de solubilizar potássio, contudo sem a identificação molecular é difícil prospectar trabalhos futuros com essas bactérias. E a linhagem L329, que também solubiliza potássio, é pertencente a espécie *E. quasihormaechei*, inviabilizando trabalhos futuros com a bactéria devido ao seu potencial virulento.

Tabela 4: Resultados de solubilização de potássio insolúvel presente em feldspato.

Linhagens	Diâmetro de solubilização (mm)		ISP	
C4	0,00±0,00	g	1,00±1,00	e
C5	0,00±0,00	g	1,00±0,00	e
L46	0,00±0,00	g	1,00±0,00	e
L47	0,00±0,00	g	1,00±0,00	e
L48	0,00±0,00	g	1,00±0,00	e
L49	0,00±0,00	g	1,00±0,00	e
L50	0,00±0,00	g	1,00±0,00	e
L51	0,00±0,00	g	1,00±0,00	e
L52	0,00±0,00	g	1,00±0,00	e
L53	10,86±2,21	f	2,58±0,65	d
L54	0,00±0,00	g	1,00±0,00	e
L55	14,00±4,70	ef	3,00±0,74	d
L57	21,47±4,46	bc	3,06±0,80	bc
L317	12,00±0,29	f	2,37±0,13	d
L329	16,27±1,44	de	2,45±0,16	cd
L330	10,97±0,29	f	2,66±0,23	cd
L337	25,75±0,52	ab	4,74±0,39	a
L338	27,69±2,73	a	4,46±0,58	ab
L340	32,55±5,23	a	5,59±0,84	a
L343	18,69±3,80	cd	2,34±0,15	d

Valores de diâmetro de solubilização e ISP seguidos pelas mesmas letras em cada coluna não diferem entre si pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Figura 1: Ensaio de solubilização de Potássio em meio Aleksandrov



Por fim, foram encontradas 12 linhagens com capacidade de solubilização de fosfato (Tabela 5). Dentre as quais, L337, L338 e L340 apresentaram os melhores resultados para diâmetro de solubilização e ISF, excluindo L340 neste último parâmetro, que apresentou um dos menores valores, o que pode ser explicado pelo seu grande crescimento no meio de cultivo, que contribui para diminuir o ISF.

Nesse ensaio foi encontrado um maior número de Gram-positivos com capacidade de solubilização, sendo elas as linhagens C4, C5, L47 e L317, pertencentes ao gênero *Bacillus* ou *Priestia* (membro antigo de *Bacillus*). Dentre

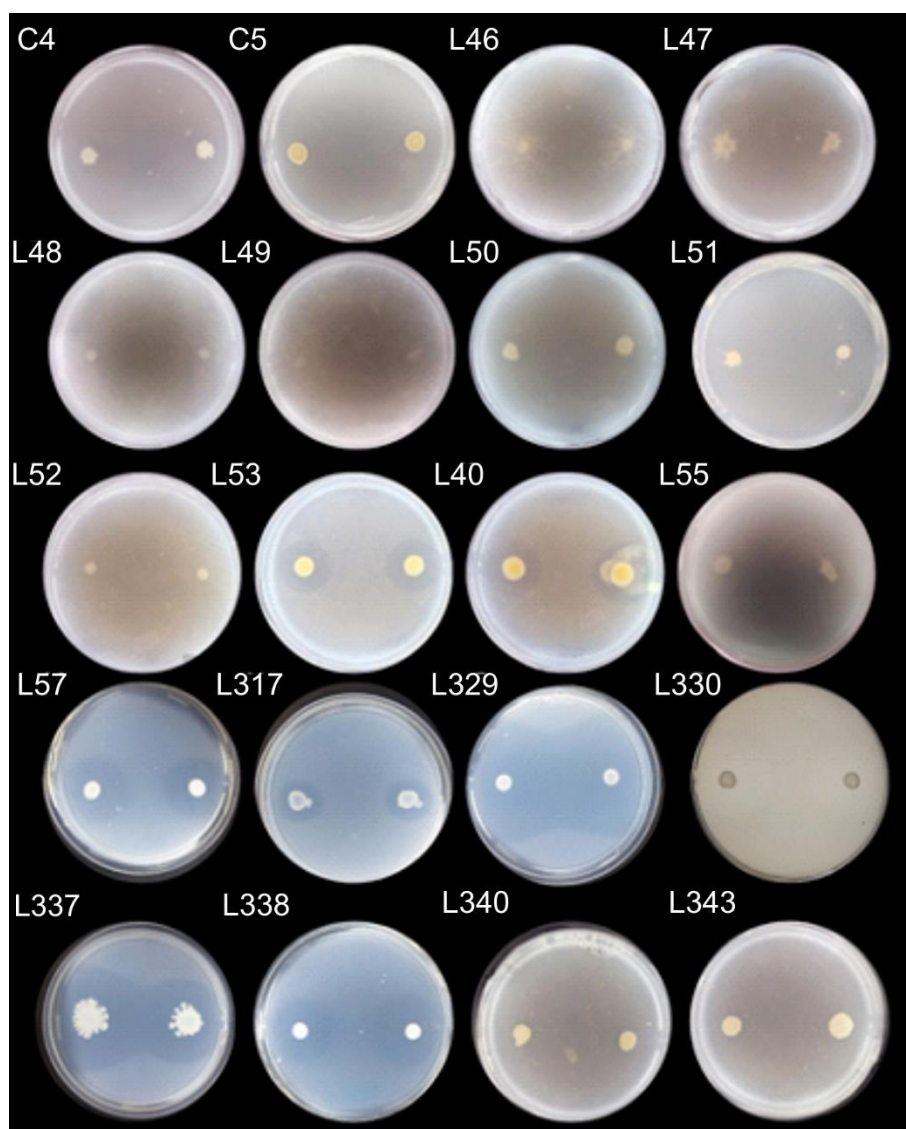
essas, vale destacar as linhagens C5 e L47, que são da espécie *P. megaterium*, que é muito utilizada no campo como uma bactéria promotora do crescimento de plantas, o que corrobora com o potencial dessas linhagens.

Tabela 5: Resultados de solubilização de fosfato insolúvel presente em fosfato tricálcio.

Linhagens	Diâmetro de solubilização (mm)		ISF	
C4	9,75±2,31	c	2,16±0,02	d
C5	12,20±2,63	c	2,13±0,37	d
L46	0,00±0,00	d	1,00±0,00	e
L47	10,17±4,18	c	2,15±0,60	d
L48	0,00±0,00	d	1,00±0,00	e
L49	0,00±0,00	d	1,00±0,00	e
L50	0,00±0,00	d	1,00±0,00	e
L51	0,00±0,00	d	1,00±0,00	e
L52	0,00±0,00	d	1,00±0,00	e
L53	0,00±0,00	d	1,00±0,00	e
L54	0,00±0,00	d	1,00±0,00	e
L55	23,67±0,02	a	4,62±0,54	b
L57	18,10±0,85	b	2,76±0,39	d
L317	13,75±3,97	c	3,26±0,41	d
L329	24,67±5,90	b	4,29±0,72	c
L330	9,00±1,85	c	2,38±0,17	d
L337	29,17±2,06	a	5,69±0,63	a
L338	28,17±2,86	a	5,88±0,25	a
L340	30,33±4,70	a	2,80±0,16	d
L343	22,33±2,19	b	4,05±0,50	c

Valores de diâmetro de solubilização e ISF seguidos pelas mesmas letras em cada coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Figura 2: Ensaio de solubilização de fósforo, meio NBRIP



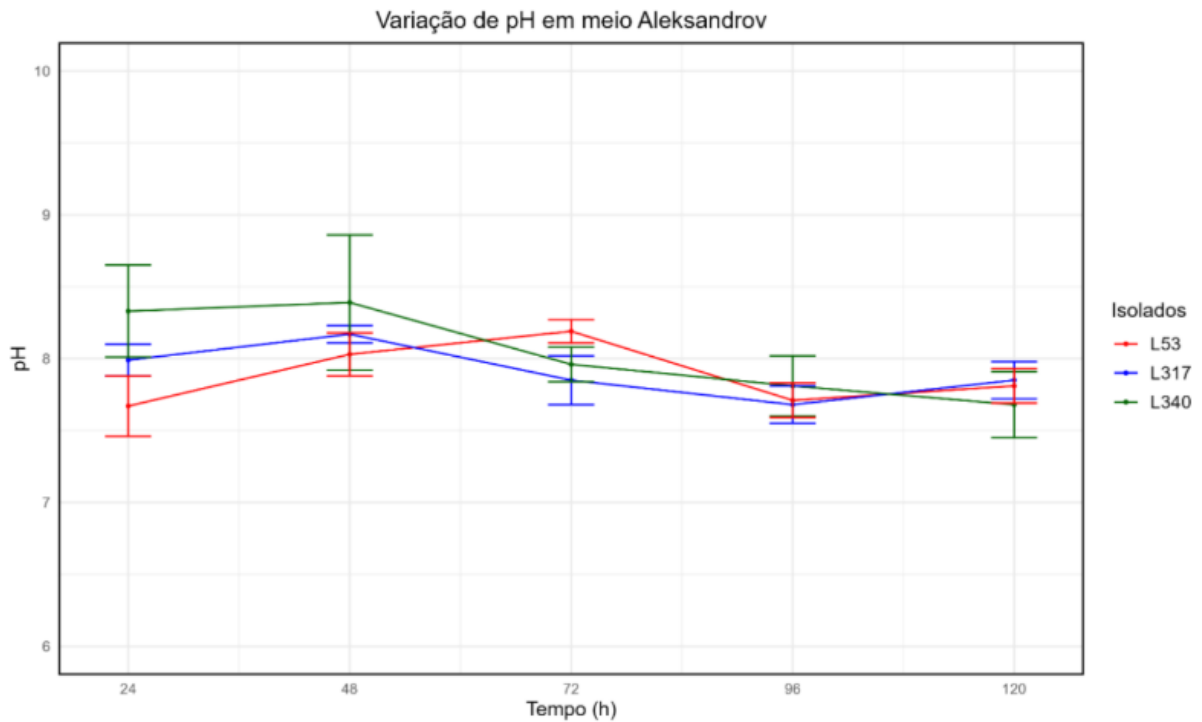
Quando é observado os resultados de ambos os experimentos, também é possível identificar linhagens com capacidade de solubilização dos dois elementos, sendo estas as linhagens L55, L57, L317, L329, L330, L337, L338, L340 e L343, o que contribui ainda mais para a aplicação das linhagens como promotores de crescimento de plantas, pois tem potencial de fornecer dois macronutrientes essenciais. Dentre esses potenciais, as linhagens L317 e L340 tem uma atenção ainda

maior devido ao fato de serem pertencentes a espécies de interesse. Como já foi dito L55 e L57, sendo do gênero *Kosakonia* e a L329 sendo do gênero *Enterobacter*, ambos gêneros possuem espécies com potencial virulento, assim sem interesse na agricultura. E as espécies restantes que solubilizaram ambos macronutrientes como L330, L337, L338 e L343, ainda não conhecemos as espécies. Por isso, além das linhagens L317 e L340 se destacarem, foi selecionado também a L53, na qual solubilizou fosfato, mas houve um pequeno halo nos experimentos com potássio, portanto foi descido estudar mais está linhagem em meio líquido in vitro.

4.4 ANÁLISES DE PH

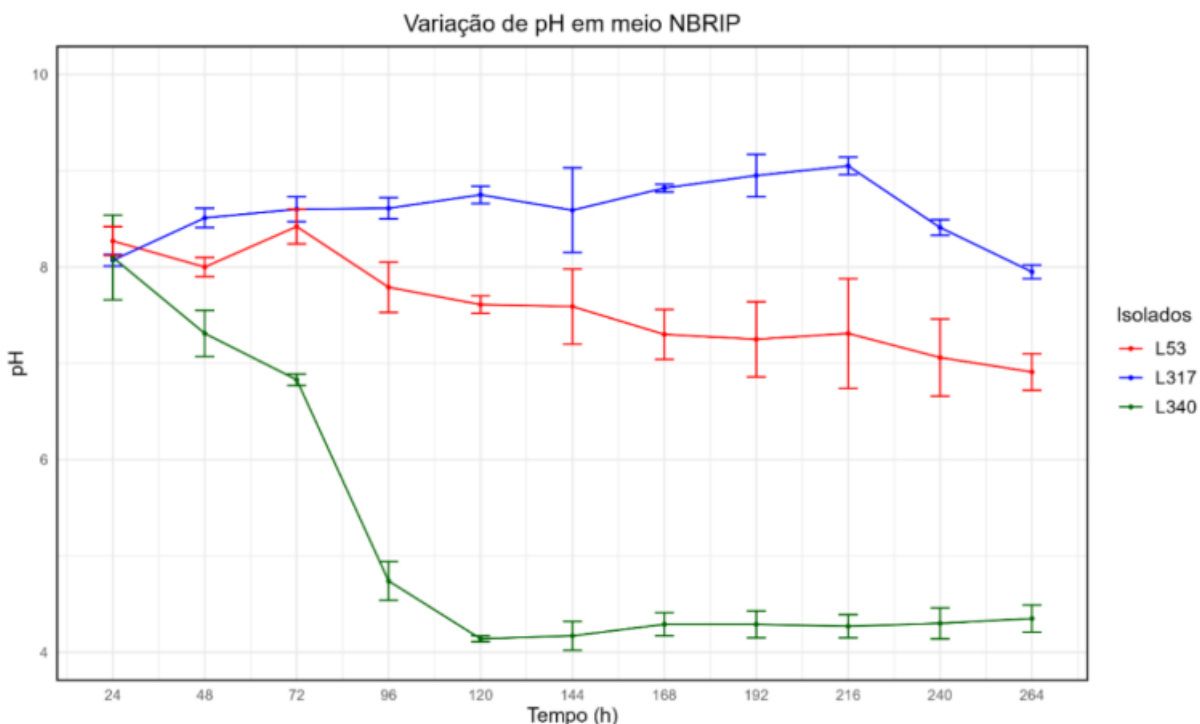
Durante a avaliação de pH em meio de cultivo Aleksandrov (Figura 3), foi observado que os isolados L317 e L340 acidificam o meio de cultivo quando comparado o tempo inicial e final, saindo de $7,99 \pm 0,11$ para $7,85 \pm 0,13$ e $8,33 \pm 0,32$ para $7,68 \pm 0,23$, respectivamente. Em relação ao perfil de acidificação durante o cultivo, ao avaliar o isolado L340 percebe-se que houve um aumento do pH até às 48h de incubação e posteriormente houve apenas acidificação do meio de cultivo. Em relação a L317, foi observado um perfil variável, com um aumento de pH até às 48h, seguido de queda até às 96h e um aumento no último ponto de avaliação. Já em relação a L53, houve um aumento no pH até às 72h de cultivo e posteriormente uma redução até o tempo final, mas não o suficiente para ser menor que o primeiro tempo de avaliação, ficando com um pH inicial às 24h de $7,67 \pm 0,21$ e um final de $7,81 \pm 0,12$.

Figura 3: Perfil de variação de pH durante cultivo em meio Aleksandrov.



Na avaliação em meio de cultivo NBRIP (Figura 4), houve acidificação em todos os cultivos para as três bactérias, com L53, L317 e L340 apresentando um pH inicial de $8,27 \pm 0,15$, $8,07 \pm 0,06$ e $8,1 \pm 0,44$, até um pH final de $6,91 \pm 0,19$, $7,95 \pm 0,07$ e $4,35 \pm 0,14$, respectivamente. Em relação ao perfil de acidificação, no cultivo da L53 houve aumento de pH até às 72h de cultivo, seguido de queda até 252h, com a L317, observou-se um aumento de pH até as 204h de cultivo, chegando a $9,05 \pm 0,09$ e partir deste momento que o meio começou a acidificar, enquanto para L340, a partir de 48h de cultivo houve acidificação do meio de cultivo de forma praticamente ininterrupta, com poucos pontos de aumento de pH.

Figura 4: Perfil de variação de pH durante cultivo em meio NBRIP.



4.5 ANÁLISE DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

Após análise de CLAE foi possível sugerir que há produção de ácidos orgânicos pelos isolados nos dois meios de cultivo (Tabela 6), pois ao comparar os picos obtidos nos cromatogramas, houve sobreposição dos picos das amostras com os picos dos padrões de ácidos, além de apresentarem tempos de retenção similares. Em NBRIP, os três isolados produzem ácido cítrico, mas além deste, a L53 produz ácido propiônico em baixa quantidade e a L340 produz ácido málico, já em Aleksandrov, todas produzem ácido propiônico.

Neste trabalho não foi realizada a quantificação da quantidade de ácidos produzidos pelos isolados, contudo, é possível sugerir em quais amostras houve maior ou menor produção pelas leituras de absorbância obtidas. Ao analisar os cromatogramas de L53, L317 e L340 cultivadas em NBRIP (Figura 3), ao observar a

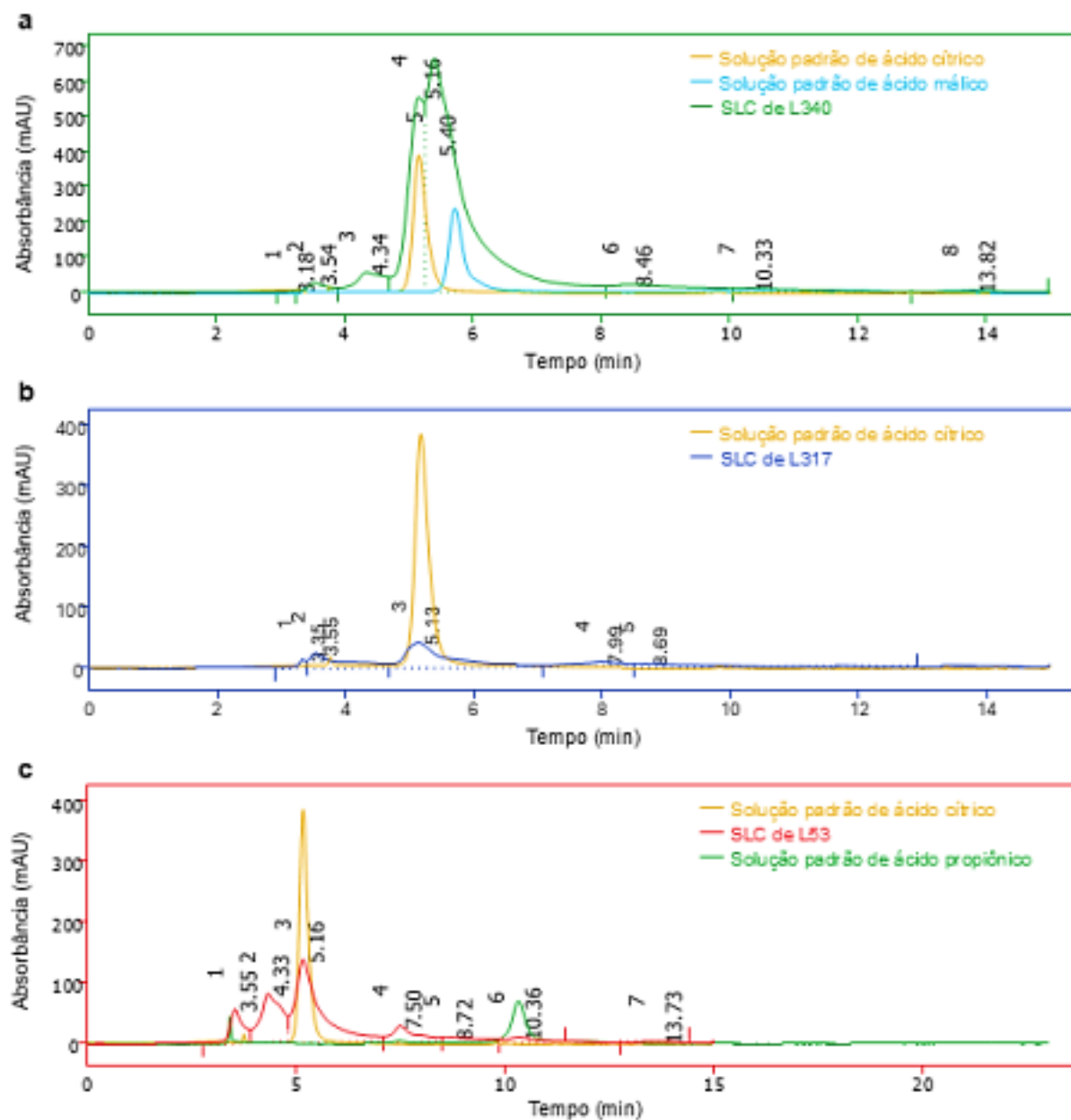
produção de ácido cítrico em NBRIP, a L340 possivelmente produz uma grande quantidade dessas moléculas pois apresentou maior absorvância do que a solução padrão de ácido cítrico, enquanto L53 e L317 tendem a produzir uma menor quantidade, sendo observado absorvância menor do que observado na solução padrão. Quanto à produção de ácido málico, produzida apenas pela L340, também se notou que provavelmente há uma alta quantidade dessas moléculas sendo produzidas. E em relação ao ácido propiônico, produzido apenas por L53 em NBRIP, há indícios de produção desse ácido, porém em baixa quantidade.

Tabela 6: Ácidos potencialmente produzidos pelos isolados L53, L317 e L340.

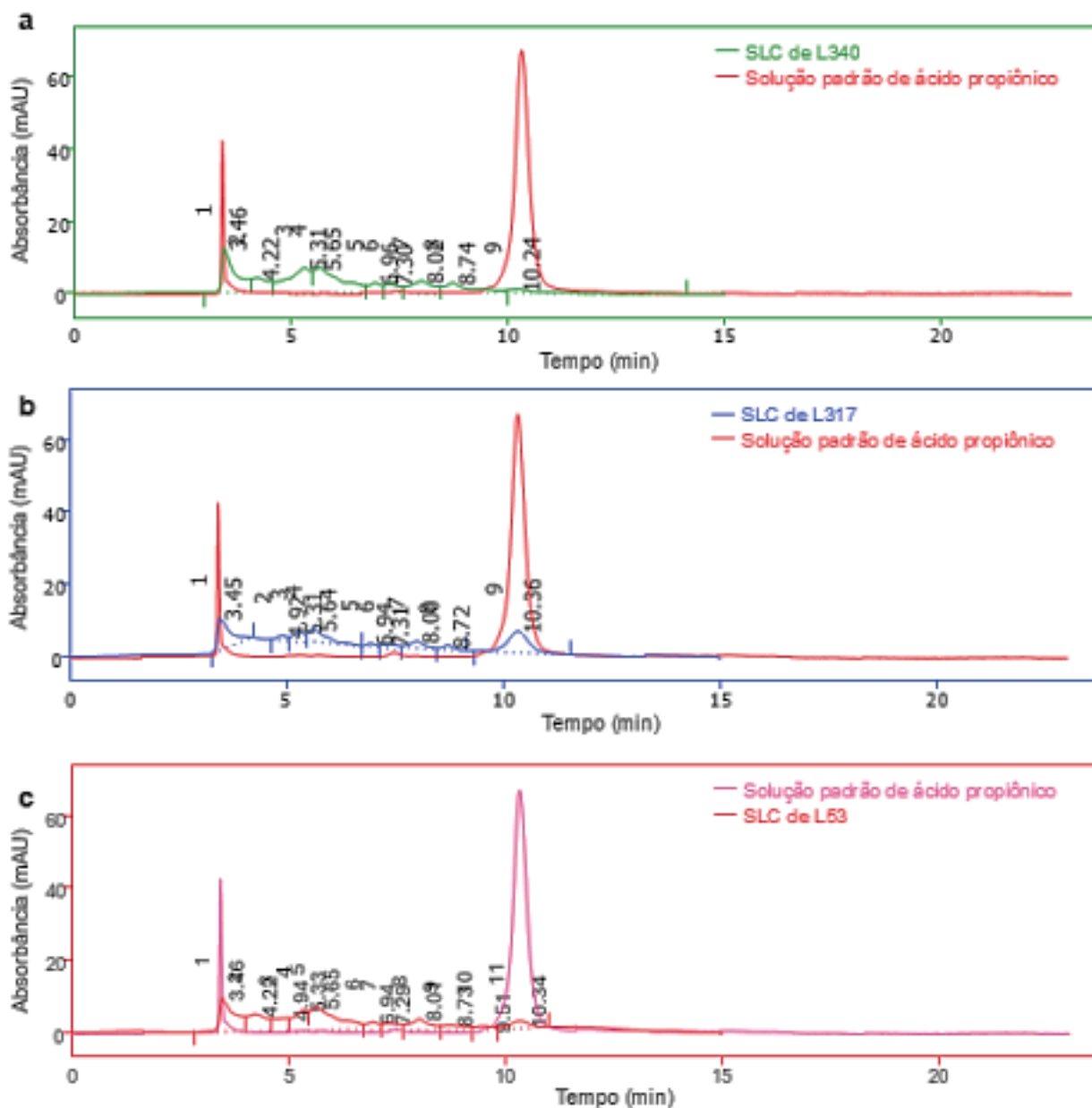
Isolados	Possíveis ácidos produzidos em NBRIP	Possíveis ácidos produzidos em Aleksandrov
<i>B. nitratreducens</i> L53	Ácido cítrico e ácido propiônico	Ácido propiônico
<i>B. paralicheniformis</i> L317	Ácido cítrico	Ácido propiônico
<i>Pseudomonas</i> sp. L340	Ácido cítrico e ácido málico	Ácido propiônico

Na avaliação dos cromatogramas de L53, L317 e L340 cultivados em Aleksandrov (Figura 4), foi observado apenas a potencial produção de ácido propiônico, com todas apresentando uma menor concentração do que a observada na solução padrão. Dentre os três isolados, o que apresentou maior absorvância foi a L317, que é possivelmente a com maior capacidade de produção deste ácido neste meio de cultivo.

Figura 3: Cromatogramas obtidos após avaliação do SLC de L53, L317 e L340 cultivados em NBRIP.



a: Pico de absorbância do ácido cítrico em amarelo com tempo de retenção de 5 minutos. Pico do ácido málico em azul com tempo de retenção 5,40 minutos. Picos da L340 em verde com tempo de retenção em 5 minutos e em 5,16 minutos; **b:** Pico do ácido cítrico em amarelo com tempo de retenção em 5,13 minutos; Pico do L317 com tempo de retenção em 5,13 minutos. **c:** Pico do ácido cítrico em amarelo com tempo de retenção de 5,16 minutos. Picos do ácido propiônico em verde com tempo de retenção de 10,36 minutos. Picos da L53 em vermelho com tempo de retenção de 5,16 minutos e 10,36 minutos.



a: Picos de absorbância do ácido propiônico em vermelho com tempo de retenção de 10,24 minutos. Pico da L340 em verde com tempo de retenção de 10,24 min; **b:** Picos do ácido propiônico em vermelho com tempo de retenção de 10,36 minutos. Picos da L317 em azul com tempo de retenção em 1 e faixa de 9 minutos a 10,36 minutos. **c:** Picos do ácido propiônico em rosa um com tempo de retenção de 10,34 minutos. Pico da L53 em vermelho com tempo de retenção de 10,34 minutos.

5. DISCUSSÃO

Este estudo empregou uma análise qualitativa com o objetivo investigar potencial de várias linhagens de bactérias em auxiliar na mobilização de nutrientes, além de buscar os possíveis mecanismos de solubilização, como a produção de ácidos orgânicos. Os resultados obtidos neste trabalho corroboram com a literatura existente (Souchie et al., 2005), que afirma: o meio de cultura empregado contém uma fonte de fósforo insolúvel que, na presença de substâncias liberadas por microrganismos, como ácidos orgânicos e enzimas, sofre solubilização. Este fenômeno é demonstrado pela criação de um halo translúcido ao redor das colônias que realizam a solubilização (Souchie et al., 2005).

Os dados da análise de solubilização de potássio permitiram identificar 10 linhagens com potencial solubilizador de potássio (Tabela 4). Dentre elas, as linhagens L337, L338 e L340 se destacaram, apresentando os maiores diâmetros de solubilização e Índice de Solubilização de Potássio (ISP). Esses achados sugerem uma variação na eficácia de solubilização entre os isolados, o que pode estar relacionado às discrepâncias na capacidade de produção de ácidos orgânicos. (Rodríguez; Fraga, 1999). No caso de *Kosakonia* em específico, deve-se verificar o potencial virulento das linhagens, visto que nem todos os membros de *Kosakonia* são promotores de crescimento de plantas, existindo espécies patogênicas de plantas, como também de animais (Yang X-J et.al 2018) Já no caso de L53 e L317, que são *B. nitratireducens* e *B. paralicheniformis*, respectivamente, não há evidências de fatores de virulência nessas, tornando-as grandes candidatas para o desenvolvimento de inoculantes. Como dito anteriormente, L340 é uma *P. nitroreducens*, é uma espécie na qual existe apenas poucos investigando seu potencial, que assim como este

trabalho, o fizeram em condições controladas. Dessa forma, novos ensaios com essa linhagem são necessários para validar sua performance em um sistema *in vivo*. Em relação as linhagens L337 e L338, deve-se identificar a espécie antes de dar continuidade nos trabalhos futuros, visto que bactérias com potencial virulento, como as do gênero *Enterobacter*, também podem solubilizar potássio e não são de interesse para aplicação na agricultura.

Existem diferentes mecanismos aos quais os microrganismos podem disponibilizar fósforo e potássio no solo, um dos principais mecanismos é a produção de ácidos orgânicos que atuam quelando ligações de fosfato e potássio, liberando-os dos minerais em que estavam ligados e os tornando solúveis (SHARMA, 2013). Além disso, a acidificação do solo pode contribuir para a solubilização desses elementos quando insolúveis, a liberação de prótons H⁺, contribui para a solubilização de P e K por meio da acidólise de ligações químicas (PAN, 2023). Sabendo disso, esse estudo buscou investigar a capacidade de três linhagens com capacidade de solubilizar P e K *in vitro* no potencial de acidificação e produção de ácidos orgânicos.

Em estudos anteriores foi demonstrado que o isolado L340 é o isolado com maior capacidade de solubilização quando comparada aos outros dois isolados utilizados no estudo (SILVA, 2023). Ao investigar a capacidade de acidificação e produção de ácidos orgânicos, a L340 se destacou na maior parte dos ensaios, apresentando os menores valores de pH ao término do cultivo e com maior produção de ácido cítrico, que é um dos principais ácidos relacionados a solubilização de P (KLAIC, 2017), corroborando com os dados evidenciados anteriormente.

O isolado L340 pertence ao gênero *Pseudomonas*, que é reconhecidamente um grupo de bactérias que apresenta capacidade de solubilização de P e K, com o principal mecanismo sendo a produção de ácidos orgânicos

(RODRÍGUEZ, 1999). Dessa forma, pode se sugerir a alta capacidade da L340 para produção de ácidos orgânicos, especialmente o ácido cítrico, além de a acidificação do meio de cultivo, todos esses mecanismos possivelmente relacionados a sua atividade de solubilização.

O isolado L317 pertence à espécie *B. paralicheniformis*, estudos dessa espécie evidenciam uma maquinaria genética vasta na produção de ácidos, sideróforos e regiões de plasticidade adaptativa, que evidenciam o potencial do grupo em ser utilizado como princípio ativo no desenvolvimento de um insumo agrícola (IQBAL et al ., 2023). Nós identificamos por CLAE dois dos ácidos avaliados, sendo ácido cítrico encontrado em fermentações no meio NBRIP e ácido propiônico em meio Aleksandrov, demonstrando que o isolado possui vias expressas de produção de ácidos capazes de disponibilizar nutrientes para as plantas. (SILVA, 2024)

Por fim, no isolado de *B. nitratreducens* L53 foi possível identificar em meio NBRIP o ácido cítrico e propiônico, já em meio Aleksandrov foi identificado apenas o ácido propiônico corroborando com os resultados de acidificação evidenciados na curva da média de pH dos cultivos. Por se tratar de uma espécie pouco estudada para esse fim, nota-se uma escassez de trabalhos que corroboram com esse estudo. Porém, em estudos do gênero *Bacillus* relacionam essa bactéria com a capacidade de promoção de crescimento de plantas, auxiliando principalmente na solubilização de minerais, degradação da parede celular de fungo e na produção de hormônios análogos aos hormônios vegetais (MEENA, 2016). Isso reforça a necessidade de estudos que visem avaliar a performance do isolado frente a outros tipos adversidades, como na produção de hormônios que podem influenciar no crescimento vegetal e em sua atividade de controle contra fungos fitopatogênicos.

Os dados evidenciam que estes isolados do gênero *Bacillus*

produzem ácidos com capacidade de solubilizar P e K, além disso, mostram que a acidificação é causada pela extrusão de prótons associada à assimilação de amônio ou à produção de ácidos orgânicos (KANG et al ., 2008; SHARAN et al ., 2008; BEN FARHAT et al ., 2009; OLIVEIRA et al ., 2009; HABTE e OSORIO 2012; SELVAKUJMAR et al ., 2013).

Embora os 3 isolados tenham produzidos ácidos similares, a acidificação de L53 e L317 foi menor do que observado com a L340 em NBRIP, associando com as observações nos ensaios com CLAE, provavelmente essa diferença se deu pela quantidade de ácidos produzidas, pois há indícios de que L340 produz uma quantidade grande de ácido cítrico, justificando sua maior capacidade de acidificação. Já na produção de ácidos em Aleksandrov, foi observado o mesmo tipo de ácido e em menores quantidades para os três isolados, o que pode estar relacionado a baixa acidificação e proximidade de pH entre elas.

Os achados deste trabalho são fundamentais para os próximos estudos de desenvolvimento com esses isolados, já que são três apresentaram capacidade de solubilização de P e K, visando explorar seus mecanismos de ação, e novos ensaios para o desenvolvimento de um bioinsumo com esses microrganismos serão conduzidos

6 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou o grande potencial da bioprospecção de bactérias com capacidade de promover o crescimento vegetal, identificando diversas linhagens com potencial para solubilização de fósforo (P) e potássio (K), incluindo as linhagens L55, L57, L317 e L340, que se destacaram tanto pelo maior espectro de elementos solubilizados quanto pela produção de ácidos orgânicos, como ácido cítrico, ácido propiônico e ácido málico, diretamente relacionados à solubilização de nutrientes no solo. O isolado L340, em particular, mostrou maior capacidade de acidificação, especialmente no meio NBRIP, o que pode estar associado à sua maior produção de ácidos orgânicos. Além disso, foram encontradas linhagens com menor espectro de solubilização e outras que requerem identificação molecular. O estudo reforça que esses resultados, aliados a estudos fermentativos e validações em campo, podem abrir novas possibilidades para o desenvolvimento de biofertilizantes, representando uma alternativa sustentável à utilização de fertilizantes químicos, com o potencial de melhorar a nutrição vegetal e promover práticas agrícolas mais ecológicas.

REFERÊNCIAS

- AZIZBEKYAN, R. R. Biological preparations for the protection of 897 agricultural plants. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 55, n. 8, p. 816-823, 2019.
- FAO. How to feed the world in 2050. High level expert forum. Convened at FAO Headquarters in Rome on 12-13 October, 2009. CHANDINI; KUMAR, Randeep; KUMAR, Ravendra; PRAKASH, Om. The impact of chemical fertilizers on our environment and ecosystem. In: **Research Trends in Environmental Sciences**. 2. ed. [s.l.: s.n.]. p. 69–86.
- SECRETARIA ESPECIAL DE ASSUNTOS ESTRATÉGICOS. Plano Nacional de Fertilizantes 2050: Uma estratégia para o fertilizantes no Brasil. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <https://static.poder360.com.br/2022/03/plano-nacional-de-fertilizantes-brasil-2050.pdf>.
- GHOSH, Swapan Kr; BERA, Tanmay; CHAKRABARTY, Ananda M. Microbial siderophore – A boon to agricultural sciences. **Biological Control**, [S. l.], v. 144, n. August 2019, p. 104214, 2020. ISSN: 10499644.
- HU, Xiufang; CHEN, Jishuang; GUO, Jiangfeng. Two Phosphate- and Potassium-solubilizing Bacteria Isolated from Tianmu Mountain, Zhejiang, China. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], v. 22, n. 9, p. 983–990, 2006. ISSN: 0959-3993. DOI: 10.1007/s11274-006-9144-2.
- HUNTER, Mitchell C.; SMITH, Richard G.; SCHIPANSKI, Meagan E.; ATWOOD, Lesley W.; MORTENSEN, David A. Agriculture in 2050: Recalibrating targets for sustainable intensification. **BioScience**, [S. l.], v. 67, n. 4, 2017.
- MAHANTY, Trishna; BHATTACHARJEE, Surajit; GOSWAMI, Madhuranthi; BHATTACHARYYA, Purnita; DAS, Bannhi; GHOSH, Abhrajyoti; TRIBEDI, Prosun. Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. **Environmental Science and Pollution Research**, [S. l.], v. 24, n. 4, 2017.
- PATHANIA, Priyanka; RAJTA, Ankita; SINGH, Poonam C.; BHATIA, Ranjana. Role of plant growth-promoting bacteria in sustainable agriculture. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [S. l.], v. 30, p. 11, 2020.
- SINGH, Devendra; PRASANNA, Radha; SHARMA, Vikas; RAJAWAT, Mahendra Vikram Singh; NISHANTH, Sekar; SAXENA, Anil Kumar. Prospecting plant–microbe interactions for enhancing nutrient availability and grain biofortification. In: **Wheat and Barley Grain Biofortification**. [s.l.] : Elsevier, 2020. p. 203–228. ISBN: 9780128184448.
- AHMAD, M.; ZHAO, Y.; et al. Plant-microbe interactions: biofertilizers as a sustainable alternative. *Sustainable Agriculture Reviews*, v. 15, p. 55-78, 2021. Ray, S., & Patel, H. (2021). **Pseudomonas** (pp. 93–98). https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1724-3_12

SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATOS POR BACTÉRIAS E SUA CONTRIBUIÇÃO NO CRESCIMENTO DE LEGUMINOSAS E GRAMÍNEAS LAVRAS-MG 2012. . [s.l: s.n.]. BEHERA, B. C.; SINGH, S. K.; et al. Phosphate solubilization by bacteria: an eco-friendly approach to sustainable agriculture. **Ecology and Agriculture**, v. 9, p. 34-48, 2017.

Como a rizobactéria *Bacillus aryabhatai* pode melhorar a disponibilidade de fósforo em sistemas de cultivo consorciado. Disponível em: <<https://blog.verde.ag/pt/nutricao-de-plantas/como-a-rizobacteria-bacillus-aryabhatai-pode-melhorar-a-disponibilidade-de-fosforo-em-sistemas-de-cultivo-consorciado/>>. Acesso em: 19 set.2024.

FLORENCIO, C. et al. **AVANÇOS NA PRODUÇÃO E FORMULAÇÃO DEINOCULANTES MICROBIANOS VISANDO UMA AGRICULTURA MAISSUSTENTÁVEL.** Química Nova, 2022. GUARESCHI, R. F.; ALMEIDA, A. C.; ZUCARELI, C.; et al. **Fertilidade do solo e a qualidade nutricional das culturas: um estudo aplicado.** Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 43, p. 1-10, 2019.

IQBAL, Sajid et al. **Genome mining, antimicrobial and plant growth-promoting potentials of halotolerant *Bacillus paralicheniformis* ES-1 isolated from salt mine.** Molecular Genetics and Genomics, v. 298, n. 1, p. 79-93, 2023.

ISHERWOOD, K. F. **Fertilizer use and the environment: balancing productivity and sustainability.** Journal of Soil and Water Conservation, v. 65, p. 65-72, 2010.

KLAIC, Rodrigo et al. Solubilization of phosphate rock by organic acids. 2017. MACHADO DURÃES, F. O. **Solubilização de potássio presente em minerais por microrganismos e efeitos no desenvolvimento de culturas agrícolas.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/225889/1/Doc264-Solubilizacao-de-potassio.pdf>>.

MEENA, Vijay Singh et al. **Can *Bacillus* species enhance nutrient availability in agricultural soils?. *Bacilli and agrobiotechnology*, p. 367-395, 2016.** PAN, Lin; CAI, Baiyan. **Phosphate-solubilizing bacteria: advances in their physiology, molecular mechanisms and microbial community effects.** Microorganisms, v. 11, n.12, p. 2904, 2023.

PATHANIA, P.; KUMAR, P.; et al. National fertilizer strategy and the role of biofertilizers. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, v. 183, p. 145-160, 2020. RIGOL L-3000. Análise de produção de ácidos orgânicos realizada com HPLC equipado com coluna de troca iônica Aminex HPX-87H (9 µm, 300 mm x 7,8 mm, Bio-Rad).