

SAMANTHA CAIXETA DE OLIVEIRA

**FONTES DE CARBONO E MINERAIS NA SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO
NATURAL NÃO REATIVO POR *Aspergillus niger***

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Microbiologia Agrícola, para
obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2011

RESUMO

OLIVEIRA, Samantha Caixeta de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2011. **Fontes de carbono e minerais na solubilização de fosfato natural não reativo por *Aspergillus niger***. Orientador: Maurício Dutra Costa. Co-orientadores: Ivo Ribeiro da Silva e José Ivo Ribeiro Júnior.

A baixa reatividade dos fosfatos naturais (FNs) brasileiros é o maior obstáculo à aplicação direta desses minérios ao solo, pois frequentemente são incapazes de disponibilizar quantidades suficientes de fósforo (P) para as plantas. A utilização de fungos solubilizadores de fosfatos tem sido vista como biotecnologia sustentável e de baixo custo, capaz de incrementar a eficiência dos FNs, possibilitando o aproveitamento direto dessas fontes de P pelos agricultores. O objetivo deste trabalho foi selecionar isolado fúngico capaz de solubilizar FNs não reativos e estudar a influência das condições de cultivo sobre o processo de solubilização em meio líquido e em sistema de fermentação em estado sólido (FES) tendo bagaço de cana-de-açúcar como substrato. Dos 13 isolados fúngicos avaliados quanto ao potencial de solubilização dos fosfatos de Araxá, de Catalão e de Patos de Minas em meio líquido, *Aspergillus niger* FS1 apresentou o melhor desempenho, solubilizando aproximadamente 33 % do FN de Araxá, 25 % do FN de Catalão e 38 % do FN de Patos de Minas após sete dias de incubação. Dessa forma, o isolado *A. niger* FS1 e o FN de Patos de Minas foram selecionados para os demais experimentos. Avaliou-se a influência de duas fontes de carbono, glicose e sacarose, e de duas fontes nitrogenadas, sulfato de amônio e nitrato de sódio, sobre a solubilização do FN em sistema de FES. Os maiores valores de P

solúvel foram obtidos na presença de glicose ou de sacarose combinada com a ausência de fonte de nitrogênio. A adição de glicose ou de sacarose ao sistema de FES, na ausência de fonte nitrogenada propiciou, em média, 85 % de solubilização do FN de Patos de Minas por *A. niger* FS1. Constatou-se que o isolado FS1 foi capaz de gerar íons SO_4^{2-} a partir da oxidação de enxofre elementar (S°). O meio de cultura suplementado com S° a 1 % (m/v) e inoculado com o fungo apresentou concentração de 294 mg L^{-1} de S-SO_4^{2-} . Avaliou-se a influência da sacarose, do etanol e do S° sobre a solubilização do FN em sistema de FES. A solubilização foi influenciada somente pelas concentrações do açúcar. O P solúvel aumentou em função do aumento da concentração de sacarose até $7,23 \text{ g L}^{-1}$, obtendo-se a estimativa de 95 % de solubilização do FN ao final de um período de 15 dias de incubação. A eficiência de solubilização de P por grama de biomassa (EPB) aumentou em função da diminuição da dose de nutrientes minerais no meio Czapek. Após sete dias de incubação, a EPB obtida no meio sem minerais foi, aproximadamente, cinco vezes superior à EPB alcançada no meio com a concentração original de minerais do meio Czapek. A resposta fúngica ao estresse nutricional foi também estudada pela transferência de determinada biomassa para meio com minerais (meio Czapek original) e para meio sem minerais. A biomassa produzida na ausência de minerais foi inferior à produzida em meio Czapek original. No entanto, a EPB obtida na primeira condição foi superior. Assim, a maior EPB observada no meio sem minerais compensou a menor biomassa obtida nessa condição. A partir do segundo dia após a transferência da biomassa, o P solúvel estimado foi o mesmo nos dois meios e, ao final do período de cinco dias de incubação, estima-se que tenha ocorrido aproximadamente 76 % de solubilização do FN.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Samantha Caixeta de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2011. **Carbon sources and minerals in solubilization of non-reactive rock phosphate by *Aspergillus niger***. Advisor: Maurício Dutra Costa. Co-advisors: Ivo Ribeiro da Silva and José Ivo Ribeiro Júnior.

The low reactivity of Brazilian rock phosphates (RPs) is the most significant obstacle for the direct application of these minerals in the soil since they are frequently incapable of releasing sufficient phosphorus (P) to the plants. The use of phosphate-solubilizing fungi has been considered as a sustainable, low-cost technology, capable of increasing the efficiency of RPs and allowing their direct use by farmers. The objective of this work was to select fungal isolate capable of solubilizing non-reactive RPs and to study the influence of cultivation conditions on phosphate solubilization in liquid medium and in a solid state fermentation (SSF) system with sugarcane bagasse as substrate. *Aspergillus niger* FS1 presented the highest ability to solubilize Araxá, Catalão, and Patos de Minas RPs, solubilizing 33 %, 25 %, and 38 %, respectively, after 7 days of incubation in liquid medium. Thus, *A niger* FS1 and Patos de Minas RP were selected for the next experiments. The influence of two carbon sources, glucose and sucrose, and of two nitrogen sources, ammonium sulfate and sodium nitrate, on Patos de Minas solubilization in a SSF system was also tested. The highest values for soluble P were obtained in the presence of glucose or sucrose in the absence of the nitrogen sources tested. The addition of either glucose or sucrose to the SSF system, in the

absence of N sources, led to an average solubilization of Patos de Minas RP of 85 %. The isolate FS1 was also shown to oxidize elemental sulfur (S°) in the culture medium at 1% (w/v) resulting in a $S-SO_4^{2-}$ concentration of 294 mg L^{-1} . The influence of sucrose, ethanol, and S° on RP solubilization was subsequently tested. RP solubilization was influenced only by the sucrose concentrations. Soluble P increased as the sucrose concentrations increased up to 7.3 g L^{-1} leading to an estimate of 95 % solubilization after 15 days of incubation. The solubilization efficiency per gram of biomass (EPB) increased as the mineral nutrient concentrations were decreased in the Czapeck culture medium. After seven days of incubation, EPB obtained in the medium without minerals was approximately five times higher than that obtained with the original concentration of mineral nutrients in the Czapeck medium. The fungal response to the nutritional stress was also studied by transferring the fungal biomass to a new medium containing minerals (original Czapeck) and to another without minerals. The biomass produced in the absence of minerals was lower than that produced in the original Czapeck. However, the EPB obtained under the first condition was higher than in the second. Thus, the higher EPB observed in the medium without minerals compensated the lower biomass obtained. From the 2nd day after biomass transfer, the estimated soluble P was the same in both media and, at the end of five days of incubation, the estimated solubilized P corresponded to 76 %.