

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE AGRONOMIA**

CLARA BEATRIZ ATAÍDE

**SOLUBILIZAÇÃO DE FÓSFORO POR ACTINOBACTÉRIAS DO SEMIÁRIDO  
BRASILEIRO EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA E PÓ DE ROCHA**

Rio Largo - AL

2025

CLARA BEATRIZ ATAÍDE

**SOLUBILIZAÇÃO DE FÓSFORO POR ACTINOBACTÉRIAS DO SEMIÁRIDO  
BRASILEIRO EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA E PÓ DE ROCHA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Agronomia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr.<sup>a</sup> Tânia Marta Carvalho dos Santos.

Rio Largo - AL

2025

**Catálogo na Fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Campus de Engenharias e Ciências Agrárias**  
Bibliotecário Responsável: Erisson Rodrigues de Santana - CRB4 - 1512

A862s Ataíde, Clara Beatriz.

Solubilização de fósforo por actinobactérias do semiárido brasileiro em diferentes meios de cultura e pó de rocha. / Clara Beatriz Ataíde. – 2025.

28 f.: il.

Orientador(a): Tânia Marta Carvalho dos Santos.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) – Graduação em Agronomia, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2025.

Inclui bibliografia

1. Biodisponibilidade. 2. Ácidos orgânicos. 3. Microbioma do solo. 4. Inoculantes microbianos.

I. Título.

CDU: 631.4


# FOLHA DE APROVAÇÃO

**CLARA BEATRIZ ATAÍDE**

## SOLUBILIZAÇÃO DE FÓSFORO POR ACTINOBACTÉRIAS DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA E PÓ DE ROCHA


Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Coordenação do Curso de  
Graduação em Agronomia, do Campus de  
Engenharia e Ciências Agrárias da  
Universidade Federal de Alagoas –  
CECA/UFAL e aprovado em 17 de julho de  
2025

**Banca Examinadora:**

Documento assinado digitalmente  
 **TANIA MARTA CARVALHO DOS SANTOS**  
Data: 17/07/2025 12:14:01-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>


---

Orientadora  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Tania Marta Carvalho dos Santos

Documento assinado digitalmente  
 **JOAO MANOEL DA SILVA**  
Data: 17/07/2025 12:35:38-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>


---

1º Examinador  
Prof Dr João Manoel da Silva

Documento assinado digitalmente  
 **YAMINA COENTRO MONTALDO**  
Data: 17/07/2025 12:27:10-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

---

2º Examinador  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Yamina Coentro Montaldo

Documento assinado digitalmente  
 **PAULA CIBELLY VILELA DA SILVA**  
Data: 17/07/2025 12:24:43-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

---

3º Examinador  
MsC Paula Cibelly Vilela da Silva

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por sua infinita bondade. Por ter colocado pessoas maravilhosas em meu caminho, por iluminar minha vida, e por toda sabedoria.

Agradeço minha mãe, Jeniffer Ellen Ataíde que com muito esforço e dedicação, sempre me incentivou a ir atrás dos meus sonhos. Por não me deixar desistir quando tudo estava difícil em nossas vidas. E por último e mais importante, todo amor, carinho, ensinamentos e dedicação. Gratidão por ter formado a mulher que sou hoje.

A minha irmã Renata Domicia Ataíde, por todo companheirismo, apoio emocional, amor, cuidado, paciência, e por sempre me incentivar e acreditar em meu potencial. Obrigada por ter gerado minha sobrinha Maria Alice, que iluminou minha vida, e preencheu com seu doce sorriso, e amor todo o meu coração.

Ao meu noivo, Raí Duarte Costa, por ser tão paciente e amoroso. Partilhar a vida e minha trajetória acadêmica com você é incrível. Gratidão por sempre me incentivar a buscar o melhor de mim, e estar ao meu lado, crescendo junto comigo.

Aos meus professores, Tania Marta Carvalho dos Santos, Yamina Coentro Montaldo e João Manoel da Silva, por serem professores, amigo e abrigo. Por todos os ensinamentos, dedicação e paciência. Por tirar o melhor de mim e acreditar que eu sempre seria capaz. Vocês foram essenciais para meu crescimento pessoal e acadêmico. Palavras não são capazes de expressar a gratidão que tenho em meu coração por tudo o que vocês fazem por mim. Gratidão a Deus pela vida de cada um de vocês.

Aos meus padrinhos, Luiz Carlos e Katia Simone, por terem ajudado minha mãe em minha criação e serem meus pais do coração. A vocês minha gratidão, por tudo que fizeram e fazem por mim.

Aos meus amigos de faculdade, que foram e ainda são importantes em minha vida. Gratidão por me ajudarem a levar a vida com leveza e alegria. A caminhada foi mais fácil com cada um de vocês ao meu lado.

A todos vocês, minha imensa e mais sincera GRATIDÃO!!!

## RESUMO

Fósforo (P) é um dos elementos essenciais ao crescimento e desenvolvimento das plantas representando cerca de 0,2% do peso seco. No entanto, o fósforo não é encontrado na natureza na forma livre, é instável como gás devido à sua reatividade e é um elemento essencial à vida. Nos solos, o fósforo está presente em diferentes formas: solúvel, mineral, adsorvido e orgânico. Micro-organismos solubilizadores de fósforo têm a capacidade de converter compostos de fósforo insolúveis em fosfatos disponíveis, que aumentam a disponibilidade de nutrientes para as plantas. Vários gêneros bacterianos são conhecidos por serem solubilizadores de fosfato com potencial para substituir fertilizantes químicos convencionais na agricultura. Dentre elas, as actinobactérias têm sido extensivamente estudadas como solubilizadoras de P ou como mineralizadoras. Ensaios qualitativos e quantitativos foram conduzidos nos meios de cultura NBRIP e VERMA, com e sem adição de pó de rocha. Os ensaios quantitativos envolveram o crescimento de actinobactérias em meio líquido, com medições de pH realizadas ao final do experimento. O meio VERMA mostrou-se o mais eficaz para a solubilização de fósforo, o isolado B10 destacou-se com o maior valor registrado entre todos os meios e isolados (933,90 µg/mL). C8 e C5 apresentaram altos níveis de solubilização (466,02 µg/mL e 392,32 µg/mL, respectivamente). O isolado J1 teve solubilização baixa (44,70 µg/mL), indicando variabilidade de desempenho dependendo do meio utilizado, enquanto a adição do remineralizador BTGRAN aos meios NBRIP e VERMA resultou em redução da solubilização. NBRIP+BTGRAM, o C5 registrou a maior solubilização (166,25 µg/mL). O isolado B10 (63,86 µg/mL), o isolado J1 teve o menor valor (31,98 µg/mL). No meio VERMA+BTGRAM, o isolado B10 manteve o maior valor (94,00 µg/mL) entre eles. No entanto, C5 e C8 apresentaram quedas drásticas para (12,97 µg/mL) e (3,67 µg/mL), respectivamente, enquanto J1 atingiu (48,91 µg/mL). Na análise qualitativa da solubilização de fosfato, observou-se que os isolados de actinobactérias não apresentaram eficiência significativa em meio sólido NBRIP ou NBRIP suplementado com o remineralizador BTGRAN. Isso sugere que a escolha do meio de cultivo e a presença de aditivos podem influenciar significativamente na eficácia das actinobactérias na solubilização de fósforo.

**Palavras-chave:** Biodisponibilidade; ácidos orgânicos; microbioma do solo; agricultura sustentável; inoculantes microbianos.

## ABSTRACT

Phosphorus (P) is one of the essential elements for the growth and development of plants, representing about 0.2% of dry weight. However, phosphorus is not found in nature in its free form, it is unstable as a gas due to its reactivity and is an essential element for life. In soils, phosphorus is present in different forms: soluble, mineral, adsorbed, and organic. Phosphorus-solubilizing microorganisms have the ability to convert insoluble phosphorus compounds into available phosphates, which increase nutrient availability for plants, and several bacterial genera are known for being phosphate solubilizers with the potential to replace conventional chemical fertilizers in agriculture. Among them, actinobacteria have been extensively studied as P solubilizers or as mineralizers. Qualitative and quantitative assays were conducted in NBRIP and VERMA culture media, with and without the addition of rock dust. The quantitative assays involved the growth of actinobacteria in liquid medium, with pH measurements taken at the end of the experiment. The VERMA medium proved to be the most effective for phosphorus solubilization, with isolate B10 standing out with the highest recorded value among all media and isolates (933.90  $\mu\text{g/mL}$ ). C8 and C5 showed high solubilization levels (466.02  $\mu\text{g/mL}$  and 392.32  $\mu\text{g/mL}$ , respectively). Isolate J1 had low solubilization (44.70  $\mu\text{g/mL}$ ), indicating performance variability depending on the medium used, while the addition of the remineralizer BTGRAN to the NBRIP and VERMA media resulted in reduced solubilization. In NBRIP+BTGRAN, C5 recorded the highest solubilization (166.25  $\mu\text{g/mL}$ ). Isolate B10 (63.86  $\mu\text{g/mL}$ ), isolate J1 had the lowest value (31.98  $\mu\text{g/mL}$ ). In the VERMA+BTGRAN medium, isolate B10 maintained the highest value (94.00  $\mu\text{g/mL}$ ) among them. However, C5 and C8 showed drastic drops to (12.97  $\mu\text{g/mL}$ ) and (3.67  $\mu\text{g/mL}$ ), respectively, while J1 reached (48.91  $\mu\text{g/mL}$ ). In the qualitative analysis of phosphate solubilization, it was observed that the actinobacterial isolates did not show significant efficiency in solid NBRIP medium or NBRIP supplemented with the remineralizer BTGRAN. This suggests that the choice of culture medium and the presence of additives can significantly influence the effectiveness of actinobacteria in phosphorus solubilization.

**Keywords:** Bioavailability; organic acids; soil microbiome; sustainable agriculture; microbial inoculants

## Sumário

|   |             |
|---|-------------|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....   | <b>14</b>   |
| <b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....  | <b>16</b>   |
| <b>2.1 Fósforo</b> .....  | <b>16</b>   |
| <b>2.2 Contribuição das actinobactérias para a biossolubilização da rocha fosfática e o crescimento vegetal</b> ..... | <b>11</b>   |
| <b>3 REFERÊNCIAS</b> .....  | <b>15</b>   |
| <b>4 ARTIGO</b> .....   | <b>19</b>   |
| <b>Volume 28, Issue 6, Page 1312-1320, 2025; Article no.JABB.138002</b> .....   | <b>19</b>   |
| <b>Authors' contributions</b> .....   | <b>19</b>   |
| <b>Article Information</b> .....  | <b>19</b>   |
| <b>ABSTRACT</b> .....   | <b>1313</b> |
| <b>1. INTRODUCTION</b> .....  | <b>1313</b> |
| <b>2. MATERIALS AND METHODS</b> .....   | <b>1314</b> |
| <b>2.1 Microorganism Isolates</b> .....   | <b>1314</b> |
| <b>2.2 Phosphorus Sources</b> .....   | <b>1314</b> |
| <b>2.3 Inoculum Preparation</b> .....   | <b>1314</b> |
| <b>2.4 Phosphate Solubilization in Solid Culture Medium (Qualitative Assessment)</b> .....                            | <b>1314</b> |
| <b>2.5 Phosphate Solubilization in Liquid Medium (Quantitative Assessment)</b> .....                                  | <b>1314</b> |
| <b>2.6 pH Measurement</b> .....   | <b>1314</b> |
| <b>2.7 Statistical Analysis</b> .....   | <b>1315</b> |
| <b>3. RESULTS AND DISCUSSION</b> .....  | <b>1315</b> |
| <b>4. CONCLUSIONS</b> .....   | <b>1318</b> |
| <b>REFERENCES</b> .....   | <b>1318</b> |

---

## 1 INTRODUÇÃO

fósforo (P) é um dos elementos essenciais ao crescimento e desenvolvimento das plantas representando cerca de 0,2% do peso seco. O fósforo elementar é essencial na constituição dos componentes vitais da célula, a exemplo das membranas celulares fosfolipídicas, da ferramenta de transferência energética intracelular que é a ATP, e do DNA e RNA pela ligação de fosfodiéster entre nucleotídeos. No entanto, o fósforo não é encontrado na natureza na forma livre, é instável como gás devido à sua reatividade e é um elemento essencial à vida.

Nos solos, o fósforo está presente em diferentes formas: solúvel, mineral, adsorvido e orgânico. A fração solúvel representa uma porcentagem muito baixa do P total, mas é a única forma (íons ortofosfato livres  $PO_4^{3-}$ ) que plantas e culturas podem usar para o crescimento.

O P inorgânico está presente em solos agrícolas, principalmente como complexos minerais insolúveis, alguns dos quais surgem após a aplicação frequente de fertilizantes químicos. Essas formas insolúveis precipitadas não podem ser utilizadas pelas plantas. A matéria orgânica também é um importante reservatório de P imobilizado, representando 20 a 80% do P nos solos (Solans et al., 2019).

A alta solubilidade dos fertilizantes frequentemente leva a impactos ambientais, resultando na eutrofização de massas de água nas áreas próximas de zonas agrícolas (Klaic et al., 2018). As principais consequências da eutrofização, são alteração de sabor e odor na água e a possibilidade de inviabilização de seu uso em função da presença de cianotoxinas (Sasabuchi et al., 2023).

O uso direto de rocha fosfática moída é uma alternativa atrativa para fertilização, uma vez que a ausência de tratamento químico prévio resulta em impactos ambientais reduzidos e custos mais baixos, com a vantagem adicional de que a menor solubilidade da RP permite maior controle da liberação de fosfato (Klaic et al., 2018).

Vários micro-organismos quando associados à plantas podem promover o seu crescimento e proporcionar uma série de outros benefícios no seu desenvolvimento sendo denominados micro-organismos promotores do crescimento vegetal.

Micro-organismos solubilizadores de fósforo têm a capacidade de converter compostos de fósforo insolúveis em fosfatos disponíveis, que aumentam a disponibilidade de nutrientes para as plantas, e vários gêneros bacterianos são conhecidos por serem solubilizadores de fosfato com potencial para substituir fertilizantes químicos convencionais na agricultura comercial (Alori; Glick; Babalola, 2017; Dash; Dangar, 2017). Dentre elas, as actinobactérias têm sido extensivamente estudadas como solubilizadoras de P ou como mineralizadoras (Jog et al., 2014; Saif et al., 2014; Solans et al., 2019).

Os micro-organismos solubilizadores de fosfato possuem diversos mecanismos para aumentar a disponibilidade desse elemento no solo. Os principais papéis dos microrganismos-

---

mos na solubilização de P incluem a liberação de enzimas extracelulares (mineralização bioquímica), a liberação de P durante a degradação do substrato (mineralização biológica) e a secreção de complexos ou compostos dissolventes de minerais (sideróforos, prótons, íons hidroxila, ácidos orgânicos) (Sharma et al., 2015; Silva et al., 2023).

A capacidade de solubilização de P dos actinomicetos tem atraído interesse nos últimos anos, pois esse grupo de organismos do solo não só é capaz de sobreviver em ambientes extremos (seca, incêndio), mas também possui outros benefícios potenciais (por exemplo, produção de antibióticos e compostos semelhantes a fitohormônios) que podem beneficiar simultaneamente o crescimento das plantas (Sharma et al., 2015). Aproximadamente 20% dos actinomicetos podem solubilizar P.

Vários autores tem relatado a solubilização de fosfato por actinobactérias isolados em diferentes ambientes, como solos de mineração (Hamdali et al., 2010; Biglari; Hassan; Amini, 2016; Nafis et al., 2019; Syiemiong; Jha, 2019); solo florestal (Balakrishna, 2012), solo rizosférico (Anwar; Ali; Sajid, 2016; Vasconcellos et al., 2010) e ambientes marinhos (Dastager; Damare, 2013).

---

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Fósforo

O fósforo (P) é um dos elementos essenciais ao crescimento e desenvolvimento das plantas representando cerca de 0,2% do peso seco. O fósforo elementar é essencial na constituição dos componentes vitais da célula, a exemplo das membranas celulares fosfolipídicas, da ferramenta de transferência energética intracelular que é a ATP, e do DNA e RNA pela ligação de fosfodiéster entre nucleotídeos.

O fósforo não é encontrado na natureza na forma livre, é instável como gás devido à sua reatividade e é um elemento essencial à vida. Na atmosfera, ele é detectado somente adsorvido em partículas de matéria, com remoção rápida por processos de precipitação, de maneira que sua existência nesse meio é diminuta e não relevante enquanto via de transporte (Sasabuchi et al., 2023). A transferência física do elemento entre ecossistemas é reduzida, em contraste aos ciclos do carbono e do nitrogênio, que são auxiliados fortemente pela biota (Sasabuchi et al., 2023).

Nos solos, o fósforo está presente em diferentes formas: solúvel, mineral, adsorvido e orgânico. A fração solúvel representa uma porcentagem muito baixa do P total, mas é a única forma (íons ortofosfato livres  $\text{PO}_4^{3-}$ ) que plantas e culturas podem usar para o crescimento. O P insolúvel, que consiste em P orgânico e mineral, é, em vez disso, a forma dominante de P nos solos: a dominância de fosfatos de alumínio/ferro e formas de fosfato de cálcio limita sua solubilidade em solos ácidos e alcalinos, respectivamente. As formas de fosfato excretadas por organismos vivos são liberadas nos solos como fosfatos orgânicos (Daneshgar et al., 2018).

O P inorgânico está presente em solos agrícolas, principalmente como complexos minerais insolúveis, alguns dos quais surgem após a aplicação frequente de fertilizantes químicos. Essas formas insolúveis precipitadas não podem ser utilizadas pelas plantas. A matéria orgânica também é um importante reservatório de P imobilizado, representando 20 a 80% do P nos solos (Solans et al., 2019).

Apenas 0,1% do P total existe na forma solúvel, disponível para absorção pelas plantas. Os microrganismos do solo estão envolvidos em diversos processos que afetam a transformação do fosfato e, portanto, influenciam a disponibilidade de fosfato para as plantas (Solans et al., 2019).

O P orgânico, menos biodisponível nos solos, é identificado por grupos de orto- fosfato ligados a moléculas orgânicas, muitos oriundos da matéria orgânica, podendo ser parcialmente solubilizado por micro-organismos no decorrer do processo de mineralização (Pantano et al., 2016) Ao passo que, na forma adsorvida possui os íons de ortofosfato fixados em partículas

---

como os óxi-hidróxidos de ferro, Em relação ao fósforo mineral, a maioria está presente em rochas do tipo sedimentar(Daneshgar et al., 2018).

Os solos tropicais, geralmente apresentam baixa disponibilidade do elemento devido à alta reatividade de formas solúveis com ferro e alumínio, formando compostos de baixa solubilidade (Klaic et al., 2018) sendo necessário, portanto, a fertilização periódica com fosfato para alcançar alta produtividade das culturas.

Fertilizantes convencionais com fósforo são geralmente compostos de alta solubilidade, como mono-amônio de fosfato (MAP), mas seus processos de produção causam danos ao ambiente, pois, o tratamento químico da rocha fosfática exige altas concentrações de ácido sulfúrico e ácido fosfórico(Alori; Glick; Babalola, 2017; Klaic et al., 2018).

A alta solubilidade dos fertilizantes frequentemente leva a impactos ambientais, resultando na eutrofização de massas de água nas áreas próximas de zonas agrícolas (Klaic et al., 2018) A concentração de apenas  $0,02 \text{ mgL}^{-1}$  de fosfato em águas resulta na multiplicação de algas, que podem produzir toxinas prejudiciais à saúde animal e humana. Ao ultrapassar a concentração de  $0,1 \text{ mgL}^{-1}$ , ocorre proliferação das algas formando uma camada que além de bloquear a luz solar no corpo hídrico, aumenta a taxa de consumo do oxigênio dissolvido (Bacelo et al., 2020).

As principais consequências da eutrofização, são alteração de sabor e odor na água e a possibilidade de inviabilização de seu uso em função da presença de cianotoxinas (Sasabuchi et al., 2023) Também são observados aumento na mortalidade de peixes e moluscos cultiváveis, redução da diversidade de espécies, limitação da transparência da água, instauração de condições anaeróbicas para o corpo d'água e outros fenômenos que comprometem a qualidade dos ecossistemas e da vida aquática(Bacelo et al., 2020).

O uso direto de rocha fosfática moída é uma alternativa atrativa para fertilização, uma vez que a ausência de tratamento químico prévio resulta em impactos ambientais reduzidos e custos mais baixos, com a vantagem adicional de que a menor solubilidade da RP permite maior controle da liberação de fosfato (Klaic et al., 2018)

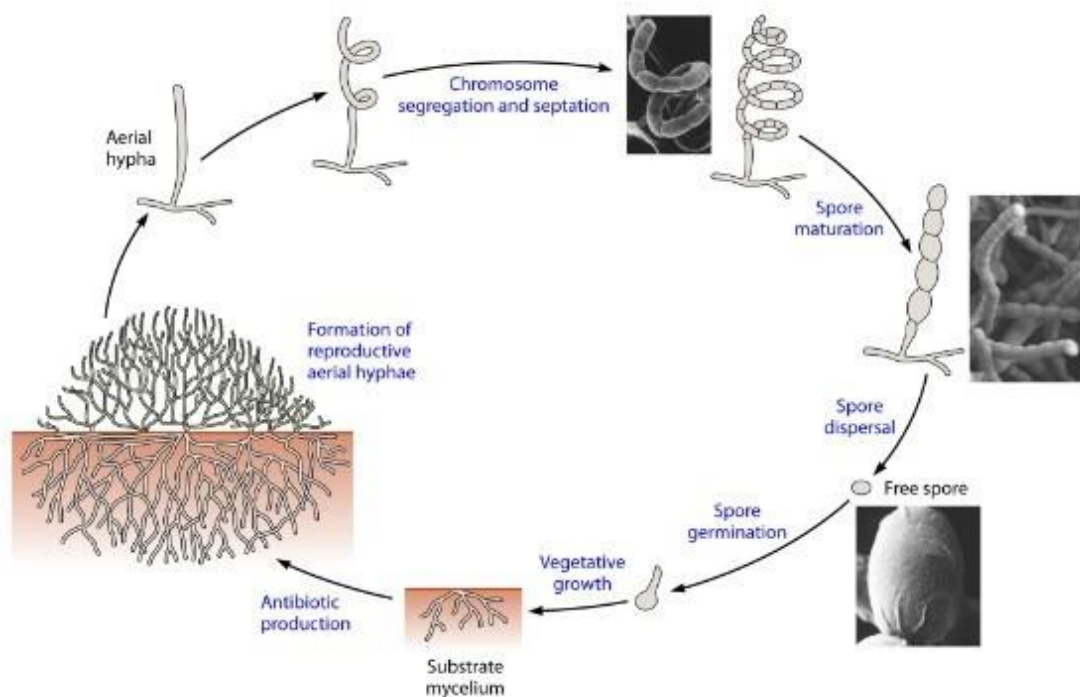
No entanto, a alta estabilidade química das rochas fosfáticas, devido à presença da fase apatita e efeitos de cristalização relacionados à apatita, significa que a solubilidade é muito menor do que o necessário em aplicações práticas A solubilidade desse material é bastante baixa, mesmo em solos ácidos, limitando seu uso direto como fertilizantes, especialmente para culturas de ciclo curto (Fayiga; Nwoke, 2016; Pavinato et al., 2017; Klaic et al., 2021).

Vários micro-organismos quando associados à plantas podem promover o seu crescimento e proporcionar uma série de outros benefícios no seu desenvolvimento sendo denominados micro-organismos promotores do crescimento vegetal.

## 2.2 Contribuição das actinobactérias para a biossolubilização da rocha fosfática e o crescimento vegetal

O termo Actinobactéria (anteriormente conhecido como Actinomycetes) é derivado do termo grego aktis ou aktine fungos mykes. Tradicionalmente, os actinomicetos eram considerados formas de transição entre fungos e bactérias. Assim como os fungos filamentosos, muitas Actinobactérias produzem um micélio, e muitos destes actinomicetos miceliais reproduzem-se por esporulação (Barka et al., 2016) (figura 1). As Actinobactérias são bactérias filamentosas Gram-positivas com alto teor de guanina mais citosina (GC) em seus genomas.

Figura 1 – Representação esquemática do ciclo de vida dos actinomicetos esporulantes



Fonte: Barka et al, 2016

Fisiologicamente e ecologicamente, a maioria das Actinobactérias são aeróbicas, mas há exceções. Além disso, eles podem ser heterotróficos ou quimioautotróficos, mas a maioria é quimioheterotrófica e capaz de usar uma ampla variedade de fontes nutricionais, incluindo vários polissacarídeos complexos (Lechevalier; Lechevalier, 1965)

A maioria das Actinobactérias são organismos saprofiticos que vivem no solo e que passam a maior parte de seus ciclos de vida como esporos semi dormentes, especialmente sob condições de limitação de nutrientes (Mayfield et al., 1972). No entanto, o filo adaptou-se a uma ampla gama de ambientes ecológicos: os actinomicetos também estão presentes no solo, na água doce e salgada e no ar.

São mais abundantes nos solos do que outros meios, especialmente em solos alcalinos e ricos em matéria orgânica, onde constituem uma parte importante da população microbiana. As actinobactérias podem ser encontradas tanto na superfície do solo como em profundidades superiores a dois m abaixo do solo (Goodfellow; Williams, 1983)

A agricultura é, de longe, a principal usuária dos depósitos de fósforo extraídos, respondendo por cerca de 80 a 90% da demanda mundial total. Diante dessa necessidade urgente e dos desafios do desenvolvimento de uma agricultura sustentável, o uso direto do fosfato de rocha como fertilizante fosfático e sua solubilização por microrganismos tornaram-se um foco de interesse (Boubekri et al., 2022).

Micro-organismos solubilizadores de fósforo têm a capacidade de converter compostos de fósforo insolúveis em fosfatos disponíveis, que aumentam a disponibilidade de nutrientes para as plantas, e vários gêneros bacterianos são conhecidos por serem solubilizadores de fosfato com potencial para substituir fertilizantes químicos convencionais na agricultura comercial (Alori; Glick; Babalola, 2017; Dash; Dangar, 2017). Dentre elas, as actinobactérias têm sido extensivamente estudadas como solubilizadoras de P ou como mineralizadoras (Jog et al., 2014; Saif et al., 2014; Solans et al., 2019)

Os micro-organismos solubilizadores de fosfato possuem diversos mecanismos para aumentar a disponibilidade desse elemento no solo. Os principais papéis dos microrganismos na solubilização de P incluem a liberação de enzimas extracelulares (mineralização bioquímica), a liberação de P durante a degradação do substrato (mineralização biológica) e a secreção de complexos ou compostos dissolventes de minerais (sideróforos, prótons, íons hidroxila, ácidos orgânicos) (Sharma et al., 2015; Silva et al., 2023).

A mineralização é o processo pelo qual fosfatases, enzimas alcalinas ou ácidas, utilizam fosfato orgânico como substrato e o convertem em formas inorgânicas. A maior parte das fosfatases extracelulares do solo é derivada da população microbiana, incluindo actinobactérias. (Solans et al., 2019).

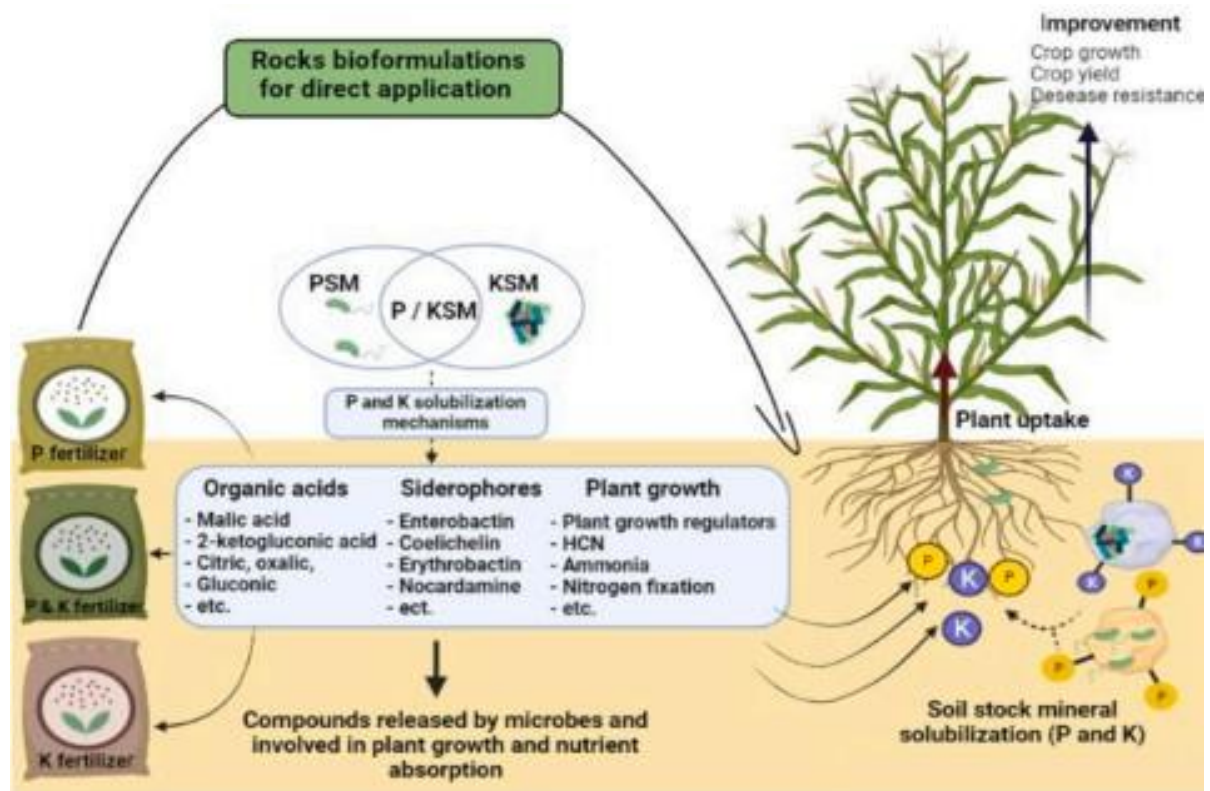
A capacidade de solubilização de P dos actinomicetos tem atraído interesse nos últimos anos, pois esse grupo de organismos do solo não só é capaz de sobreviver em ambientes extremos (seca, incêndio), mas também possui outros benefícios potenciais (por exemplo, produção de antibióticos e compostos semelhantes a fitohormônios) que podem beneficiar simultaneamente o crescimento das plantas (Sharma et al., 2015). Aproximadamente 20% dos actinomicetos podem solubilizar P.

Vários autores tem relatado a solubilização de fosfato por actinobactérias isolados em diferentes ambientes, como solos de mineração (Hamdali et al., 2010; Biglari; Hassan; Amini, 2016; Nafis et al., 2019; Syiemiong; Jha, 2019); solo florestal (Balakrishna, 2012), solo rizosférico (Anwar; Ali; Sajid, 2016; Vasconcellos et al., 2010) e ambientes marinhos (Dastager; Damare, 2013).

Actinobactérias são conhecidas por produzir piruvato,  $\alpha$ -cetogluturato, lactato, succinato, citrato, malato e oxalato em concentrações variáveis. No entanto, a relação entre a produção de ácido orgânico e a solubilização de fosfato em actinobactérias é pouco relatada (Solans et al., 2019).

A Figura 2 - Mostra alguns dos mecanismos utilizados por Actinobactéria para melhorar a aquisição de fósforo pelas plantas.

Figura 2 – Mecanismos envolvidos na solubilização de P por isolados de actinobactéria



Fonte: Boubekri et al, 2022

Como todas as bactérias solubilizadoras de fósforo, as Actinobacteria produzem ácidos orgânicos envolvidos na solubilização. O tipo de ácido produzido depende da espécie de Actinobacteria. Por exemplo, verificou-se que os ácidos láctico e 2-cetogluconico foram os ácidos predominantes encontrados em *Streptomyces* solubilizadores de fosfato (Boubekri et al., 2022) enquanto o ácido málico foi detectado como o principal ácido orgânico produzido por *S. thermolilacinus* IDWR81 (Jog et al., 2014). A *Micromonospora endolithica*, apresentam um amplo espectro de produção de ácidos orgânicos. Foi relatado que *M. endolithica* é capaz de produzir ácidos láctico, oxálico, glucônico, succínico, acético, málico e cítrico (Boubekri et al., 2022)

Além da produção de ácido, a quelatção seria um mecanismo de solubilização eficiente para algumas actinobactérias (Nandimath et al., 2018; Sharma; Dang; Choudhary; Hamdali et al., 2010). Nesse sentido, algumas Actinobactérias são relatadas como capazes de produzir hidroxamato como sideróforo principal, que quela o ferro do fosfato e libera.

íons de fosfato na solução do solo (Shanmugaiah et al., 2015). As Actinobactérias abrigam outros conjuntos de sideróforos ainda não descobertos, que ainda precisam ser explorados (Rebets et al., 2013)

### 3 REFERÊNCIAS

ALORI, E. T.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O. O. Microbial Phosphorus Solubilization and Its Potential for Use in Sustainable Agriculture. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 971 –, 6 2017. Disponível em: <https://DOI:10.3389/fmicb.2017.00971>.

ANWAR, S.; ALI, B.; SAJID, I. Screening of Rhizospheric Actinomycetes for Various In-vitro and In-vivo Plant Growth Promoting (PGP) Traits and for Agroactive Compounds. **Frontiers in microbiology**, v. 7, n. 1334, 9 2016. Disponível em: <http://DOI:10.3389/fmicb.2016.01334>.

BACELO, H. et al. Performance and prospects of different adsorbents for phosphorus uptake and recovery from water. **Chemical Engineering Journal**, n. 122566, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.122566>.

BALAKRISHNA, G. B. G. Isolation of Phosphate Solubilizing Actinomycetes from Forest Soils of Mahabubnagar District. **IOSR Journal of Pharmacy**, v. 2, n. 2, p. 271 – 275, 2012.

BARKA, E. A. et al. Correction for Barka et al. Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7441473/>. Acesso em: 10/04/2024.

BIGLARI, N.; HASSAN, H. M.; AMINI, J. The Ability of *Streptomyces* spp. Isolated from Iranian Soil to Solubilize Rock Phosphate. **Advances in Bioscience & Clinical Medicine**, v. 4, n. 3, p. 15 – 25, 2016.

BOUBEKRI, K. et al. Multifunctional role of Actinobacteria in agricultural production sustainability: A review. **Microbiological research**, v. 261, p. 127059 –, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127059>.

DANESHGAR, S. et al. The Potential Phosphorus Crisis: Resource Conservation and Possible Escape Technologies: A Review. **Resources**, v. 7, n. 2, 2018. ISSN 2079-9276. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-9276/7/2/37>.

DASH, N.; DANGAR, T. K. Perspectives of Phosphate Solubilizing Microbes for Plant Growth Promotion, Especially Rice - A Review. **International Journal of Biochemistry Research & Review**, v. 18, p. 1–6, 2017. Disponível em: <https://10.9734/IJBCRR/2017/34136>.

DASTAGER, S. G.; DAMARE, S. Marine actinobacteria showing phosphate-solubilizing efficiency in Chorao Island, Goa, India. **Current microbiology**, v. 66, p. 421–7, 1 2013. Disponível em: <http://doi:10.1007/s00284-012-0288-z>.

FAYIGA, A. O.; NWOKE, O. C. Phosphate rock: Origin, importance, environmental impacts, and future roles. **Environmental Reviews**, v. 24, p. 403–415, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1139/er-2016-0003>.

GOODFELLOW, M.; WILLIAMS, S. T. Ecology of actinomycetes. **Annual review of microbiology**, v. 37, p. 189–216, 1 1983. Disponível em: <http://10.1146/annurev.mi.37.100183.001201>.

HAMDALI, H. et al. *Streptomyces youssoufiensis* sp. nov., isolated from a Moroccan phosphate mine. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 61, p. 1104 – 1108, 6 2010. Disponível em: <https://doi:10.1099/ijs.0.023036-0>.

JOG, R. et al. Mechanism of phosphate solubilization and antifungal activity of *Streptomyces* spp. isolated from wheat roots and rhizosphere and their application in improving plant growth. **Microbiology (Reading, England)**, v. 160, p. 778 – 788, 1 2014. Disponível em: <https://10.1099/mic.0.074146-0>.

KLAIC, R. et al. Nanocomposite of starch-phosphate rock bioactivated for environmentally- friendly fertilization. **Minerals Engineering**, v. 128, p. 230 – 237, 2018. Disponível em: <10.1016/j.mineng.2018.09.002>.

KLAIC, R. et al. Synergy of *Aspergillus niger* and Components in Biofertilizer Composites Increases the Availability of Nutrients to Plants. **Current microbiology**, v. 78, p. 1529 – 1542, 3 2021. Disponível em: <https://doi:10.1007/s00284-021-02406-y>.

LECHEVALIER, H.; LECHEVALIER, M. P. Classification des actinomycètes aérobies basée sur leur morphologie et leur composition chimique. **Annales de l'Institut Pasteur**, v. 108, n. 5, 1965.

MAYFIELD, C. I. et al. Studies on the ecology of actinomycetes in soil IV. Observations on the form and growth of streptomycetes in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 4, n. 1, 1972. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(72\)90045-4](https://doi.org/10.1016/0038-0717(72)90045-4).

NAFIS, A. et al. Actinobacteria from extreme niches in morocco and their plant growth- promoting potentials. v. 11, n. 8, p. 2 – 15, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ d11080139>.

NANDIMATH, A. P. et al. Consortium inoculum of five thermo-tolerant phosphate solubilizing Actinomycetes for multipurpose biofertilizer preparation. **Iranian journal of microbiology**, v. 9, p. 295 – 304, 1 2018.

PANTANO, G. et al. Sustentabilidade no uso do fósforo: uma questão de segurança hídrica e alimentar. **Química Nova**, v. 39, n. 6, p. 732 – 740, 2016. Disponível em: <https://doi.org/ 10.5935/0100-4042.20160086>.

PAVINATO, P. S. et al. Effects of cover crops and phosphorus sources on maize yield,

phosphorus uptake, and phosphorus use efficiency. **Agronomy Journal**, v. 109, n. 3, p. 1039 – 1047, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.2134/agronj2016.06.0323>.

REBETS, Y. et al. Actinomycetes biosynthetic potential: how to bridge in silico and in vivo? **Journal of industrial microbiology & biotechnology**, v. 41, p. 387 – 402, 10 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10295-013-1352-9>.

SAIF, S. et al. Role of phosphate-solubilizing actinomycetes in plant growth promotion: Current perspective. In: KHAN M., Z. A. M. J. (ed.). **Phosphate Solubilizing Microorganisms**. Switzerland: Springer, Cham, 2014. p. 137 – 156. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-08216-5\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-319-08216-5_6).

SASABUCHI, I. T. M. et al. Sustentabilidade no uso de fósforo: uma revisão bibliográfica com foco na situação atual do estado de São Paulo, Brasil. **Química Nova**, SciELO Brasil, v. 46, n. 02, p. 185 – 198, 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170967>.

SHANMUGAIAH, V. et al. Biocontrol mechanisms of siderophores against bacterial plant pathogens. *Sustain. Approaches Contro.* In: KANNAN, K. K. B. V. R. (ed.). **Sustainable Approaches to Controlling Plant Pathogenic Bacteria**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, 2015. cap. 8, p. 168 – 189. Disponível em: <https://doi.org/10.1201/b18892>.

SHARMA, M.; DANGI, P.; CHOUDHARY, M. Actinomycetes: Source, Identification, and Their Applications. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 832, p. 3 – 801.

SHARMA, S. B. et al. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **SpringerPlus**, v. 2, p. 587 – 2 2015. Disponível em: <https://10.1186/2193-1801-2-587>.

SILVA, L. I. da et al. **Phosphorus-Solubilizing Microorganisms: A Key to Sustainable Agriculture**. 2023. 462 – p. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agriculture13020462>.

SOLANS, M. et al. Exploring the response of Actinobacteria to the presence of phosphorus salts sources: Metabolic and co-metabolic processes. **Journal of Basic Microbiology**, v. 59, p. 487 – 495, 2019. Disponível em: <http://10.1002/jobm.201800508>.

SYIEMIONG, D.; JHA, D. K. Search for plant growth promoting actinobacteria from a limestone mining spoil soil in Meghalaya. **Research Journal of Life Sciences, Bioinformatics, Pharmaceutical and Chemical**, v. 5, n. 2, p. 1024 – 1036, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.26479/2019.0502.77>.

VASCONCELLOS, R. L. F. de et al. **Isolation and screening for plant growth-promoting (PGP) actinobacteria from Araucaria angustifolia rhizosphere soil**.

Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2010. 743 – 6 p. Disponível em:  
<https://doi:10.1590/s0103-90162010000600019>.

## 4 ARTIGO



*Journal of Advances in Biology & Biotechnology*

Volume 28, Issue 6, Page 1312-1320, 2025; Article no. JABB.138002  
ISSN: 2394-1081

# Phosphorus Solubilization by Actinobacteria from Brazilian Semiarid in Different Culture Media and Rock Dust

Clara Beatriz Ataíde <sup>a</sup>, Tathiane Mendonça da Silva <sup>a</sup>,  
Maria Eduarda Lino da Costa <sup>a</sup>, Paula Cibelly Vilela da Silva  
<sup>b</sup>, João Manoel da Silva <sup>c\*</sup>,  
Valéria Dantas da Silva <sup>a</sup>, Arthur Costa Pereira Santiago de  
Almeida <sup>a++</sup>,  
Yamina Coentro Montaldo <sup>a</sup>  
and Tania Marta Carvalho dos Santos <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Agricultural Microbiology Laboratory, Universidade Federal de Alagoas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Brazil.

<sup>b</sup> Northeast Network of Biotechnology, Institute of Chemistry and Biochemistry, Universidade Federal de Alagoas, Brazil.

<sup>c</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Alagoas, Campus Santana do Ipanema, Brazil.

## Authors' contributions

This work was carried out in collaboration among all authors. All authors read and approved the final manuscript.

## Article Information

DOI: <https://doi.org/10.9734/jabb/2025/v28i62487>

**Open Peer Review History:** This journal follows the Advanced Open Peer Review policy. Identity of the Reviewers, Editor(s) and additional Reviewers, peer review comments, different versions of the manuscript, comments of the editors, etc are available here:

<https://pr.sdiarticle5.com/review-history/138002>

<sup>++</sup> MS Student, Agronomy;

\*Corresponding author: E-mail: [agrobio.jm@gmail.com](mailto:agrobio.jm@gmail.com);



Received: 15/04/2025 Accepted: 17/06/2025 Published: 19/06/2025

Original Research Article

## ABSTRACT

Phosphorus (P) is an essential mineral macronutrient for maintaining plant growth and development. Plants absorb phosphorus in the form of inorganic phosphate; however, it is one of the macronutrients available in minimal amounts in the soil and is considered a limiting element under specific conditions due to its high reactivity with metals, combined with factors such as soil pH and composition. Phosphate-solubilizing microorganisms (PSMs) play an important role in supplying phosphorus to plants, as they are capable of solubilizing insoluble phosphates—either added or already present in the soil—through processes such as acidification, chelation, and ion exchange reactions. Qualitative and quantitative assays were conducted in NBRIP and VERMA culture media with and without the addition of rock powder. The quantitative assays involved the growth of actinomycetes in liquid media, with pH measurements performed at the end of the experiment. The VERMA medium proved to be the most effective for phosphorus solubilization, whereas the addition of the remineralizer BTGRAN to the NBRIP and VERMA media often resulted in a reduction in solubilization. This suggests that the choice of growth medium and the presence of additives can significantly

*Keywords: Bioavailability; organic acids; soil microbiome; sustainable agriculture; microbial inoculants.*

## 1. INTRODUCTION

Plants require various essential chemical elements for their vital functions, classified into macro- and micronutrients. Among the macronutrients, nitrogen (N), phosphorus (P), and potassium (K) are required in large quantities for plant growth and development. However, the indiscriminate and excessive use of chemical fertilizers can compromise agricultural sustainability, affecting both soil health and environmental safety.

Phosphorus is a crucial mineral macronutrient for plants, mainly absorbed as inorganic phosphate. Nevertheless, its availability in soils is limited due to its high reactivity with metals and the formation of insoluble compounds, influenced by soil pH and composition. According to Lizcano-Toledo et al. (2021), most of the phosphorus in soils exists in forms unavailable to plants, making it a key limiting factor in plant development.

Although a portion of the phosphorus used in agriculture comes from recycled sources, such as organic waste and compost, a significant amount still relies on phosphate-based mineral fertilizers derived from non-renewable phosphate rocks (Saed et al., 2019). The low efficiency of phosphorus fertilizer use poses a major challenge to sustainable agriculture, particularly considering the depletion of phosphorus reserves

and the high cost of extraction (Carmo et al., 2019).

Phosphate-solubilizing microorganisms (PSMs) play a fundamental role in making phosphorus available to plants (Khan et al., 2007). They convert insoluble forms of phosphorus into bioavailable ones through mechanisms such as organic acid secretion, pH reduction, and enzymatic activity (Pang et al., 2024). Inoculation with PSMs has been shown to significantly increase phosphorus availability in soil and promote plant growth, especially in phosphorus-deficient conditions (Bai et al., 2024).

Moreover, co-inoculation strategies combining PSMs with other beneficial microorganisms - such as arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) - demonstrate synergistic effects in nutrient absorption and overall plant development (Minaxi et al., 2013). These microbial interactions are vital for maintaining soil fertility and promoting sustainable agricultural systems, especially in tropical and degraded soils (Hayat et al., 2010).

Cozzolino et al. (2021), investigating the effects of the combined application of phosphate-solubilizing bacteria (*Pseudomonas* spp. and *Bacillus amyloliquefaciens*), humic acids extracted from plant-based compost, and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on maize growth and soil microbial structure, observed that the combination of these bioeffectors significantly

increased plant biomass, nitrogen and phosphorus content in plant tissues, and mycorrhizal root colonization.

The application of PSMs, either alone or in microbial consortia, represents a promising approach for modern agriculture (Silva et al., 2022). It contributes to reduced dependency on chemical fertilizers and enhances the efficiency of phosphorus use, supporting both food security and environmental conservation (Alves et al., 2010). In view of the above, the objective of this study was to evaluate the potential for phosphate solubilization by actinobacteria isolated from the soil of the semiarid region of Northeastern Brazil.

## 2. MATERIALS AND METHODS

### 2.1 Microorganism Isolates

Five unidentified actinobacterial isolates obtained from the rhizosphere of *Caatinga* species were used. These isolates belong to the microbiological repository of the Laboratory of Microbiology at the Center for Engineering and Agricultural Sciences.

### 2.2 Phosphorus Sources

A rock concentrate, a residue from crushed stone production known as the BTGRAN (Biotite Granodiorite) remineralizer, was used as a phosphorus source. Its composition was as follows:  $P_2O_5$  0.25%;  $K_2O$  3.09%;  $CaO$  3.18%;  $SiO_2$  36.11%;  $Fe$  3.81% (w/w).

### 2.3 Inoculum Preparation

The bacterial isolates were cultivated in nutrient agar medium (18 g agar, 5 g peptone, 3 g beef extract, 8 g NaCl, 1 L distilled water, pH 7.2) for five days. Cultures were scraped using 10 mL of water and diluted. The cell concentration in the suspension was measured using a spectrophotometer, adjusted to  $10^8$  CFU/mL ( $OD_{550} = 0.1$ ).

### 2.4 Phosphate Solubilization in Solid Culture Medium (Qualitative Assessment)

The isolates were evaluated in solid NBRIP medium (National Botanical Research Institute's phosphate growth medium) (1% glucose, 0.5%  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ , 0.02% KCl, 0.025%  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.01%  $(NH_4)_2SO_4$ , 2.0 g agar) supplemented with the ultrafine BTGRAN remineralizer (5 g/L) as the phosphorus source. Cultures were incubated at 28°C for 21 days. On

the 15th and 21st days, the phosphate solubilization capacity was assessed through the Solubilization Index (SI), calculated as the ratio of the halo diameter to colony diameter. Solubilization was classified as follows:  $SI < 2$  = low solubilization;  $2 \leq SI \leq 3$  = moderate solubilization;  $SI > 3$  = high solubilization. The experiment followed a completely randomized design with a factorial arrangement and three replicates.

### 2.5 Phosphate Solubilization in Liquid Medium (Quantitative Assessment)

Soluble phosphorus levels were quantified using liquid media: NBRIP and Verma (Verma et al., 2001) (Sucrose 20,0 g,  $KH_2PO_4$  0,5g,  $(NH_4)NO_3$  1,0 g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0,25g,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  0,25g,  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  0,012g), with and without the addition of ground BTGRAN (PDR) remineralizer (5 g/L) as the sole phosphorus source. Test tubes containing 10 mL of NBRIP medium were inoculated in triplicate with 100  $\mu$ L of bacterial inoculum ( $10^8$  CFU/mL,  $OD_{550} = 0.1$ ). Controls consisted of tubes with 10 mL of Verma or NBRIP media without inoculum. Cultures were incubated for 15 days at 28°C with shaking at 180 rpm. After incubation, 1000  $\mu$ L from each sample was transferred to 1.5 mL microtubes and centrifuged at 10,000 rpm for 5 minutes. Then, 145  $\mu$ L of the supernatant was mixed with 570  $\mu$ L of distilled water and 285  $\mu$ L of ammonium molybdate-vanadate reagent (5% ammonium molybdate and 0.25% ammonium vanadate; 1:1 v/v).

To construct the standard curve, a stock solution of  $KH_2PO_4$  (0.0875%) corresponding to 0.1 mg P/mL was prepared, from which aliquots of 1 to 10 mL were mixed with 2.5 mL of the reagent, and the volume was adjusted to 50 mL. Ten minutes after reagent addition, absorbance readings were taken at 420 nm using a UV-1601 PC spectrophotometer (Shimadzu). The negative control consisted of non-inoculated NBRIP medium (145  $\mu$ L), 570  $\mu$ L of distilled water, and 285  $\mu$ L of reagent. The spectrophotometer was calibrated using the negative control. Experiments were carried out in triplicate, and a positive result was indicated by the formation of a yellow coloration. Absorbance values were converted into phosphorus concentrations ( $\mu$ g/mL) using the standard curve equation.

### 2.6 pH Measurement

A 10 mL aliquot of each Erlenmeyer flask medium was collected. The liquid medium was

filtered using Whatman No. 42 filter paper to separate bacterial cells. Non-inoculated control flasks were used to determine the initial pH and soluble phosphorus content immediately after autoclaving and at each sampling interval. Values obtained from non-inoculated controls were subtracted from those of the inoculated treatments.

## 2.7 Statistical Analysis

All experiments were conducted in triplicate under a completely randomized design. Assumptions for ANOVA were verified by assessing normality (Lilliefors test) and homogeneity of variances (Cochran's test). Non-homogeneous data were transformed and analyzed using analysis of variance. F-test was applied ( $P \leq 0.05$ ), and means were compared using the Scott-Knott test ( $P \leq 0.05$ ) or polynomial regression analysis.

## 3. RESULTS AND DISCUSSION

In the qualitative analysis of phosphate solubilization, it was observed that the actinobacterial isolates did not exhibit significant efficiency in solid NBRIP media or NBRIP supplemented with the BTGRAN remineralizer. None of the isolates produced clear halos around the colonies, which typically indicates the phosphate solubilization capacity of microorganisms. Therefore, under the tested conditions, the isolates were unable to solubilize phosphorus in a detectable manner in solid media.

These results support recent studies that question the reliability of the solubilization index (SI) in solid media as the sole indicator of phosphate solubilization capacity. Johari et al. (2025) emphasize that halo formation in solid media may not accurately reflect the actual ability of microorganisms to solubilize phosphorus, suggesting the need for complementary evaluations in liquid media for a more comprehensive analysis.

Moreover, factors such as the composition of the culture medium and the presence of additives can significantly influence the expression of genes related to phosphate solubilization. Zhang et al. (2025) demonstrated that the addition of certain remineralizers could negatively affect the activity of phosphate-solubilizing microorganisms, possibly due to interference with nutrient availability or the gene expression related to organic acid production.

Therefore, the absence of halo in solid NBRIP and NBRIP + BTGRAN media can be attributed to methodological limitations and the influence of environmental and nutritional factors that affect the expression of phosphate solubilization by actinobacteria.

The data obtained demonstrate significant variations in the phosphorus solubilization capacity among different actinobacterial isolates and the culture media used (Fig. 1). These differences underscore important findings regarding the effectiveness of the isolates and the influence of phosphorus sources in the culture media.

In NBRIP medium, isolate C8 showed the highest phosphate solubilization capacity (482.61  $\mu\text{g/mL}$ ), followed by C10 (326.64  $\mu\text{g/mL}$ ) and C5 (254.97  $\mu\text{g/mL}$ ). Isolate B10 demonstrated intermediate solubilization (211.33  $\mu\text{g/mL}$ ), while J1 exhibited the lowest value (71.59  $\mu\text{g/mL}$ ). These results are consistent with previous studies that identified variability in phosphate solubilization efficiency among different actinobacterial strains, attributed to differences in organic acid production and gene expression related to phosphorus solubilization (Soumare et al., 2021).

In NBRIP + BTGRAN medium, the addition of ultrafine BTGRAN remineralizer resulted in a reduction in phosphorus solubilization for most isolates (Fig. 2, Table 1). However, C5 still recorded the highest solubilization (166.25  $\mu\text{g/mL}$ ). Isolate B10 showed a significant decrease to 63.86  $\mu\text{g/mL}$ , suggesting that BTGRAN may inhibit phosphorus solubilization in some isolates. J1 had the lowest value (31.98  $\mu\text{g/mL}$ ), confirming that the addition of PDR is not beneficial for this isolate.

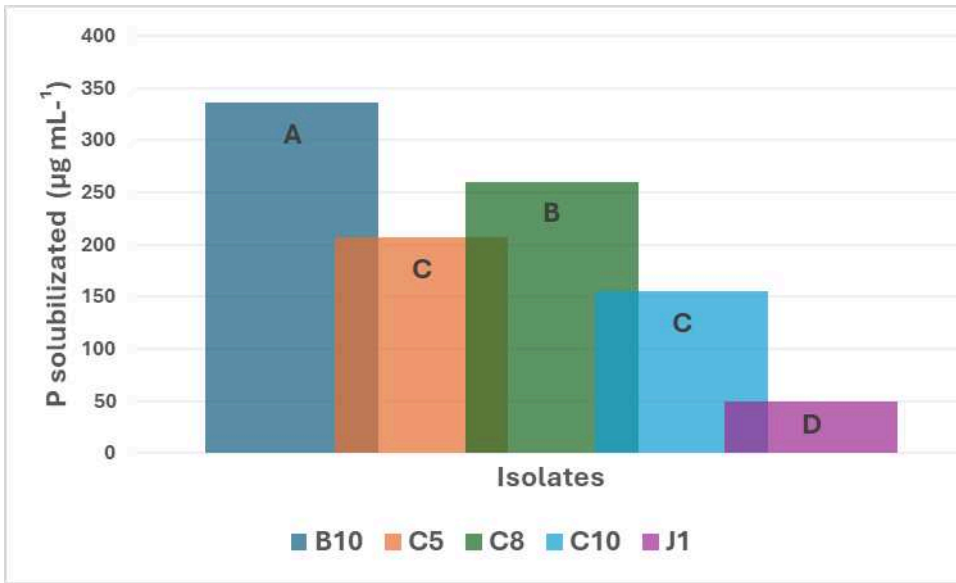
These findings align with research indicating that the addition of certain remineralizers can negatively affect the activity of phosphate-solubilizing microorganisms. Zhang et al. (2025) observed that the presence of remineralizers might interfere with the availability of essential nutrients or the expression of genes related to organic acid production, thereby impacting phosphorus solubilization efficiency.

In Verma medium, results indicate superior phosphate solubilization compared to other media. B10 stood out with the highest value recorded across all media and isolates (933.90  $\mu\text{g/mL}$ ). C8 and C5 also showed high levels of solubilization (466.02  $\mu\text{g/mL}$  and 392.32  $\mu\text{g/mL}$ ,

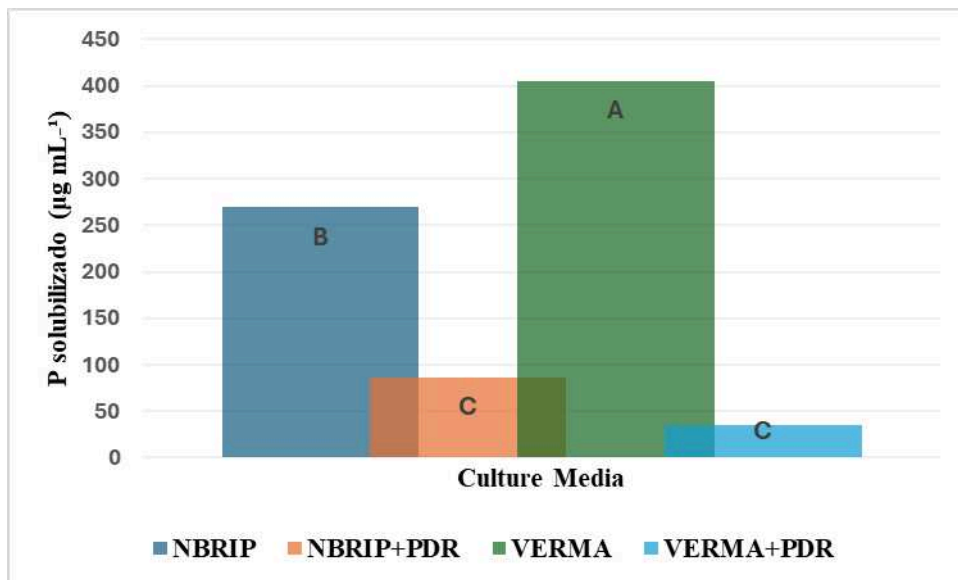
respectively). Isolate J1 had relatively low solubilization (44.70  $\mu\text{g/mL}$ ), indicating performance variability depending on the medium used.

These results suggest that Verma medium may provide more favorable conditions for the

expression of genes related to phosphate solubilization in actinobacteria. Soumare et al. (2021) highlight that the composition of the culture medium, including the carbon source and the presence of micronutrients, can significantly influence the activity of phosphate-solubilizing microorganisms.



**Fig. 1. P solubilization in liquid NBRIP and Verma media after inoculation by actinobacteria isolates, under cultivation for 15 days. Means followed by the same letter do not differ each other (Scott-Knott  $p < 0.05$ )**



**Fig. 2. Efficiency of P solubilization in liquid NBRIP and Verma media after inoculation by actinobacteria isolates, under cultivation for 15 days. Means followed by the same letter do not differ each other (Scott-Knott  $p < 0.05$ )**

**Table 1. Breakdown of soluble P content in NBRIP and Verma liquid culture media by actinobacteria isolates by inoculation time. Means followed by the same letter do not differ each other (Scott-Knott  $p < 0.05$ )**

| Culture Media | Isolates | Solubilization ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) |
|---------------|----------|--|
| NBRIP         | B10      | 211,33c                                  |
|               | C5       | 254,97c                                  |
|               | C8       | 482,61a                                  |
|               | C10      | 326,64b                                  |
|               | J1       | 71,59b                                   |
| NBRIP+PDR     | B10      | 63,86b                                   |
|               | C5       | 166,25a                                  |
|               | C8       | 89,06b                                   |
|               | C10      | 91,77b                                   |
|               | J1       | 31,98c                                   |
| VERMA         | B10      | 933,90a                                  |
|               | C5       | 392,32b                                  |
|               | C8       | 466,02b                                  |
|               | C10      | 187,52b                                  |
|               | J1       | 44,70c                                   |
| VERMA+PDR     | B10      | 94,00a                                   |
|               | C5       | 12,97c                                   |
|               | C8       | 3,67d                                    |
|               | C10      | 14,45c                                   |
|               | J1       | 48,91b                                   |

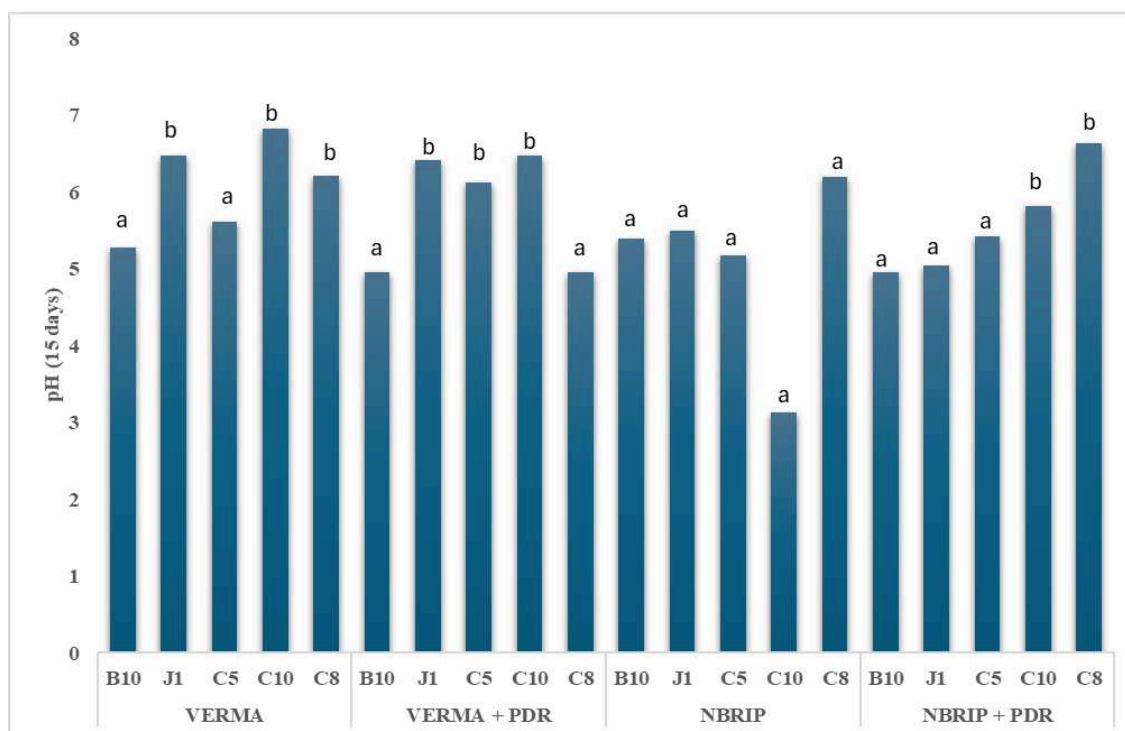
In Verma + BTGRAN medium, the addition of BTGRAN remineralizer resulted in a significant reduction in phosphate solubilization for all isolates. Still, B10 maintained the highest value (94.00  $\mu\text{g/mL}$ ) among them. However, C5 and C8 dropped drastically to 12.97  $\mu\text{g/mL}$  and 3.67  $\mu\text{g/mL}$ , respectively, while J1 reached 48.91  $\mu\text{g/mL}$ . These data suggest that BTGRAN negatively impacts phosphate solubilization in Verma medium.

These findings reinforce the need to carefully evaluate the interaction between phosphate-solubilizing microorganisms and mineral additives in the development of biofertilizers. Zhang et al. (2025) emphasize that the efficacy of microbial consortia may be compromised by the presence of certain additives that interfere with microbial activity, highlighting the importance of preliminary testing to ensure compatibility between biofertilizer components.

Based on the pH measurement data (Fig. 3) from the culture media, a statistically significant difference ( $p < 0.05$ ) was observed among the treatments. Overall, it was noted that the addition of rock powders (RPs) acted as a buffer, reducing the acidification of the culture media after 15 days of incubation. Thus, the best results were associated with isolates C10 and C8.

The determination of pH in culture media during phosphate solubilization tests by bacteria is a critical parameter for understanding the activity of phosphate-solubilizing microorganisms. In media such as NBRIP and VERMA, pH reduction is often correlated with the release of organic acids by bacteria, such as gluconate, citrate, and oxalate, which promote the solubilization of insoluble phosphates, especially tricalcium phosphate and apatites. According to Meena et al. (2020), acidification of the medium is the main biochemical mechanism involved in phosphate solubilization, with bacteria of the genera *Pseudomonas* and *Bacillus* exhibiting a significant ability to modulate pH as a functional strategy.

The relevance of pH in these assays is reinforced by the fact that the efficacy of phosphate biofertilizers depends on the microorganisms' ability to act under various soil conditions, especially in alkaline soils or those with low phosphorus bioavailability. Recent studies show that bacteria efficient in reducing pH in media such as NBRIP retain this capability under field conditions, enhancing the release of phosphorus from natural sources like rock phosphates. Furthermore, pH adjustments in the culture medium may affect the selectivity and differential growth of colonies, directly influencing the results of solubilization activity quantification.



**Fig. 3. pH measurement of culture media with and without rock powder (RP) 15 days after incubation. Means followed by the same letter do not differ each other (Scott-Knott  $p < 0.05$ )**

In Verma medium, which contains mineral salts and glucose as a carbon source, measuring the initial and final pH allows for the evaluation of the intensity and type of organic acids released, providing an indirect indication of the bacterial isolate's metabolic potential. According to Oliveira et al. (2024), monitoring pH decline in Verma medium can be more sensitive in differentiating isolates with high acidification capacity, making it particularly useful in the selection of bioinoculants. Thus, pH analysis not only reflects the physiological mechanisms underlying phosphate solubilization but also serves as a selection criterion in the development of inoculants for sustainable agricultural systems. Thus, VERMA medium was the highest efficiency in phosphate solubilization in association with rock dust *in vitro*.

#### 4. CONCLUSIONS

The results indicate that different actinobacterial isolates exhibit variations in phosphorus solubilization capacity depending on the culture medium used. The VERMA medium proved to be the most effective for phosphorus solubilization, whereas the addition of the BTGRAN remineralizer to both NBRIP and

VERMA media resulted in a reduction of solubilization. This suggests that the choice of culture medium and the presence of additives can significantly influence the effectiveness of actinobacteria in phosphorus solubilization.

#### DISCLAIMER (ARTIFICIAL INTELLIGENCE)

Author(s) hereby declare that NO generative AI technologies such as Large Language Models (ChatGPT, COPILOT, etc) and text-to-image generators have been used during writing or editing of this manuscript.

#### COMPETING INTERESTS

Authors have declared that no competing interests exist.

#### REFERENCES

- Alves, L., Oliveira, V. L., & Filho, G. N. S. (2010). Utilization of rocks and ectomycorrhizal fungi to promote growth of eucalypt. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 676–684.  
<https://doi.org/10.1590/S1517-83822010000300009>

- Bai, K., Wang, W., Zhang, J. et al. (2024). Effects of phosphorus-solubilizing bacteria and biochar application on phosphorus availability and tomato growth under phosphorus stress. *BMC Biol* 22, 21.  
<https://doi.org/10.1186/s12915-024-02011-y>
- Carmo, T. S., Moreira, F. S., Cabral, B. V., Dantas, R. C. C., Resende, M. M., Cardoso, V. L., & Ribeiro, E. J. (2019). Phosphorus recovery from phosphate rocks using phosphate-solubilizing bacteria. *Geomicrobiology Journal*, 36(3), 195–203.  
<https://doi.org/10.1080/01490451.2018.1538100>
- Cozzolino, V., Monda, H., Savy, D. et al. (2021). Cooperation among phosphate-solubilizing bacteria, humic acids and arbuscular mycorrhizal fungi induces soil microbiome shifts and enhances plant nutrient uptake. *Chem. Biol. Technol. Agric.* 8, 31. <https://doi.org/10.1186/s40538-021-00230-x>
- Hayat, R., Ali, A., Amara, U., Khalid, R., & Ahmed, I. (2010). Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: A review. *Annals of Microbiology*, 60, 579–598.  
<https://doi.org/10.1007/s13213-010-0117-1>
- Johari, N. D., Yusof, N. L. N., Khit, K. Y., Kamarudin, M., Nosbi, N., & Ali, W. F. F. W. (2025). Effect of calcination temperature and holding time on MCAS formation through the solid-state method: Structural and phase analysis. *Ceramics International*.
- Khan, M. S., Zaidi, A., & Wani, P. A. (2007). Role of phosphate solubilizing microorganisms in sustainable agriculture: A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 27, 29–43.  
<https://doi.org/10.1051/agro:2007024>
- Lizcano-Toledo, R., Reyes-Martín, M. P., Celi, L., & Fernández-Ondoño, E. (2021). Phosphorus Dynamics in the Soil–Plant– Environment Relationship in Cropping Systems: A Review. *Applied Sciences*, 11(23), 11133.  
<https://doi.org/10.3390/app112311133>
- Meena, V. S., Maurya, B. R., Verma, J. P., Meena, R. S., & Mitchell, J. (2020). Phosphate solubilizing microorganisms: Mechanisms and applications in sustainable agriculture. *Bioresource Technology*, 313, 123345.  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123345>
- Minaxi, Saxena, J., Chandra, S., & Nain, L. (2013). Synergistic effect of phosphate solubilizing rhizobacteria and arbuscular mycorrhiza on growth and yield of wheat plants. *Journal of soil science and plant nutrition*, 13(2), 511-525.  
<https://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162013005000040>
- Oliveira, T. F. D., Kuniyoshi, T. M., Frota, E. G., Bermúdez-Puga, S., Sakaue, L. N., Cassiano, L. L., ... & Oliveira, R. P. D. S. (2024). Anti-listerial activity of bacteriocin-like inhibitory substance produced by *Enterococcus lactis* LBM BT2 using alternative medium with sugarcane molasses. *Antibiotics*, 13(3), 210.
- Pang, F., Li, Q., Solanki, M.K., Wang, Z., Xing, Y-X., and Dong, D-F. (2024). Soil phosphorus transformation and plant uptake driven by phosphate-solubilizing microorganisms. *Frontiers in Microbiology*. 15:1383813.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1383813>
- Saed, R. G., Mohammad E. W., Andrzej, K. (2019). Environmental sustainability of phosphorus recycling from wastewater, manure and solid wastes, *Science of The Total Environment*, 672, 2019.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.439>
- Silva, J. M., Dalbon, V. A., Acevedo, J. P. M., Massahud, R. T. R. L., Alves, E. S. A., da Silva, P. C. V., dos Santos, T. M. C., & Lima, G. S. A. (2022). Development of tomatoes seedlings (*Lycopersicon esculentum* L.) in combination with silicate rock powder and rhizospheric fungi inoculation. *Current Science*, 122(7), 819–825.  
<https://doi.org/10.18520/cs/v122/i7/819-825>
- Soumare, A., Boubekri, K., Lyamlouli, K., Hafidi, M., & Ouhdouch, Y. (2021). Efficacy of phosphate solubilizing Actinobacteria to improve rock phosphate agronomic effectiveness and plant growth promotion. *Rhizosphere*, 17, 100284.
- Verma, S.C., Ladha, J.K., & Tripathi, A.K. (2001). Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. *Journal of Biotechnology*, 91, 127-141.  
[https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00333-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00333-9)
- Zhang, T., Wang, X.-L., Zhou, J., Zhou, W., & Zhou, S.-Q. (2025). Construction of

Phosphate-Solubilizing Microbial Remediation of Saline-Alkali Soil. *Microbial*  
Consortium and Its Effect on the *Ecology*, 88, 11.

**Disclaimer/Publisher's Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of the publisher and/or the editor(s). This publisher and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

© Copyright (2025): Author(s). The licensee is the journal publisher. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

*Peer-review history:*

*The peer review history for this paper can be accessed here:*

<https://or.ediarticle5.com/review-history/138002>

