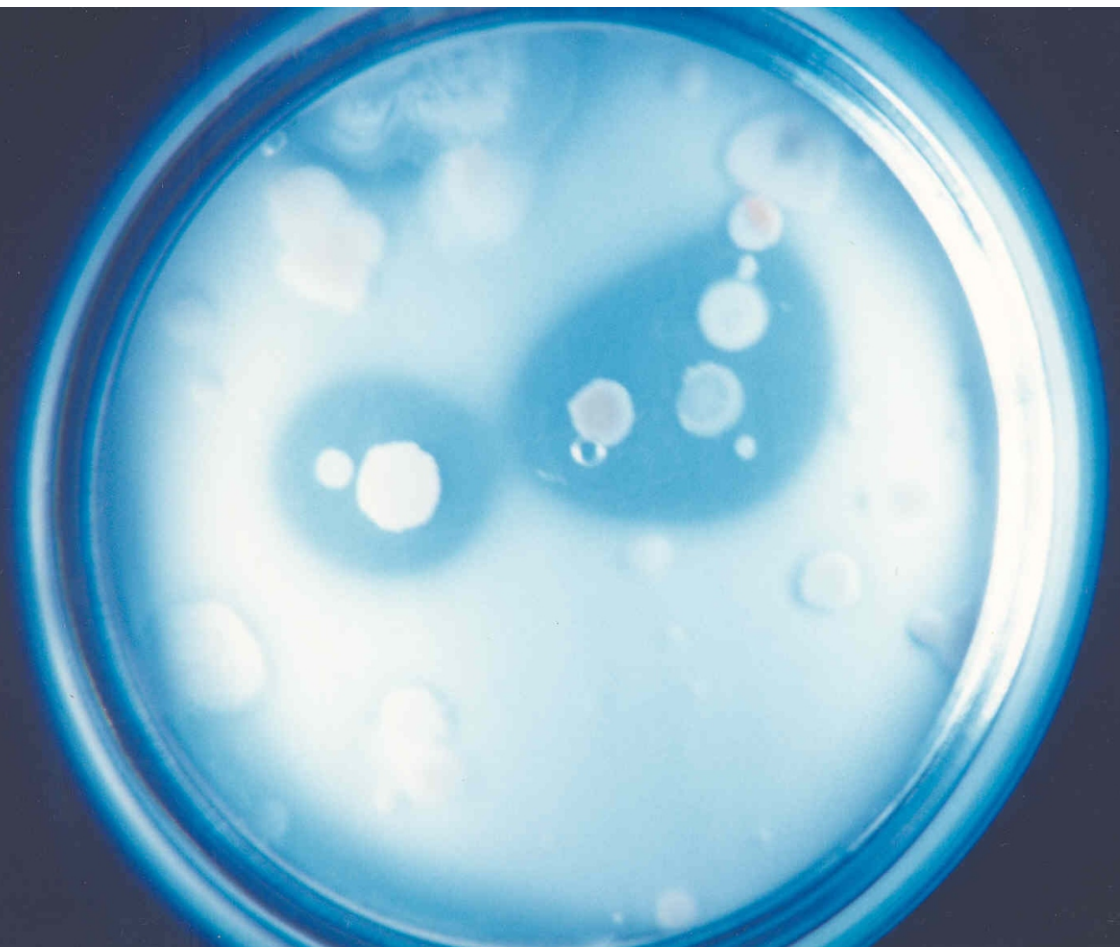


Microrganismos e Disponibilidade de Fósforo (P) nos Solos: uma análise crítica





*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Cerrados
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

ISSN 1517-5111

Abril, 2003

Documentos 85

Microrganismos e Disponibilidade de Fósforo (P) nos Solos: uma análise crítica

Iêda de Carvalho Mendes

Fábio Bueno dos Reis Junior

Planaltina, DF
2003

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Cerrados

BR 020, Km 18, Rod. Brasília/Fortaleza

Caixa Postal 08223

CEP 73310-970 Planaltina - DF

Fone: (61) 388-9898

Fax: (61) 388-9879

<http://www.cpac.embrapa.br>

sac@cpac.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: *Dimas Vital Siqueira Resck*

Editor Técnico: *Carlos Roberto Spehar*

Secretária-Executiva: *Nilda Maria da Cunha Sette*

Supervisão editorial: *Jaime Arbués Carneiro*

Revisão de texto: *Maria Helena Gonçalves Teixeira*

Jaime Arbués Carneiro

Normalização bibliográfica: *Rosângela Lacerda de Castro*

Capa: *Chaile Cherne Soares Evangelista*

Editoração eletrônica: *Jussara Flores de Oliveira*

Impressão e acabamento: *Divino Batista de Souza*

Jaime Arbués Carneiro

Impresso no Serviço Gráfico da Embrapa Cerrados

1ª edição

1ª impressão (2003): tiragem 100 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.
Embrapa Cerrados.

M538m Mendes, Iêda de Carvalho

Microorganismos e disponibilidade de fósforo (P) nos solos: uma análise crítica / Iêda de Carvalho Mendes, Fábio Bueno dos Reis Júnior. – Planaltina, DF : Embrapa Cerrados, 2003.

26 p. – (Documentos / Embrapa Cerrados, ISSN 1517-5111; 85)

1. Solo - microbiologia. 2. Solo - fósforo. I. Reis Júnior, Fábio Bueno dos. II. Título. III. Série.

631.46 - CDD 21

© Embrapa 2003

Autores

Iêda de Carvalho Mendes

Ph.D., Microbiologia dos Solos

Embrapa Cerrados

mendes@cpac.embrapa.br

Fábio Bueno dos Reis Junior

Ph.D., Microbiologia dos Solos

Embrapa Cerrados

fabio@cpac.embrapa.br

Apresentação

Os microrganismos representam cerca de 60% a 80% da fração viva e mais ativa da matéria orgânica do solo que constitui por sua vez, o principal componente de fertilidade dos solos de cerrado. Eles atuam em processos que vão desde a origem do solo (intemperização das rochas), formação e manutenção da sua estrutura, até a decomposição de resíduos orgânicos, formação da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes, biorremediação de poluentes e metais pesados. Nos ecossistemas tropicais onde o N e o P estão entre os principais fatores limitantes para a produtividade, também merecem destaque os processos de fixação biológica do nitrogênio, as relações simbióticas entre plantas e fungos micorrízicos e a ação dos microrganismos solubilizadores de P e produtores de fosfatases.

Esse documento aborda os vários aspectos da participação dos microrganismos nos processos de solubilização e mineralização do fósforo no solo, analisando a evolução e o estado atual do conhecimento nessa área, bem como suas perspectivas para o futuro.

Roberto Teixeira Alves
Chefe-Geral da Embrapa Cerrados

Sumário

| | |
|--|----|
| Introdução | 9 |
| Formas de P Disponível nos Solos | 10 |
| Microrganismos e Transformações Biológicas do P no Solo | 11 |
| Utilização de Microrganismos para Aumentar a Disponibilidade de P no Solo | 13 |
| O uso de fosfobacterins | 13 |
| O uso do “biosuper” | 14 |
| Inoculação do solo com microrganismos solubilizadores de P | 15 |
| Fatores limitantes ao uso da inoculação com microrganismos solubilizadores de fosfato | 17 |
| Perspectivas Futuras e Considerações Finais | 19 |
| Referências Bibliográficas | 21 |
| Abstract | 26 |

Microrganismos e Disponibilidade de Fósforo (P) nos Solos: uma análise crítica

Iêda de Carvalho Mendes

Fábio Bueno dos Reis Junior

Introdução

Estimativas recentes apontam que, em todo o planeta, 5,7 bilhões de hectares apresentam concentrações de fósforo (P) insuficientes para sustentar o potencial produtivo das culturas agrícolas ([Hinsinger, 2001](#)). A baixa disponibilidade desse elemento para as plantas é devida à grande reatividade e à alta taxa de retenção de seus íons, relacionados a numerosos constituintes dos solos. Os solos da Região do Cerrado, por causa do elevado grau de intemperismo, apresentam baixo teor de P total e muito baixo teor de P disponível para as plantas ([Goedert et al., 1986](#)). Esses baixos teores estão relacionados à mineralogia peculiar e ao ambiente geoquímico desse tipo de solo que favorecem a retenção dos íons de P em seus constituintes sólidos, principalmente, óxidos de Fe e Al, diminuindo os níveis desse elemento em solução.

A aplicação de fertilizantes fosfatados tem sido utilizada para suprir a deficiência de P, porém, quando fontes solúveis de P são adicionadas ao solo, esse elemento pode ser adsorvido na superfície dos colóides ou convertido a compostos muito pouco solúveis de Fe e Al ([Brady & Weil, 1996](#)). Isso contribui para o baixo nível de eficiência (10% - 25%) dos adubos fosfatados aplicados ao solo. Para superar esses problemas, doses relativamente elevadas de fertilizantes são necessárias para a obtenção de produções econômicas. O baixo nível de eficiência de utilização dos adubos fosfatados é sem dúvida um dos grandes obstáculos para o estabelecimento de sistemas agrícolas sustentáveis, baseados numa menor utilização de fontes naturais não renováveis ([Ae et al., 1995](#)).

Além de o P imobilizado na biomassa microbiana constituir-se num reservatório lábil desse nutriente, os microrganismos do solo também desempenham papel fundamental nos processos de mineralização e solubilização desse elemento. Desde o início do século 20 e principalmente a partir da década de 1950, cientistas têm estudado formas de aumentar os níveis de P disponíveis para as plantas por meio de processos microbiológicos. Nota-se uma tendência de maior ênfase nesses estudos nos países em desenvolvimento e/ou que não possuem reservas significativas de rochas fosfatadas para a produção, em larga escala, do adubo comercial. Claramente, as interações planta-microrganismo são complexas e, com poucas exceções, têm se mostrado de difícil controle ([Richardson, 2001](#)). Infelizmente, devido à qualidade duvidosa de alguns dos experimentos conduzidos, a maioria dos resultados obtidos, principalmente, no campo, foram inconsistentes e contraditórios (Mishutin & Naumonova, 1965 citados por [Brown, 1974](#); [Kucey et al., 1989](#)). Portanto, o desafio continua, oportunidades para a exploração de processos microbiológicos que favoreçam a mobilização/disponibilização do P melhoram com o conhecimento dos processos envolvidos no ciclo desse elemento e o entendimento sobre a fisiologia/ecologia dos microrganismos envolvidos.

Nessa revisão, serão discutidos as formas de P presentes no solo e o papel dos microrganismos nos processos de solubilização e mineralização delas. Também serão apresentados resultados de alguns estudos em que foram avaliados os efeitos da inoculação com microrganismos visando a aumentar a quantidade de P disponível para as plantas. Por fim, serão analisados os principais obstáculos para a obtenção de resultados promissores como a inoculação de microrganismos no campo e algumas linhas futuras de pesquisa nessa área.

Formas de P Disponível nos Solos

Na solução do solo, o P pode ser encontrado nas formas de H_3PO_4 , H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} e PO_4^{3-} , sendo as concentrações desses ânions dependentes do pH. Nos solos de Cerrado, a concentração de P na solução é muito baixa, comumente, inferior a 0,1 ppm ([Goedert et al., 1986](#)). Para efeitos de comparação, a concentração de P na solução requerida pela maioria das plantas cultivadas varia em torno de 0,005 (mandioca) a 0,2 ppm (soja) ([Tisdale et al., 1993](#)).

O P presente na fase sólida do solo pode ser classificado em duas frações: lábil (trocável) e não lábil (não trocável). Nas frações lábil e não lábil pode ser classificado em P-orgânico (P_o) e P-inorgânico (P_i).

A fração de P_i presente no solo consiste em fosfatos minerais insolúveis e ânions fosfatos adsorvidos a hidróxidos de Fe e Al, silicatos de Al e carbonatos de Ca. Em solos brasileiros, o P é encontrado em maior quantidade como fosfatos de alumínio e ferro (Nahas, 2002). A disponibilidade do P_i depende de sua solubilidade que pode ser influenciada pela atividade das raízes das plantas e microrganismos do solo.

Estima-se que o P_o represente em torno de 10% a 50% do P total do solo (Tisdale et al., 1993; Nahas et al., 1994; Rodrigues & Fraga, 1999). Dentre as principais formas de P_o encontradas no solo, destacam-se os inositolis-fosfatos (10% a 50%), os fosfolípidios (1% a 5%) e os ácidos nucleicos (0,2% a 2,5%). Devido à formação de complexos entre os inositolis-fosfatos e proteínas e também devido a sua adsorção em partículas de argila e óxidos de Fe e Al, essas são as formas orgânicas mais resistentes ao ataque das enzimas do solo liberadas pelas raízes e/ou microrganismos.

Da quantidade de P presente no solo, de 1% a 10% encontra-se imobilizado na biomassa microbiana (Richardson, 1994). Embora esse *pool* não seja necessariamente disponível para as plantas, atua como um componente dinâmico do ciclo do P nos solos, sendo influenciado pela fertilidade, sazonalidade e pelas diferentes práticas agrícolas.

Microrganismos e Transformações Biológicas do P no Solo

Bactérias, fungos e actinomicetos estão envolvidos nos processos de solubilização e mineralização de P no solo, desempenhando papel fundamental no ciclo biogeoquímico desse elemento (Paul & Clark, 1997; Richardson, 2001).

Os microrganismos afetam diretamente a habilidade das plantas em adquirirem P do solo por meio de vários mecanismos. Esses mecanismos incluem: incremento da área superficial das raízes pela extensão do sistema radicular (associações micorrízicas) ou pela promoção do crescimento de raízes laterais e pêlos

radiculares (promoção de crescimento por meio de fito-hormônios); deslocamento do equilíbrio de adsorção, o que resulta numa transferência de íons fosfato para a solução do solo ou incrementa a mobilidade de formas orgânicas de P; e, estímulos de processos metabólicos que são efetivos na solubilização e mineralização do P a partir de formas pouco disponíveis de fósforo inorgânico e orgânico. Esses processos incluem a excreção de íons hidrogênio, liberação de ácidos orgânicos, produção de sideróforos e a produção de enzimas fosfatases que são capazes de hidrolizar o P orgânico (Figura 1).

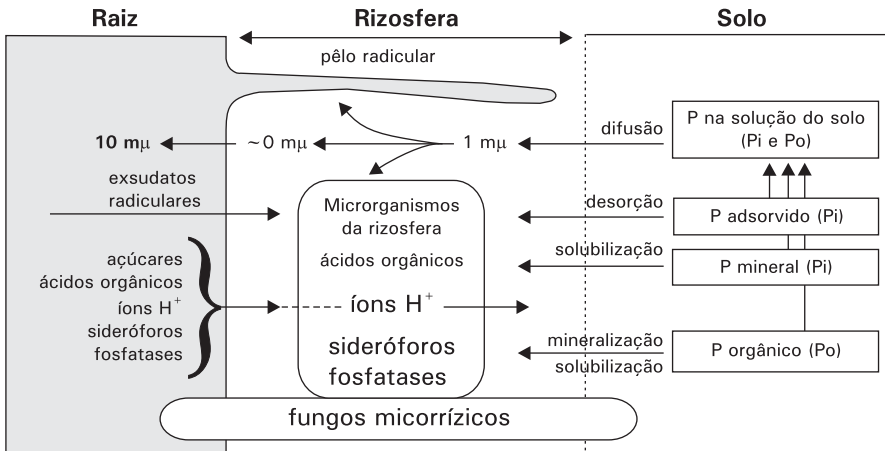


Figura 1. Representação esquemática dos principais fatores fisiológicos, associados às raízes das plantas e microrganismos do solo que influenciam a disponibilidade de P.

Fonte: [Richardson \(2001\)](#).

Os microrganismos envolvidos nos processos de solubilização do P_i excretam ácidos orgânicos e seus prótons associados, que atuam dissolvendo diretamente o material fosfático, ou quelando os cátions que acompanham o ânion fosfato ([Kucey et al., 1989](#); [Richardson, 1994](#)). Dentre esses ácidos, destacam-se os ácidos láctico, glicólico, cítrico, málico, oxálico, succínico e tartárico entre outros ([Kucey et al., 1989](#)).

Para serem utilizadas pelas plantas, as formas orgânicas de P são mineralizadas por microrganismos produtores de enzimas denominadas fosfatases e fitases, que catalizam a hidrólise de ésteres e anidridos de H_3PO_4 ([Schmidt & Laskowski, 1961](#)).

Além dos microrganismos responsáveis pela solubilização do P_i e mineralização do P_o , os fungos micorrízicos arbusculares (MA) também desempenham papel importantíssimo nos processos de suprimento de P para as plantas. Esses fungos atuam como extensões do sistema radicular (aumentando a área de absorção das raízes e a velocidade de absorção do P) e também possuem a capacidade de absorver P de fontes não disponíveis para as plantas ([Bolan, 1991](#)).

Cabe destacar que as plantas também possuem mecanismos capazes de influenciar a disponibilidade do P. Dentre esses se destacam: i) mudanças no pH da rizosfera; ii) liberação de ácidos orgânicos, agentes quelantes e fosfatases; e, iii) modificações morfológicas denominadas raízes proteóides (grupos de raízes extremamente finas e ramificadas) ([Marschner, 1995](#); [Hinsinger, 2001](#); [Dakora & Phillips, 2002](#)).

Apesar da ocorrência praticamente generalizada de vários microrganismos capazes de mineralizar/solubilizar o fósforo no solo, geralmente, seus números não são altos o suficiente para competir com outros organismos presentes na rizosfera. Sendo assim, o P liberado por esses microrganismos, de maneira geral, não é suficiente para uma promoção substancial do crescimento da planta. Entretanto, caso uma série de obstáculos seja superado em condições de campo, a inoculação de plantas com microrganismos selecionados em uma concentração bem maior da que ocorre normalmente nos solos pode fazer com que as plantas recebam mais benefícios da solubilização dos fosfatos ([Rodríguez & Fraga, 1999](#)). A seguir, comentam-se algumas experiências de inoculação com microrganismos responsáveis pela mineralização/solubilização do P, os principais problemas que ocorrem dificultando a obtenção de sucessos com essa prática e as perspectivas para seu uso no futuro.

Utilização de Microrganismos para Aumentar a Disponibilidade de P no Solo

O uso de fosfobacterins

Na década de 1950, foi comercializado, na antiga União das Repúblicas Socialistas Soviética (URSS) e restante do Leste Europeu, um produto denominado fosfobacterin. Esse produto consistia numa mistura de caulim (kaolin) e esporos da bactéria *Bacillus megatherium* var *phosphaticum* e seu principal objetivo era aumentar as taxas de mineralização do P orgânico.

Em solos soviéticos, aumentos médios de produtividade da ordem de 20% foram reportados por Smith et al. (1961), citados por [Kucey et al. \(1989\)](#). Entretanto, esses resultados não foram confirmados por Smith et al. (1962) citados por [Kucey et al. \(1989\)](#), em vários experimentos conduzidos em diferentes localidades nos EUA (Alaska, Minnesota, North Dakota, Texas). Por se tratar de um produto que visava à mineralização do P_o em vez da solubilização do P_i , esses autores alertaram, inclusive, para o risco de aumento da degradação da matéria orgânica do solo em função da inoculação com *B. megatherium*.

Uma série de dúvidas foi levantada sobre a qualidade dos experimentos com fosfobacterin conduzidos no Leste Europeu. De maneira geral, os resultados descritos na literatura da década de 1950 sobre o uso do fosfobacterin são inconsistentes e contraditórios, o que pode ser atribuído à má elaboração dos experimentos e interpretação dos resultados e também devido à inobservância de princípios estatísticos (Mishutin & Naumova, 1965, citados por [Brown, 1974](#); [Kucey et al., 1989](#)). Embora tenha sido sugerido que o principal modo de ação do fosfobacterin fosse o aumento nos níveis de mineralização de P_o , esse, no campo, nunca foi esclarecido.

O uso do “biosuper”

O uso de uma mistura contendo fosfato de rocha, enxofre em pó e bactérias capazes de oxidar S pertencentes ao gênero *Thiobacillus* foi preconizado por Swabi (1975) citado por [Kucey et al. \(1989\)](#). A mistura continha uma porção de S em pó para cinco porções de fosfato de rocha e foi comercializada com o nome BIOSUPER. A principal idéia era que a oxidação do S pelas bactérias *Thiobacillus* levaria à formação de H_2SO_4 que aumentaria a solubilidade dos fosfatos de rocha, aumentando, dessa forma, a quantidade de P-disponível para as plantas. Misturas de fosfato de rocha e enxofre elementar já eram preconizadas desde o início do século 20 (Lipman & Mac Lean 1918, citados por [Kucey et al., 1989](#)). A novidade da proposta do “Biosuper” consistiu na adição das bactérias do gênero *Thiobacillus*, como uma forma de superar as baixas populações nativas de bactérias capazes de oxidar o S encontrado em alguns solos de regiões temperadas. Depois de uma série de estudos conduzidos com esse produto, na Austrália e Nova Zelândia, concluiu-se que seu uso foi insatisfatório para culturas anuais como trigo (Whitehouse & Strong, 1977, citado por [Kucey et al., 1989](#)), apresentando, porém, boas possibilidades de sucesso em pastagens tropicais (Rajan & Edge, 1980; Rajan, 1981, 1982; citados por [Kucey et al., 1989](#)). [Kelly & Wood \(2000\)](#) reclassificaram as

espécies do gênero *Thiobacillus* em três novos gêneros: *Acidithiobacillus*, *Halothiobacillus* e *Thermithiobacillus*.

Semelhantemente ao já discutido para o fosfobacterin, os resultados obtidos com “biosuper” também são contraditórios. Por exemplo, Lee & Bugyaraj (1986) citados por [Kucey et al. \(1989\)](#) observaram, num experimento conduzido em casa de vegetação, que a adição da bactéria *Thiobacillus* promoveu redução no crescimento das plantas. Também se questionou a eficiência do “Biosuper” em relação ao uso de misturas contendo somente S e fosfato de rocha (sem a inoculação com as bactérias) em solos que já continham populações ativas de bactérias capazes de oxidar S ([Kucey et al., 1989](#)).

No Brasil, ([Stamford et al., 2003](#)) testaram biofertilizantes também baseados em misturas de fosfato natural de Gafsa, enxofre (5%, 10%, 15% e 20%) e *Acidithiobacillus*, avaliando seus efeitos, em casa de vegetação, nos solos alcalinos do Nordeste. A comparação dos tratamentos com inoculação de *Acidithiobacillus* + fosfato natural + 20% de enxofre e sem inoculação + fosfato natural + 20% de enxofre revelou que a inoculação com *Acidithiobacillus* promoveu um aumento da concentração de P-Mehlich no solo, não se constatando diferenças estaticamente significativas entre os dois tratamentos em relação à produção de matéria seca e aos teores de N e P da parte aérea da leguminosa jacatupé (*Pachyrizus erosus*), utilizada como planta-teste.

Inoculação do solo com microrganismos solubilizadores de P

Existe, na literatura, grande quantidade de experimentos em que se tentou aumentar a disponibilidade de P_i por meio da inoculação com bactérias (ex: *Acidithiobacillus*, *Bacillus* spp.) e fungos (ex.: *Penicillium* spp.) solubilizadores de fosfato. A maioria desses experimentos foi conduzida em laboratório e casa de vegetação. Na excelente revisão de literatura sobre esse assunto feita por [Kucey et al. \(1989\)](#), esses autores fizeram um levantamento de alguns dos trabalhos existentes até aquela data. Do total de 20 trabalhos analisados, apenas cinco foram realizados em condições de campo. Entre esses cinco trabalhos, em quatro, foram obtidos aumentos do peso de planta (Datta et al., 1982; [Gaur et al., 1980](#); [Kucey, 1987, 1988](#)). Em dois, além de aumentos no peso das plantas, também foram observados incrementos no rendimento de grãos ([Kucey, 1987, 1988](#)).

Dentre os vários microrganismos testados, destaca-se o fungo *Penicillium bilaji*. O potencial desse fungo para solubilização do P_i, por meio da produção e liberação de ácidos orgânicos, tem sido estudado extensivamente pelo grupo canadense liderado por Kucey ([Kucey, 1983, 1987, 1988](#); [Asea et al., 1988](#)).

O fungo *P. bilaji* foi isolado a partir de uma seleção realizada em meio de cultura contendo fosfato de Ca precipitado ([Kucey, 1983](#)). A capacidade de solubilizar o P_i era detectada pela produção de halos claros ao redor das colônias. Nesse estudo, foi observado que vários microrganismos selecionados perderam sua capacidade de solubilização depois de várias transferências em meio de cultura, sugerindo baixa estabilidade genética dessa característica. Dentre os vários estudos conduzidos com *P. bilaji*, destaca-se um experimento de campo usando trigo (*Triticum aestivum*) como planta teste ([Kucey, 1987](#)). Para a produção do inoculante, o fungo foi crescido em palha de trigo sob condições estéreis. O inoculante foi aplicado manualmente na proporção de uma grama por cada metro da linha de plantio. O tratamento com adição de 20kg de fosfato de rocha Idaho + *P. bilaji* + palha apresentou níveis de produtividade de grãos (*Triticum aestivum*) e de absorção de P, equivalentes aos obtidos com fosfato monoamônico.

A nomenclatura desse fungo foi alterada sendo o atual nome *Penicillium bilaii* (Legget et al., 1993, citado por [Richardson, 1994](#)). A patente foi registrada e o fungo está sendo comercializado com o nome JumpStart (antigo Provide™) pela empresa canadense Philom Bios Incorporation ([Richardson, 2001](#)). JumpStart é um inoculante aplicado nas sementes e seu uso está registrado para trigo, canola, mostarda, alfafa, lentilha e ervilha.

Em vários países, é possível encontrar registros de produtos como o JumpStart. Na Austrália, o *Penicillium radicum* é comercializado como Pr70 pela companhia SGB da Austrália, tendo mostrado bons resultados ([Richardson, 2001](#)). Outro exemplo é o EM ("effective microorganisms" -EM Technologies, Inc.), um inoculante misto que contém bactérias que produzem ácido láctico atuando como agentes que permitem solubilização do fosfato mineral, utilizado em vários países, inclusive, no Brasil.

No Brasil, a solubilização de diferentes tipos de fosfato pelo fungo *Aspergillus niger* usando vinhaça como substrato foi avaliada em condições de laboratório ([Cerezine et al., 1988](#); [Nahas et al., 1990](#); [Nahas & Assis, 1992](#)). Depois de

um período de 13 dias de crescimento em meio de cultura, observou-se a produção de $1,2 \text{ g.L}^{-1}$ de fosfato solúvel, para cada 5 g.L^{-1} de fluorapatita adicionada (Nahas et al., 1990). Fosfatos de rocha de diferentes origens influíram na capacidade solubilizadora do fungo (Nahas & Assis, 1992). Demonstrou-se que a acumulação de formas solúveis de fosfato estava relacionada à produção de ácidos orgânicos e subsequente redução de pH do meio de cultura (Cerezine et al., 1988). Nahas et al. (1994) também isolaram alguns microrganismos solubilizadores de fosfato usando um meio de cultura contendo K_2HPO_4 . Em 13 diferentes tipos de solo, verificou-se, por meio de contagens em meio de cultura, que do total de bactérias de cada solo, 7,1% a 55,6% solubilizaram fosfato. O número de fungos solubilizadores variou de 6,1% a 47,4% da população fúngica total de cada solo.

O potencial de solubilização de fosfatos por fungos e bactérias na presença de fontes de carbono, nitrogênio, ferro, cálcio e potássio foi avaliado nos estudos de Silva-Filho & Vidor (2000, 2001). Foram testados 57 isolados provenientes de amostras de solos de pomares (macieira, pessegueiro, videira) e florestas (*Pinus* e *Eucalyptus*) de Santa Catarina, dos quais 56 formaram halos de solubilização na presença de fosfato de cálcio, cinco na presença de alumínio e nenhum foi capaz de solubilizar fosfato de ferro. A solubilização só ocorreu na presença de carbono adicionado ao meio destacando-se xilose, glicose, frutose e sacarose (Silva-Filho & Vidor, 2000). Em relação às fontes de N, Fe, Ca e K os testes foram efetuados com 21 desses isolados, observando-se que o crescimento e a atividade solubilizadora variaram em função do tipo de microrganismo e dos fatores nutricionais, sugerindo que o processo de solubilização ocorre com eficiência variável e que existem diferentes mecanismos de solubilização (Silva-Filho & Vidor, 2001). Mais recentemente, Silva Filho et al. (2002), em condições de laboratório, com os isolados provenientes das florestas de *Pinus* e *Eucalyptus*, revelaram que quatro desses isolados estavam qualificados para um programa de seleção visando à inoculação controlada.

Fatores limitantes ao uso da inoculação com microrganismos solubilizadores de fosfato

Embora a estratégia baseada na seleção e na identificação de microrganismos com bom potencial de solubilização de P_i e/ou mineralização de P_o , visando a sua inoculação no campo seja uma alternativa para aumentar a disponibilidade dos níveis de P para as plantas, alguns fatores devem ser considerados.

Dentre as barreiras para o sucesso da inoculação no campo, destaca-se a dificuldade para o estabelecimento dos microrganismos solubilizadores de P na rizosfera das plantas e no solo ([Richardson, 1994](#); [van Veen, 1997](#)). Por exemplo, o sucesso obtido com a inoculação de bactérias do gênero *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* deve-se ao fato de que essas bactérias são capazes de estabelecer uma simbiose com a planta hospedeira, possuindo dessa forma uma vantagem ecológica seletiva sobre os demais microrganismos presentes no solo. [Leung et al. \(1994\)](#) e [Mendes \(1997\)](#) demonstraram que, no caso do rizóbio, essa vantagem existe mesmo entre serogrupos dessa bactéria, ou seja, alguns serogrupos de *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*, são multiplicados seletivamente na rizosfera do trevo em detrimento de outros. No trabalho de [Leung et al. \(1994\)](#), observou-se que a relação R/NR (solo rizosférico/solo não rizosférico) de vários serogrupos de rizóbio variou entre 10.5 e 442, enquanto [Mendes \(1997\)](#), reportou valores entre 2.8 e 41.

No caso dos microrganismos solubilizadores de fosfato, a aparente falta de especificidade entre esses microrganismos e as plantas, constitui um dos principais fatores limitantes ao sucesso da inoculação ([Kucey et al., 1989](#); [Richardson, 1994](#)). Esse problema pode ser minimizado pelo uso de inoculantes com um número bastante elevado de células ativas e do uso de microrganismos capazes de estabelecerem-se prontamente na rizosfera das plantas. Aspectos relacionados ao local de aplicação do inoculante (via sementes e/ou na linha de semeadura) também devem ser levados em consideração.

O solo é um ambiente extremamente complexo e também apresenta um poder tamponável em relação aos fatores bióticos, minimizando os efeitos da introdução de novos organismos (resiliência). De acordo com [van Veen \(1997\)](#), a resistência à introdução de organismos deve-se a vários fatores bióticos e abióticos, tais como: predação por protozoários e competição com as populações indígenas por substratos orgânicos e por locais no solo onde os microrganismos possam estar protegidos contra o ataque de predadores. Dentre os fatores abióticos responsáveis pelo declínio das populações bacterianas introduzidas nos solos, destacam-se principalmente: textura, tipo de argila, temperatura, pH e a disponibilidade de substratos orgânicos.

Um argumento relevante que tem sido levantado em relação à introdução de microrganismos solubilizadores de fosfato no solo, refere-se ao fato de que devido ao modo de ação desses microrganismos (excreção de ácidos orgânicos

capazes de dissolverem P_i ou formação quelatos com os cátions associados aos ânions fosfatos), a quantidade de P solubilizado seria suficiente apenas para suprir as necessidades desses organismos, sendo insuficiente para promover aumentos significativos na quantidade de P disponível para as plantas ([Kucey et al., 1989](#); [Richardson, 1994](#); [Richardson, 2001](#)). Outro fator complicante principalmente no que diz respeito às culturas anuais é a questão da sincronia entre a liberação de fósforo e a absorção pelas plantas, ou seja, não há como garantir que, no momento em que ocorre a liberação do fósforo das fontes inorgânicas, as raízes das plantas estejam presentes para absorvê-lo. Essa é uma das razões pelas quais os fosfatos de rocha são recomendados preferencialmente para pastagens e culturas perenes.

Por fim, é importante considerar uma série de questões técnicas que apesar de não inviabilizarem, dificultam ainda mais o uso da inoculação no campo. [Cook \(1994\)](#) listou algumas dessas dificuldades:

- identificar a estirpe ou combinação de estirpes mais adequada para a inoculação no campo;
- determinar a estabilidade genética desses organismos;
- selecionar o melhor método de produção em massa do inoculante;
- identificar o melhor veículo para o inoculante (inoculante líquido ou sólido) e o melhor método de aplicação do mesmo (via sementes ou na linha de plantio); e,
- escolher as técnicas de manejo que maximizem a eficiência do inoculante.

Perspectivas Futuras e Considerações Finais

Embora alguns resultados promissores tenham sido obtidos por meio da inoculação do fungo *P. bilaii*, cabe destacar que eles foram obtidos em solos com pH elevado e com predominância de fosfatos de Ca. Ainda são desconhecidos os efeitos da inoculação no campo em outras condições climáticas e edáficas, principalmente, em solos tropicais sob Cerrado onde a maior parte do P_i encontra-se adsorvido a óxidos de Fe e Al. Faltam também informações sobre seus efeitos em outras culturas anuais além do trigo, alfafa, mostarda, ervilha, lentilha e canola. Verifica-se ainda a necessidade de mais estudos para se avaliar o potencial de solubilização dos vários tipos de fosfatos naturais existentes no mercado.

Nas condições brasileiras, além dos esforços para selecionar microrganismos com potencial de solubilização de fosfato, também deve-se enfatizar a utilização de microrganismos como bio-reatores em processos de compostagem envolvendo o uso de rochas. Outra linha importante de estudos refere-se à ecologia das populações nativas de microrganismos solubilizadores de P_i já presentes em nossos solos. Dentre as futuras linhas de pesquisa destacam-se: a avaliação do efeito de diferentes práticas culturais, principalmente, da calagem e do uso de diferentes fontes de P sobre essas populações. Outro aspecto a ser avaliado é o comportamento dessas populações sob os principais sistemas de manejo empregados por aqui, entre esses, o plantio direto.

Só a partir do conhecimento da ecologia dessas populações, é que se pode avaliar se haverá benefícios e quais serão os benefícios da inoculação com microrganismos exóticos e/ou nativos capazes de solubilizar o P_i . Também, deve ser mencionada a importância de estudos para avaliar a atividade das fosfatases nos solos e da determinação da quantidade de P imobilizado na biomassa microbiana presente nesses solos. Esses estudos fornecerão subsídios para melhorar a compreensão da importância do P orgânico e da atividade dos microrganismos na ciclagem do P.

É importante ressaltar o papel desempenhado pelas plantas. Além do efeito direto sobre as populações de fungos micorrízicos, promovido pela rotação de culturas, é sabido que algumas plantas como, por exemplo, o guandu (*Cajanus cajan*), possuem a capacidade de solubilizar formas inorgânicas de P_i por meio da liberação de exudatos radiculares ([Ae et al., 1995](#); [Otani et al., 1996](#)).

A manipulação genética de microrganismos já é uma realidade que pode ser aplicada visando à solubilização de fosfatos. Técnicas de engenharia genética podem ser utilizadas para aprimorar certas características, aumentando a capacidade de os organismos solubilizarem o P do solo, aumentando sua habilidade de colonização ou competência rizosférica ([Lugtenberg et al., 2001](#)) e até mesmo criando oportunidades para formação de associações específicas com as plantas ([Bowen & Rovira, 1999](#)). [Rodríguez et al. \(2002\)](#) transferiram o gene da fosfatase (*napA*) da bactéria do solo *Morganella morganii* para uma estirpe de *Burkholderia cepacia* (IS-16) utilizada como inoculante. Com isso, foi obtido aumento significativo da atividade extracelular da fosfatase nessa estirpe. Esses mesmos autores transferiram alguns dos genes responsáveis pela solubilização do P_i de diferentes espécies de bactérias (por exemplo, *Erwinia herbicola*,

Pseudomonas cepacia, *Enterobacter agglomerans*) para células de *Escherichia coli* que ganharam, com isso, a capacidade de hidrolizar o P a partir de substratos de baixa solubilidade.

Como alternativa, microrganismos podem atuar como nova fonte de genes para as plantas. Por exemplo, foi relatado que, quando expresso em raízes de tabaco, o gene bacteriano da citrato sintase aumenta a exsudação desses ácidos orgânicos e incrementa significativamente o acesso das plantas ao P ([López-Bucio et al., 2000](#)). A habilidade das plantas em usar P de fitatos, que é a forma predominante do P_o em muitos solos, tem se mostrado dependente da presença de microrganismos do solo. Quando o gene da fitase do fungo *Aspergillus* foi expresso diretamente nas raízes das plantas, a utilização de P-fitato foi incrementada ([Richardson et al., 2001](#)).

Mesmo que todos esses relatos, concernentes ao uso da engenharia genética, ainda necessitem de validação, principalmente, em ambientes naturais, eles mostram que novas oportunidades realmente existem.

O aumento da disponibilidade de P para as plantas mediante o uso de fontes alternativas desse elemento e da inoculação com microrganismos é extremamente complexo e vai exigir um esforço concentrado de pesquisa. A obtenção de microrganismos com alta capacidade de solubilização de P_i por meio de técnicas convencionais e ou de biologia molecular, não garantirá, por si mesmo, o êxito do programa. O ponto mais crítico será, sem dúvida, a introdução e o estabelecimento desses microrganismos na rizosfera das plantas, no campo, nas mais variadas situações edafoclimáticas.

Referências Bibliográficas

- AE, N.; OTANI, T.; ARIHARA, J. Effects of specific compounds exuded from roots on phosphorus nutrition. In: JOHANSEN, C.; LEE, K. K.; SHARMA, K. K.; SUBBARAO, G. V.; KUENEMAN, E. A. (Ed.). **Genetic manipulation of crop plants to enhance integrated nutrient management in cropping systems-1. Phosphorus: proceedings**. Patancheru, India: ICRISAT, 1995. p. 117-128.
- ASEA, P. E. A.; KUCEY, R. M. N.; STEWART, J. W. B. Inorganic phosphate solubilization by two *Penicillium* species in solution culture and soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 20, p. 459-464, 1988.

BOLAN, N. S. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. **Plant and Soil**, The Hague, v. 134, p. 189-207, 1991.

BOWEN, G. D.; ROVIRA, A. D. The rhizosphere and its management to improve plant growth. **Advances in Agronomy**, New York, v. 66, p. 1-102, 1999.

BRADY, N. C.; WEIL, R. R. **The nature and properties of soils**. 11 ed. New Jersey: Prentice Hall, 1996.

BROWN, M. Seed and root bacterization. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.12, p.181-197, 1974.

CEREZINE, P. C.; NAHAS, E.; BANZATTO, D. A. Soluble phosphate accumulation by *Aspergillus niger* from fluorapatite. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 29, p. 501-505, 1988.

COOK, R. J. Introduction of soil organisms to control root diseases. In: PANKHURST, C. E.; DOUBE, B. M.; GUPTA, V. V. S. R.; GRACE, P. R. (Ed.). **Soil biota management in sustainable farming systems**. Melbourne: CSIRO, 1994. p. 13-22.

DAKORA, F. D.; PHILIPS, D. A. Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. **Plant and Soil**, The Hague, v. 245, p.35-47, 2002.

GAUR, A. C.; MATHUR, R. S.; SADASIVAM, K. V. Effect of organic material and phosphate-dissolving culture on the yield of wheat and greengram. **Indian Journal of Agronomy**, New Delhi, v. 25, p. 501-503, 1980.

GOEDERT, W. J.; SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E. Fósforo. In: GOEDERT, W. J. (Ed.). **Solos dos cerrados: tecnologias e estratégias de manejo**. Planaltina: Embrapa-CPAC; São Paulo: Nobel, 1986. p.129-163.

HINSINGER, P. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. **Plant and Soil**, The Hague, v. 237, p. 173-195, 2001.

KAY, B. D. Rates of change of soil structure under different systems. **Advances in Soil Science**, New York, v. 12, p. 1-53, 1990.

KELLY, D. P.; WOOD, A. Reclassification of some species of Thiobacillus to the newly designated genera Acidithiobacillus gen. nov., Halothiobacillus gen. nov. and Thermithiobacillus gen. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 50, p. 511-516, 2000.

KUCEY, R. M. N. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 63, p. 671-678, 1983.

- KUCEY, R. M. N. Increased phosphorus uptake by wheat and field beans inoculated with a phosphorus-solubilizing *Penicillium bilaji* strain and with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 53, p. 2699-2703, 1987.
- KUCEY, R. M. N. Effect of *Penicillium bilaji* on the solubility and uptake of P and micronutrients from soil by wheat. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 68, p. 261-270, 1988.
- KUCEY, R. M. N.; JANZEN, H. H.; LEGGET, M. E. Microbially mediated increases in plant-available phosphorus. **Advances in Agronomy**, New York, v. 42, p. 199-228, 1989.
- LEUNG, K.; YAP, K.; DASHTI, N.; BOTTOMLEY, P. J. Serological and ecological characteristics of a nodule dominant serotype from an indigenous soil population of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 60, p. 414-424, 1994.
- LÓPEZ-BUCIO, J.; DE LA VEGA, O. M.; GUEVARA-GARCÍA, A.; HERRERA-ESTRELLA, L. Enhanced phosphorus uptake in transgenic tobacco plants to overproduce citrate. **Nature Biotechnology**, New York, v. 18, p. 450-453, 2000.
- LUGTENBERG, B. J. J.; DEKKERS, L.; BLOEMBERG, G. V. Molecular determinants of rhizosphere colonization by *Pseudomonas*. **Annual Reviews of Phytopathology**, Palo Alto, v. 39, p. 461-490, 2001.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2nd ed. London: Academic Press, 1995.
- MENDES, I. C. **Microbiology of soil aggregates recovered from different crop management systems**. 1997. 138 f. Thesis (PhD) - Oregon State University, Corvallis, 1997.
- NAHAS, E. Factors affecting the solubilization of insoluble phosphates. In: INTERNATIONAL MEETING ON MICROBIAL PHOSPHATE SOLUBILIZATION, 1., 2002, Salamanca, Spain. **Abstracts...** Salamanca: [s.n.], 2002. p. 20-22.
- NAHAS, E.; ASSIS, L. C. Solubilização de fosfatos de rocha por *Aspergillus niger* em diferentes tipos de vinhaca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 325-331, 1992.
- NAHAS, E.; BANZATTO, D. A.; ASSIS, L. C. Fluorapatite solubilization by *Aspergillus niger* in vinasse medium. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 22, p. 1097-1101, 1990.

NAHAS, E.; CENTURION, J. F.; ASSIS, L. C. Efeito das características químicas e dos solos sobre os microrganismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 18, p. 49-53, 1994.

NAHAS, E.; CENTURION, J. F.; ASSIS, L. C. Microrganismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases de vários solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 18, p. 43-48, 1994.

OTANI, T.; AE, N.; TANAKA, H. Phosphorus (P) uptake mechanisms of crops grown in soils with low P status: significance of organic acids in root exudates of pigeonpea. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 42, p. 553-560, 1996.

PAUL, E. A.; CLARK, F. E. **Soil microbiology and biochemistry**. San Diego: Academic Press, 1996. 340 p.

RICHARDSON, A. E. Prospects for using soli microorganisms to improve the acquisition of phosphous by plants. **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v. 28, p. 897-906, 2001.

RICHARDSON, A. E. Soil microorganisms and phosphorus availability. In: PANKHURST, C. E.; DOUBE, B. M.; GUPTA, V. V. S. R.; GRACE, P. R. (Ed.). **Soil biota management in sustainable farming systems**. Melbourne: CSIRO, 1994. p. 50-62.

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances**, Oxford, v. 17, p. 319-339, 1999.

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R.; GONZALEZ, T.; BASHAN, Y. Genetic modifications of phosphate solubilizing bacteria to be used as agricultural inoculants. In: INTERNATIONAL MEETING ON MICROBIAL PHOSPHATE SOLUBILIZATION, 1., 2002. Salamanca, Spain. **Abstracts...** Salamanca: [s.n.], 2002. p. 23-24.

SCHMIDT, G.; LASKOWSKI, M. Phosphate ester cleavage (survey). In: BOYER, P. D.; LARDY, H.; MYRBACK, K. (Ed.). **The enzymes**. 2nd ed. New York: Academic Press, 1961. p. 3-35.

SILVA FILHO, G. N.; VIDOR, C. Atividade de microrganismos solubilizadores de fosfatos na presença de nitrogênio, ferro, cálcio e potássio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, p.1495-1508, 2001.

SILVA FILHO, G. N.; VIDOR, C. Solubilização de fosfatos por microrganismos na presença de fontes de carbono. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 24, p. 311-319, 2000.

SILVA FILHO, G. N.; NARLOCH, C.; SCHARF, R. Solubilização de fosfatos naturais por microrganismos isolados de cultivos de *Pinus* e *Eucalyptus* de Santa Catarina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, p. 837-854, 2002.

STAMFORD, N. P.; SANTOS, P. R.; MOURA, A. M. M. F.; SANTOS, C. E. R. S.; FREITAS, A. D. S. Biofertilizers with natural phosphate, sulphur and *Acidithiobacillus* in a soil with low-available P. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 4, p. 767-773, 2003.

TISDALE, S.; NELSON, W. E.; BEATAN, J. D.; HAVLIN, J. L. **Soil fertility and fertilizers**. 5th ed. New York: Mac Millan, 1993.

VAN VEEN, J. A.; OVVERBEEK, L. S.; VAN ELSAS, J. D. Fate and activity of microorganisms introduced into soil. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v. 61, p.121-135, 1997.

Microorganisms and P Availability in Soil: a critical analysis

Abstract – *Cerrado soils are extremely old, highly weathered and depleted in essential nutrients, especially P. For this reason, the addition of P fertilizers is mandatory in order to obtain economical yields of annual crops. Soil microorganisms play a key role in the P cycle. The P immobilized in the soil microbial biomass acts as reservoir of this element. Soil microorganisms also produce enzymes that act in the P mineralization, participate in the solubilization of inorganic phosphorus and are able to form symbiosis with plants, denominated mycorrhiza, enhancing the uptake of this element. In this review we discuss the results of several studies evaluating the use of soil microorganisms to increase P availability in soils, some of the difficulties related to field inoculation and the perspectives for future research.*

Index terms: P-solubilizing microorganisms, microbial biomass P, mycorrhiza, phosphatases.