

# **Solubilização biológica de potássio a partir de resíduos de ardósia tratados termicamente na presença de *Burkholderia cepacia* e *Paenibacillus polymyxa***

## **Potassium biosolubilization from thermally treated slate residues mediated by *Burkholderia cepacia* and *Paenibacillus polymyxa***

**Mariana Ruiz Frazão do Nascimento**

Bolsista PCI, Eng. Química, D.Sc.

**Cláudia Duarte Cunha**

Supervisora, Eng. Química, D. Sc.

### **Resumo**

Com o objetivo de reduzir a dependência da importação de fertilizantes químicos, muitas pesquisas têm sido direcionadas ao uso de bactérias capazes de biodisponibilizar macronutrientes presentes em rochas, incluindo o potássio. Nesse contexto, o presente estudo buscou avaliar o potencial de duas estirpes bacterianas (*Burkholderia cepacia* ATCC 25416 e *Paenibacillus polymyxa*) na solubilização do potássio presente em resíduos de ardósia oriundos de Minas Gerais (MG) e Santa Catarina (SC), previamente submetidos a tratamento térmico a 1200°C. Para isso, foram realizados ensaios de biossolubilização de potássio *in vitro* utilizando as estirpes bacterianas em meio Aleksandrov, com a adição do pó de rocha como fonte única de potássio. Foram avaliadas diferentes densidades de polpa (1% e 10% m/v), bem como a influência da agitação (estático e 150rpm). Os resultados obtidos mostraram que a maior concentração de potássio obtida (descontando controle abiótico) para o resíduo oriundo de MG foi de 8,80 mg.L<sup>-1</sup>, na presença da bactéria *B. cepacia*, nos ensaios com agitação e 10% de densidade de polpa. Para o resíduo oriundo de SC, o melhor resultado foi obtido também na condição de maior densidade de polpa (6,70 mg.L<sup>-1</sup>), na presença do microrganismo *P. polymyxa*, tanto no ensaio com agitação, quanto no estático (descontando controle abiótico). Dessa forma, as estirpes bacterianas avaliadas neste estudo demonstraram baixa capacidade de liberação de K a partir de resíduos de ardósia após tratamento térmico, sendo considerados insatisfatórios para aplicação nos processos de biossolubilização.

Palavras-chave: Biossolubilização; pó de rocha; ardósia; potássio; microrganismos.

### **Abstract**

In order to reduce dependence on imported chemical fertilizers, several studies have focused on the use of bacteria capable of enhancing the bioavailability of macronutrients from rocks, including potassium. In this context, the present study aimed to evaluate the potential of two bacterial strains (*Burkholderia cepacia* ATCC 25416 and *Paenibacillus polymyxa*) to solubilize potassium present in slate residues from Minas Gerais (MG) and Santa Catarina (SC), previously subjected to thermal treatment at 1200 °C. For this purpose, *in vitro* potassium biosolubilization assays were carried out using the bacterial strains in Aleksandrov medium, with the addition of

rock powder as the sole potassium source. Different pulp densities (1% and 10% w/v) were evaluated, as well as the influence of agitation (static and 150 rpm). The results showed that the highest potassium concentration obtained (discounting the abiotic control) for the residue from MG was  $8.80 \text{ mg L}^{-1}$ , in the presence of *B. cepacia*, under shaking conditions with a pulp density of 10%. For the residue from SC, the best result was also obtained under the higher pulp density condition ( $6.70 \text{ mg L}^{-1}$ ), in the presence of *P. polymyxa*, both under shaking and static conditions (discounting the abiotic control). Therefore, the bacterial strains evaluated in this study exhibited a low capacity to release potassium from thermally treated slate residues, being considered unsatisfactory for application in biosolubilization processes.

**Key words:** Biosolubilization; rock powder; slate; potassium; microorganisms.

## 1. Introdução

Dentre os nutrientes necessários para o desenvolvimento vegetal, o potássio é um nutriente essencial pois desempenha um papel crucial em diversos processos fisiológicos, incluindo fotossíntese, síntese de proteínas e enzimas, além de contribuir para a resistência a doenças, pragas, etc (MEENA *et al.*, 2016; SATTAR *et al.*, 2018; NAIN *et al.*, 2023). Entretanto, uma grande parte do potássio contido nos minerais presentes no solo encontra-se em formas insolúveis e indisponíveis para as plantas, e a liberação natural desse nutriente demanda tempo, limitando a capacidade de fornecimento direto às plantas. Dessa forma, a demanda por K na produção agrícola é elevada, exigindo assim, uma aplicação intensiva de fertilizantes (ALVES *et al.*, 2010; SCHUELER *et al.*, 2021; GUIEIRO *et al.*, 2024).

Com o objetivo de reduzir a dependência das importações de fertilizantes químicos e atender à crescente demanda agrícola, fontes alternativas de insumos, como os remineralizadores ou pós de rocha, têm demonstrado potencial para melhorar os índices de fertilidade do solo, principalmente como fontes alternativas de potássio (CASTRO *et al.*, 2022). Porém, a eficiência da aplicação desses minerais está diretamente relacionada à disponibilidade desses nutrientes (NEVES *et al.*, 2024). De acordo com Nascimento *et al.* (2008), a maioria dos minerais contendo potássio em sua rede cristalina, como feldspatos e micas, por exemplo, é insolúvel, sendo sua dissolução possível apenas a partir de forte ataque químico e tratamento térmico. Assim, uma alternativa promissora é a utilização de microrganismos eficientes na disponibilização biológica de potássio. Estudos demonstram que diversos grupos de microrganismos, incluindo bactérias e fungos, são capazes de solubilizar o potássio retido em minerais silicáticos por meio da produção de ácidos orgânicos, ácidos inorgânicos, produção de exopolissacarídeos (EPS) e formação de biofilme, os quais promovem a dissolução de minerais, aumentando a liberação dos elementos presentes em sua estrutura (LIU *et al.*, 2012; MEENA *et al.*, 2015; PADHAN *et al.*, 2019; SATTAR *et al.*, 2019; NAIN *et al.*, 2023; BASAK *et al.*, 2020).

Dessa forma, a biosolubilização de potássio a partir de pós de rochas se apresenta como uma alternativa viável e sustentável, surgindo como uma potencial fonte para o desenvolvimento de fertilizantes alternativos. Buscando otimizar os resultados de liberação de potássio, o presente trabalho utilizou resíduos de

ardósia após tratamento térmico a 1200°C, uma vez que esse procedimento pode favorecer a mobilização do potássio nos ensaios (TEIXEIRA *et al.*, 2015).

## 2. Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo avaliar, por meio de ensaios *in vitro*, a capacidade da estirpe bacteriana *Burkholderia cepacia* ATCC 25416 e do isolado bacteriano *Paenibacillus polymyxa*, em disponibilizar potássio presente em resíduos de ardósia após tratamento térmico, provenientes dos Estados de Minas Gerais e Santa Catarina, bem como identificar as melhores condições e parâmetros para otimização do processo de bioassolubilização.

## 3. Material e Métodos

Foi utilizada uma estirpe bacteriana, *Burkholderia cepacia* ATCC 25416, e uma estirpe isolada de rizosfera de solo identificada como *Paenibacillus polymyxa*, ambas provenientes do banco de coleção de culturas do Labiotec. Nos experimentos, foram utilizadas duas amostras de resíduo de ardósia (pó de rocha): uma proveniente de Santa Catarina (SC) e outra de Minas Gerais (MG), contendo 2,5% e 3% de K<sub>2</sub>O em suas composições, respectivamente. As amostras foram submetidas a processo de expansão térmica a 1200°C. Os experimentos de bioassolubilização foram realizados em frascos *Erlenmeyer* de 250 mL contendo 100 mL de meio de cultura *Aleksandrov* e os pós de rochas foram adicionados como única fonte de potássio nas concentrações de 1,0 % e 10% (m/v). As amostras foram previamente moídas para atingir a faixa granulométrica de 0,3 a 2,0 mm, mantendo a quantidade mínima definida na IN5 do MAPA de 10 de março de 2016, para fins comparativos em ensaios futuros com o uso da rochagem. O inóculo para cada estirpe foi padronizado em 5% (v/v), após a determinação das curvas de peso seco, alcançando concentrações iniciais de 10<sup>7</sup> UFC/mL para *Burkholderia cepacia* e 10<sup>6</sup> UFC/mL, para *Paenibacillus polymyxa*. O pH do meio de cultura foi ajustado para 7,0. Os ensaios foram conduzidos por 20 dias, a 30 °C, sob duas condições experimentais: com agitação (150 rpm) e estática. Todos os ensaios foram feitos em duplicata e os controles foram preparados com apenas o meio de cultura e o pó de rocha nas duas concentrações testadas. Ao final do experimento, as amostras foram centrifugadas a aproximadamente 7000 rpm, a 4 °C, por 20 minutos, e os sobrenadantes filtrados em membranas de 0,22 µm. A concentração de potássio em solução (mg.L<sup>-1</sup>) foi determinada por espectrometria de absorção atômica (LIU *et al.*, 2006).

## 4. Resultados e Discussão

Os resultados da solubilização de potássio pelas estirpes bacterianas estão apresentados na Tabela 1. Os valores de extração de K obtidos pelos microrganismos (descontando o controle abiótico) variaram de 0,20 a 8,80 mg.L<sup>-1</sup>. O maior valor de solubilização, após 20 dias de ensaio, foi observado utilizando 10% (m/v) do pó de rocha proveniente de MG, sob agitação de 150 rpm, pela estirpe *Burkholderia cepacia* ATCC 25416 (8,80mg.L<sup>-1</sup>). Para a estirpe *Paenibacillus polymyxa*, os melhores resultados foram obtidos com a densidade de polpa de 10 %

(m/v) do pó de rocha proveniente de SC, tanto em ensaios estáticos quanto sob agitação a 150 rpm, atingindo 6,70 mg.L<sup>-1</sup> de potássio. Os valores obtidos para ambas as estirpes foram muito baixos, mas estão de acordo com os resultados obtidos na literatura (ANWAR et al., 2022; BOPIN; PRAJAPATI, et al., 2023, TRAM et al., 2023; WANG et al., 2024). Além disso, os valores de extração de K extraído dos pós de rocha submetidos a tratamento térmico foram inferiores aos valores obtidos utilizando os mesmos resíduos de ardósia *in natura* (NASCIMENTO et al., 2024).

**Tabela 1-** Concentração e percentual de biossolubilização de potássio utilizando as estirpes *Paenibacillus polymyxa* e *Burkholderia cepacia* ATCC 25416 após 20 dias de incubação em meio Aleksandrov.

Pó de Rocha + microrganismo	Densidade de polpa (%)	Condição do processo	pH final	K (mg.L <sup>-1</sup> )	Extração (%)
SC – <i>P. polymyxa</i>	1	Agitado	5	2,6 ± 0,28	1,24
SC - <i>P. polymyxa</i>	10	Agitado	4,5	6,7 ± 0,92	0,32
SC - <i>P. polymyxa</i>	1	Estático	5,5	2,4 ± 0,28	1,14
SC - <i>P. polymyxa</i>	10	Estático	5,5	6,7 ± 0,85	0,32
MG - <i>P. polymyxa</i>	1	Agitado	4,5	0,60 ± 0,14	0,24
MG - <i>P. polymyxa</i>	10	Agitado	4,5	1,60 ± 0,14	0,06
MG - <i>P. polymyxa</i>	1	Estático	5,5	2,20 ± 0,49	0,88
MG - <i>P. polymyxa</i>	10	Estático	5,5	2,30 ± 0,85	0,09
Pó de Rocha + microrganismo	Densidade de polpa (%)	Condição do processo	pH final	K (mg.L <sup>-1</sup> )	Extração (%)
SC – <i>B. cepacia</i>	1	Agitado	2	0,65 ± 0,00	0,31
SC - <i>B. cepacia</i>	10	Agitado	3	5,80 ± 0,07	0,28
SC - <i>B. cepacia</i>	1	Estático	3	0,50 ± 0,35	0,24
SC - <i>B. cepacia</i>	10	Estático	3	5,90 ± 1,55	0,28
MG - <i>B. cepacia</i>	1	Agitado	2	0,9 ± 0,28	0,36
MG - <i>B. cepacia</i>	10	Agitado	3	8,80 ± 0,28	0,35
MG - <i>B. cepacia</i>	1	Estático	3	0,2 ± 0,00	0,08
MG - <i>B. cepacia</i>	10	Estático	3	3,80 ± 0,00	0,15

SC – Ardósia expandida proveniente de Santa Catarina; MG – Ardósia expandida proveniente de Minas Gerais.

*Paenibacillus polymyxa* (estirpe isolada); *Burkholderia cepacia* ATCC 25416 (estirpe proveniente de coleção de cultura).

pH inicial: 7

Em todos os ensaios houve redução do pH acompanhada de aumento das concentrações de potássio em solução, sugerindo a produção de ácidos orgânicos pelas estirpes testadas. A diminuição do pH promove a liberação de prótons, o que favorece o processo de solubilização (GROUDEV, 1987; ZARJANI et al., 2013; PARMAR; SINDHU, 2013; SATTAR et al., 2018).

Com relação às porcentagens de extração de K obtidas nos ensaios com *Paenibacillus polymyxa*, na presença de ambos os resíduos (MG e SC), os maiores valores ocorreram com a menor densidade de polpa (1% m/v), tanto nos ensaios agitados, quanto nos estáticos. Esses resultados indicam que a utilização de uma menor relação sólido/líquido favorece a solubilização. Para *Burkholderia cepacia* ATCC 25416, as concentrações de K

extraído permaneceram sem grandes variações entre as condições de agitação e estática, utilizando tanto 1% quanto 10% (m/v) de densidade de polpa.

Também foi observado que os ensaios conduzidos na presença dos microrganismos apresentaram percentuais de extração de potássio que variaram de 18% a 267% quando comparados ao ensaio controle (dados não apresentados). Porém, tais resultados obtidos com os resíduos submetidos a tratamento térmico foram inferiores aos obtidos em experimentos anteriores com o mesmo resíduo *in natura*. Apesar dos valores positivos de extração frente ao ensaio controle, os resultados demonstraram que o tratamento térmico dos resíduos não favoreceu os ensaios de bioextracção na presença dos microrganismos *P. polymyxa* e *B. cepacia*.

## 5. Conclusão

De acordo com os resultados obtidos, os ensaios de bioextracção de potássio comparados aos ensaios controles, foram considerados positivos quanto à liberação de potássio no meio de cultura. O melhor resultado de extração foi de 8,80 mg.L<sup>-1</sup>, obtido no ensaio com agitação e 10% de densidade de polpa para o microrganismo *Burkholderia cepacia*, utilizando o resíduo proveniente de Minas Gerais (MG). Na presença do microrganismo *Paenibacillus polymyxa*, o maior valor de extração de potássio foi de 6,70 mg.L<sup>-1</sup> utilizando o resíduo oriundo de Santa Catarina (SC), com a densidade de polpa de 10% (m/v), nos ensaios com e sem agitação. Apesar dos resultados positivos de extração em relação aos controles abióticos, foi observado que o uso dos pós de rocha submetidos a tratamento térmico prejudicou a liberação de potássio, quando comparado aos ensaios com o pó de rocha *in natura*. Portanto, nas condições avaliadas, o uso desses pós de rocha tratados termicamente não se mostrou adequado para aplicação em processos de bioextracção de potássio.

## 6. Agradecimentos

Agradeço ao Centro de tecnologia Mineral pela estrutura para realização dos ensaios, à orientação da Dra. Cláudia Duarte da Cunha, ao CNPq pela bolsa concedida no âmbito do programa de capacitação Institucional (PCI – CETEM), à FINEP pelo apoio financeiro, à Coordenação de análises minerais (COAMI) e ao pesquisador Luiz Carlos Bertolino pela realização das análises de caracterização.

## 7. Referências Bibliográficas

ANWAR, A. R.; KUSWINANTI, A. L. T.; SYAM'UN, E. The ability of potassium-solubilizing fungi isolated from leucite potassium rock deposits. **Biodiversitas**. v. 23, n. 12, p. 6579-6586, 2022.

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

BASAK, B. B.; MAITY, A.; RAY, P.; BISWAS, D. R.; ROY, S. Potassium supply in agriculture through biological potassium fertilizer: A promising and sustainable option for developing countries. **Archives of Agronomy and Soil Science**. v. 68, p. 101-114, 2020.

BOPIN, S.; PRAJAPATI, K. Isolation, screening and molecular characterization of potassium solubilizing Actinomycete *Streptomyces satacamensis* (KSA16). **Biosciences Biotechnology Research Asia**. v. 20, n. 3, p 1003-1013, 2023.

CASTRO, J. P. L.; LEANDRO, W. M.; BRAIL, E. P. F.; FERREIRA, K. R. S; OLIVEIRA, C. B. A.; PASSOS, P. B. Eficiência Agronômica de Remineralizador do Solo de Micaxisto na Sucessão Milheto-Soja. **Research, Society and Development**. v. 11, n. 14, 2022.

GUIEIRO, C. S. M; MOREIRA, P. E.; RODRIGUES, V. A.; REIS, D. P.; LAGE, L. C. A.; SOUZA, F. F.; PAIVA, C. O.; MARRIEL, I. E. Biosolubilização de potássio por microrganismos *in vitro* a partir da rocha FMX. 34º congresso nacional de milho e sorgo, 2024.

GROUDEV, S. N. Use of heterotrophic microorganisms in mineral biotechnology. **Acta Biotechnology**. v.17, p. 299-306, 1987.

LIU, D.; LIAN, B.; DONG, H. Isolation of *Paenibacillus* spp. and assessment of its potential for enhancing mineral weathering. **Geomicrobiology Journal**. v. 29, p. 413-421, 2012.

LIU, C. G.; PLUMB, J.; HENDRY, P. Rapid specific detection and quantification of bacteria and archaea involved in mineral sulfide bioleaching using real-time PCR. **Biotechnology and Bioengineering**. v. 94, p. 330-336, 2006.

NASCIMENTO, M., MONTE, M.B.M., LAUREIRO, F. E.L. Agrominerais/potássio. In: Rochas & minerais industriais: usos e especificações. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2005. Parte II. Cap. 8. p.173-200.

MEENA, V. S.; MAURYA, B. R.; VERMAC, J. P.; AEROND, A.; KUMARA, A.; KIM, K.; BAJPAI, V. K. Potassium solubilizing rhizobacteria (KSR): isolation, identification, and released dynamics from waste mica. **Ecological Engineering**. v. 81, p. 340-347, 2015.

MEENA V. S., BAHADUR I., MAURYA B. R., KUMAR A., MEENA R. K., MEENA S. K., VERMA J. P. Potassium-solubilizing microorganism in evergreen agriculture: Na overview. In: Meena V, Maurya B, Verma, J, Meena R (eds). **Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture**. p.1-20, 2016.

NAIN, A.; CHAUDHARY, K.; SHARMA, C.; SHEORAN, H. Potassium solubilization in soils. **Ecofarming**. v. 3, n. 1, p. 58-63, 2023.

NASCIMENTO, M. R. F.; CUNHA, C. D. Avaliação do potencial de solubilização de potássio em resíduos de ardósia por microrganismos. **Jornada PCI**, 2024.

NEVES, D. S. C.; NEVES, E. F. B.; REIS, A. M.; NASCIMENTO, K. A. S.; SOUZA, D. S.; MEDEIROS, J. P. S.; NEVES, O. S. C.; HOTZA, D. Efeito da aplicação de pó de rocha (nefelinásienito) como remineralizador de solo sobre a nutrição e a produção de massa de milheto e eucalipto. 63º congresso Brasileiro de Química, 2024.

PADHAN, D.; SEN, A.; KUNDU, R.; YADAV, V. K. Potassium solubilisation in soils: mechanisms, effect on plant growth and future prospects. **Current Research in Soil Fertility**. AkiNik Publications. Chapter 3. p. 37-59, 2019.

PARMAR, P.; SINDHU, S. S. The novel and efficient method for isolating potassium solubilizing bacteria from rhizosphere soil. **Geomicrobiology Journal**. v.36, n.2, p. 1-7, 2018.

SATTAR, A.; NAVEED, M.; ALI, M.; ZAHIR Z. A.; NADEEM, S. M.; YASEEN, M.; MEENA, V. S.; FAROOQ, M.; SINGH, R.; RAHMANF, M.; MEENA, H. N. Perspectives of potassium solubilizing microbes in sustainable food production system: A review. **Applied Soil Ecology**. p. 1-14, 2018.

SATTAR, A.; NAVEEDA, M.; ALIA, M.; ZAHIRA, Z.; NADEEMB, S.; YASEENA, M.; MEENAC, V. S.; FAROOQD, M.; SINGHE, R.; RAHMANF, M.; MEENA, H. N. Perspectives of potassium solubilizing microbes in sustainable food production system: a review. **Applied Soil Ecology**. v. 133, p. 146-159, 2019.

SCHUELER, T. A.; DOURADO, M. L.; VIDEIRA, S. S.; CUNHA, C. D.; RIZZO, A. C. L. Biosolubilization of verdete: An alternative potassium source for agriculture fertilizer. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. v. 34, p.1-6, 2021.

TRAM, D, T, T.; THANH, D. T. N.; TAM, H. M. Characterization of phosphate and potassium solubilization, and antifungal activity of bacteria isolated from rhizosphere of *Allium ascalonicum*(L.) grown in NinhHai district, NinhThuan province, Vietnam. **World Journal of Advanced Research and Reviews**, v.17, n.3, p. 18–27, 2023.

ZARJANI, J. K.; ALIASGHARZAD, N.; OUSTAN, S.; EMADI, M.; AHMADI, A. Isolation and characterization of potassium solubilizing bacteria in some Iranian soils. **Archives of Agronomy and Soil Science**. v. 59, n.12, p. 1713-1723, 2013.

Wang Z.; Liu, M.; Liu, X.; Bao, Y.; Wang, Y. Solubilization of K and P nutrients from coal gangue by *Bacillus velezensis*. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 90, n. 11, p 1-15, 2024.