

AVALIAÇÃO DA BIOSSOLUBILIZAÇÃO DE FÓSFORO PROVENIENTE DE CONCENTRADO DE ROCHA FOSFÁTICA POR FERMENTAÇÃO SÓLIDA E LÍQUIDA UTILIZANDO *Trichoderma reesei*

B.C.C. GOMES¹, P.P. PERAL FILHO¹, T.S. CARMO¹, M.M. RESENDE¹, V.L. CARDOSO¹,
E. J. RIBEIRO¹

¹ Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Engenharia Química
E-mail para contato: taciasoaresdocarmo@gmail.com

RESUMO – As plantas necessitam de minerais para que possam exercer suas funções metabólicas corretamente, assim como todos os seres vivos. Com a agricultura, tais minerais vão se esgotando do solo e precisam ser repostos por via de fertilizantes industriais, que poluem as fontes hídricas e diminuem a qualidade do solo. Um dos minerais mais importantes para o desenvolvimento das plantas é o fósforo, que tem uma disponibilidade muito baixa devido à sua insolubilidade. Há uma demanda de novos métodos para a disponibilização de minerais no solo que não agredam o meio ambiente e sejam renováveis. Na natureza existem micro-organismos que utilizam em seu metabolismo o fósforo tornando-o solúvel e disponível para os vegetais. Esse método natural não agride o meio ambiente e os estudos vêm mostrando sua eficácia e viabilidade. Este trabalho propõe métodos para a substituição de fertilizantes industriais, a partir de fermentação sólida e líquida utilizando o fungo *Trichoderma reesei*, os quais foram obtidos 11,95%, e 6,81% de solubilização para a fermentação em estado sólida e líquida respectivamente.

1. INTRODUÇÃO

Para o crescimento e reprodução, os vegetais necessitam de elementos químicos para o desenvolvimento e na ausência dos mesmos, sintomas de deficiência nutricional são observados (VAN DER PLOEG et al. 1999).

Os três principais nutrientes que beneficiam o crescimento e o rendimento agrônomo das plantas são o nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K), usualmente denominados macronutrientes primários.

Em países em desenvolvimento como o Brasil, a nutrição de plantas tem papel chave no desenvolvimento da agricultura. Uma das principais limitações à agricultura, em mais da metade das terras aráveis dos trópicos, reside na baixa fertilidade dos solos, que são, em sua maioria, ácidos e com deficiências generalizadas de nutrientes, principalmente fósforo (GOEDERT, 1983).

Em pesquisas sobre nutrição de plantas destaca-se o estudo do fósforo (P), que é um nutriente de grande importância nos solos tropicais, já que leva a grandes limitações

nos rendimentos das culturas. O fósforo ainda é apontado como o macronutriente mais limitante nos solos brasileiros (RAIJ, 1991).

O fósforo é considerado um macronutriente mineral essencial ao desenvolvimento e crescimento das plantas (PLAXTON; LAMBERS, 2016). O fósforo solúvel possui uma alta reatividade com outros metais presentes no solo, levando à formação de complexos de alta insolubilidade conduzindo à precipitação de fósforo disponível (GYANESHWAR et al. 2002)

Como esse mineral é muito importante para as plantas e devido ao fato de ter uma solubilidade muito baixa, a produção de fertilizantes industriais se torna muito caro no Brasil, pois além de todo o processo de produção é preciso fazer um tratamento com os resíduos que são gerados evitando que eles sejam descartados nas vias pluviais. O alto gasto e a complexidade desse processo ocorrem para que seja aproveitado o máximo possível da matéria prima retirada da natureza, por isso já estão em estudos novas indústrias que trazem uma produção mais econômica e saudável para ajudar a natureza absorver esse mineral tão importante (ALVES, 2010).

Uma busca por uma forma mais saudável de absorver P foi com o uso dos biofertilizantes que são produtos que contém princípio ativo ou agente orgânico, isento de substâncias agrotóxicas os quais ajudam a solubilizar o mineral. Dessa forma substituir os fertilizantes químicos, diminuindo os impactos causados no solo e no meio ambiente em geral, além de ajudar as plantas a absorver os minerais que são tão importantes para suas vidas (VESSEY, 2003).

Diante do exposto, este trabalho tem como objetivo comparar a solubilização de fósforo a partir da fermentação sólida e líquida, utilizando *Trichoderma reesei*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Material

Rocha Fosfática: utilizou-se rocha fosfática cedida pelo Complexo de Mineração de Tapira (Vale/Fosfertil), localizado na região do Alto Paranaíba, situado em Araxá, distante 340 km a oeste de Belo Horizonte, Minas Gerais, com teor de 35,7% de P_2O_5 . Utilizou-se em todos os experimentos um meio com concentração de 5 g/L de rocha fosfática o que forneceu 779,24 mg/L de fósforo.

Microrganismos de trabalho: Foi empregada uma cultura de *Trichoderma reesei*.

2.2 – Métodos

Isolamento e Cultivo: Foram coletadas amostras de fungos no cerrado. O fungo, inicialmente, foi isolado das amostras coletadas no cerrado para obtenção de culturas puras. Realizou-se o repique para a manutenção e manipulação dos isolados fúngicos. Para o isolamento e o cultivo utilizaram-se placas de Petri com meio sintético seletivo sólido (PIKOVSKAYA, 1948), as amostras foram enviadas para identificação sendo identificadas como *Trichoderma reesei*.

Ensaio: Para realização dos ensaio preparou-se uma solução de meio líquido SAMPAIO (2003), mais rocha fosfática 5g/L. Nas fermentações líquidas, porções de 100 mL da solução foram distribuídas em erlenmeyers de 500 mL. Os recipientes tampados com rolhas de algodão foram esterilizados. Após resfriamento a temperatura ambiente, foram inoculadas cerca de 10^6 esporos do microrganismo (*Trichoderma reesei*) nos erlenmeyers sob temperatura ambiente e agitação de 100 RPM. Nas fermentações sólidas 6g de bagaço de cana explodido a alta severidade, previamente lavado, seco e esterilizado, era umidificado com meio líquido contendo rocha fosfática 5g/L (45% de umidade), e inoculados cerca de 10^6 de esporos do microrganismo (*Trichoderma reesei*).

Determinação do fósforo solúvel: O fósforo solúvel foi quantificado nos extratos líquidos após os ensaios. A determinação do fósforo solúvel em solução foi realizada de acordo com o procedimento descrito em APHA – AWWA – WEF. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th ed. Washington, D. C.: American Public Health Association, 1998. – part 4000 Inorganic nonmetallic constituents, 4500-P Phosphorus.

Concentração de ácidos orgânicos: foram analisados por HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Shimadzu brand LC-20A Prominence. Coluna SUPELCOGEL C-610H, na qual os components são separados e detectados por lâmpada UV a 210 nm. Ácido fosfórico (0,1%) foi usado como fase móvel, com taxa de vazão de 0,5 mL/min, temperature do forno a 32°C e o volume injetado era de 20 µL.

pH: foi medido por pHmetro Gehaka

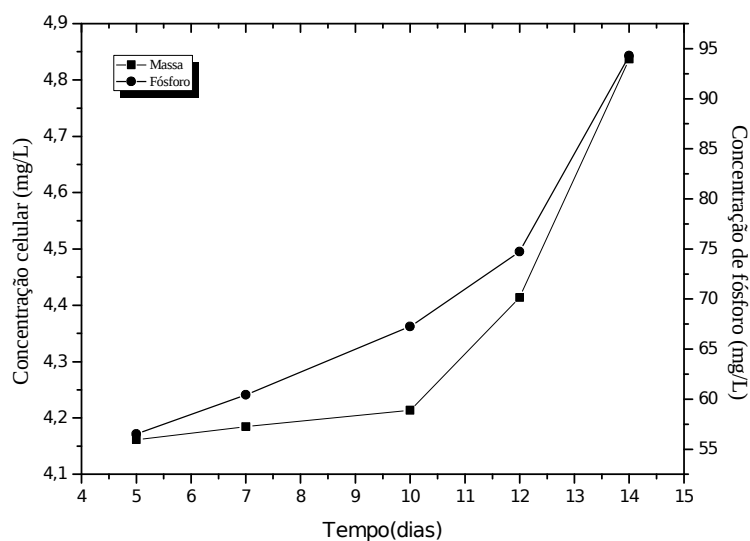
Concentração celular: determinado por separação em centrífuga a 8000rpm à 20 minutos, depois as células foram resuspendidas com água destilada. A quantificação foi feita pela secagem da massa até peso constante.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O pH na fermentação sólida ficou na faixa de 4; enquanto na fermentação líquida a variação foi de 4,2 a 4,9.

As Figuras 1 e 3 mostram a concentração celular e a concentração de fósforo e se verifica que há um crescimento ao longo do experimento para essas duas variáveis, tanto para a fermentação em estado líquido, quanto para a fermentação em estado sólido.

Figura 1: Concentração celular e concentração de fósforo



As Figuras 2 e 4 mostram a concentração de ácidos produzidos ao longo dos testes. Observa-se que para a fermentação sólida ocorreu um aumento na quantidade de ácidos e em seguida, os valores baixaram para próximo dos valores iniciais, justificando assim a pequena variação do pH. Já para a fermentação em estado líquido, nota-se um decréscimo maior da quantidade dos ácidos, dados estes que corroboram para a maior variação do pH.

Figura 2: Concentração de ácidos cítrico e acético (mol/mL) pelo tempo em fermentação sólida

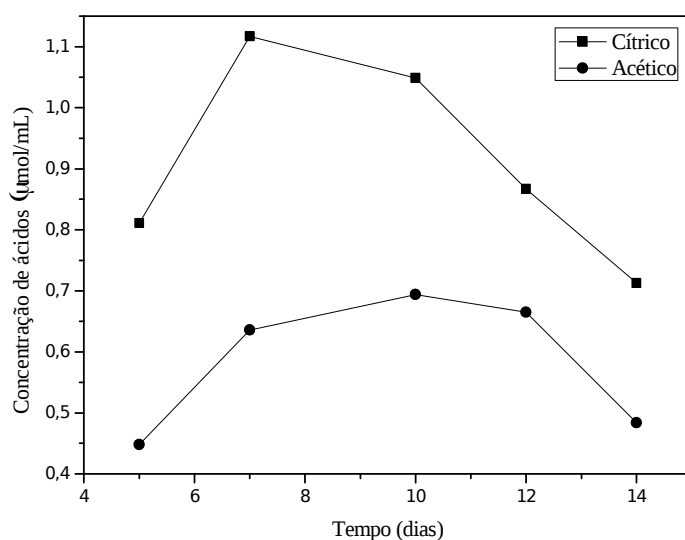
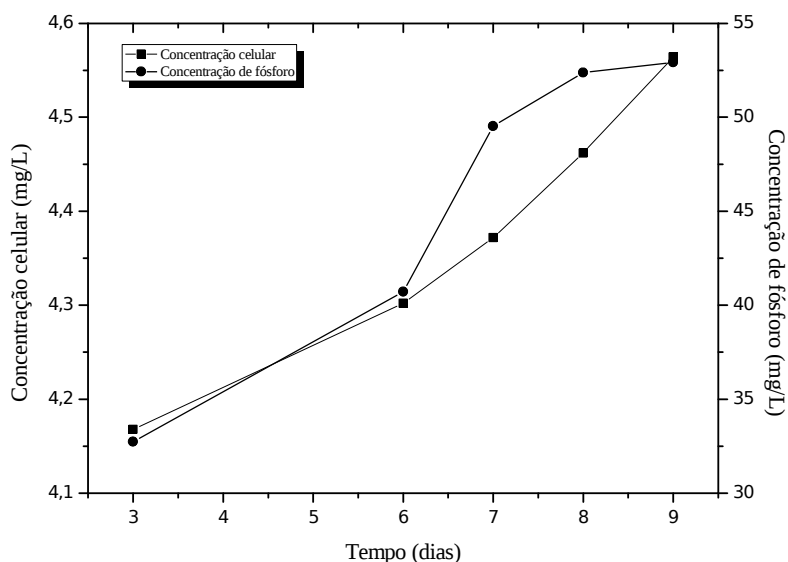


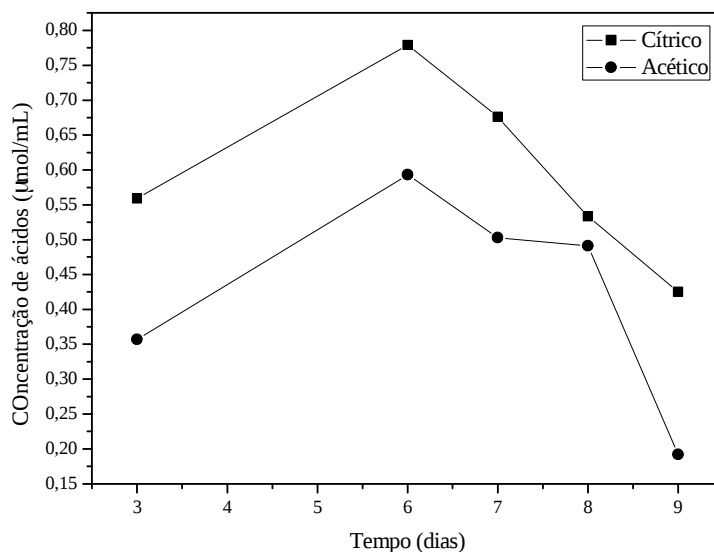
Figura 3: Concentração celular e concentração de fósforo (mg/L) pelo tempo na fermentação



Estudos mostram que a solubilização dos fosfatos presente no solo, em muitos casos ocorre devido à excreção de ácidos orgânicos. Os ácidos orgânicos podem contribuir para a solubilização de fosfato devido a diminuição do pH ou pela complexação dos cátions que estão ligados ao P. O mecanismo de complexação de cátions pode ser importante na solubilização de P, nos casos em que a estrutura do ácido orgânico é complexa (Whitelaw et al.,1999).

Os valores encontrados neste trabalho utilizando a fermentação sólida se mostraram superiores ao de Cabral e colaboradores (2015), utilizando um isolado fungico, no qual obtiveram 10,97% de biossolubilização do fósforo presente no concentrado de rocha fosfática.

Figura 4: Concentração de ácidos cítrico e acético ($\mu\text{mol/mL}$) pelo tempo em fermentação líquida



4. CONCLUSÕES

O fungo *Trichoderma reesei*, mostrou ser capaz de solubilizar o fósforo, sendo a fermentação sólida mais eficiente 11,95% em comparação com a fermentação líquida 6,81% de solubilização de fósforo.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem as instituições FAPEMIG, CNPq, CAPES e UFU pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho.

6. REFERÊNCIAS

ALVES, L.; OLIVEIRA, V.L.; SILVA FILHO, G.N. Utilization of rocks and ectomycorrhizal fungi to promote growth of eucalipto. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.41, p. 676-684, 2010.

CABRAL, B.V.; CARMO, T.S.; FALLEIROS, L.S.S.; CARDOSO, S.L.; RESENDE, M.M.; RIBEIRO, E.J. Influência da concentração de rocha fosfática na biossolubilização de fósforo em meio ácido produzido em reator air-lift. In: XX Simpósio Nacional de Bioprocessos - XI Simpósio de Hidrólise Enzimática de Biomassa - SINAFERM, 2015, Fortaleza. *Anais do XX Simpósio Nacional de Bioprocessos - SINAFERM*, 2015.

GOEDERT, W.J. Management of the Cerrado soils of Brazil. *Journal of Soil Science*, v.34, p.405-428, 1983.

GYANESHWAR, P.; KUMAR, G.N.; PAREKH, L.J.; POOLE, P.S. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant and Soil*, v.245, n.1, p. 83-93, 2002.

PIKOVSKAYA RI. Mobilization of phosphorus in soil connection with the vital activity of some microbial species. *Microbiologiya* 17 : 362–370, 1948.

PLAXTON, W.C.; LAMBERS, H. Phosphorus Metabolism in Plants. Wiley Blackwell, Oxford, UK (2015). 449pp., EUR 202.50, GBP 150.00, ISBN: 978-1-118-95885-8

RAIJ, B. Fertilidade do solo e adubação. São Paulo, Ceres, p. 343, 1991.

VAN, D. P. R., BOHM, W., KIRKHAM, M. On the Origin of the Theory of Mineral Nutrition of Plants and the Law of the Minimum. *Soil Science Society of America Journal* 63(5). 1055-1062, 1999.

VESSEY, J.K. Plant growth promotion rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, v.255, p. 571-586, 2003.

WHITELAW, M.A.;HARDEN, T.J.; HELYAR, K.R. Phospahte solubilisation in solution culture by the soil fungus *Penicillim radicum*. *Soil Biology & Biochemistry*. V.31. p.655-665. 1999