



**FUNGOS SOLUBILIZADORES DE FOSFATO NA RIZOSFERA DE VIDEIRA (*Vitis
vinifera* L.): OCORRÊNCIA E APLICAÇÃO**

FLAVIA PAIVA COUTINHO

**RECIFE
MARÇO/2012**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS**

**FUNGOS SOLUBILIZADORES DE FOSFATO NA RIZOSFERA DE VIDEIRA (*Vitis
vinifera* L.): OCORRÊNCIA E APLICAÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Biologia de Fungos.

Área de Concentração: Micologia Aplicada

FLAVIA PAIVA COUTINHO

**Orientadora: Profa. Dra. Adriana
Mayumi Yano de Melo**

RECIFE

MARÇO/2012

Coutinho, Flavia Paiva

Fungos solubilizadores de fosfato na rizosfera de videira (*Vitis vinifera* L.): ocorrência e aplicação/ Flavia Paiva Coutinho. – Recife: O Autor, 2012.

89 folhas : il., fig., tab.

Orientadora: Adriana Mayumi Yano de Melo

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas. Biologia de fungos, 2012.

Inclui bibliografia, apêndice e anexo

- 1. Fungos filamentosos 2. Solos teor de fósforo 3. Uva I. Melo, Adriana Mayumi Yano de (orientadora) II. Título**

579.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2012-183

**FUNGOS SOLUBILIZADORES DE FOSFATO NA RIZOSFERA DE VIDEIRA (*Vitis
vinifera* L.): OCORRÊNCIA E APLICAÇÃO**

FLAVIA PAIVA COUTINHO

Data da defesa: 07 de março de 2012.

COMISSÃO EXAMINADORA

MEMBROS TITULARES



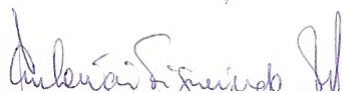
Dra. Adriana Mayumi Yano de Melo (Orientadora)

Universidade Federal do Vale do São Francisco



Dr. Aldo Vilar Trindade – Examinador Externo

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária



Dra. Ana Lúcia Figueiredo Porto – Examinador Externo

Universidade Federal Rural de Pernambuco



Dra. Leonor Costa Maia – Examinador Interno

Universidade Federal de Pernambuco



Dra. Sandra Farto Botelho Trufem – Examinador Externo

Instituto de Botânica do Estado de São Paulo

Comece devagar, porque a direção é mais importante que a velocidade.

Clarice Lispector

Agradecimentos

Uma jornada, uma conquista, uma vitória; para tantos, apenas mais uma; para outros, um desafio vencido, um sonho conquistado nesta trajetória em que se é acometido de tantos momentos de tristeza, incapacidade, incertezas, cansaço, extremo cansaço, mas que eram esquecidos com tantas pessoas ao redor, abraçando a mesma luta ou simplesmente assistindo e torcendo. E por esse grande apoio, os meus sinceros agradecimentos são:

À Deus, que sempre esteve presente, nos menores e maiores sonhos; me permitiu mais esta conquista.

Aos meus pais, Otávio e Dulce, pelo carinho, apoio e acima de tudo por acreditarem em mim, estando presentes em todos os momentos, permitindo sempre que meus sonhos se tornem realidade.

À professora e orientadora Dra. Adriana Mayumi Yano de Melo, pela excelente orientação, dedicação, amizade, compreensão e incentivo, fundamentais para a realização desta tese.

Ao professor Dr. Wagner Pereira Felix, pelas sugestões e assistência em algumas etapas deste trabalho.

À Eliene Matos, pela amizade e por fazer parte desta caminhada.

Aos amigos Jorge Messias, Vinícius Amorim e João Ricardo Oliveira pela amizade e apoio na condução dos experimentos.

Ao meu noivo, Leonardo Costa, por ter sofrido as ausências, impedido as quedas, suportado os desabafos, apoiado e incentivado esta e muitas outras conquistas.

A todos os colegas e amigos não citados, mas não esquecidos, o meu obrigado pelo apoio.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida ao longo deste período de estudos.

À Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Semiárido) e à Fazenda Planaltino (ViniBrasil) pelas facilidades concedidas, viabilizando a realização desta pesquisa.

RESUMO

O fósforo (P) é essencial às plantas, porém em geral os solos brasileiros apresentam baixo teor de fósforo solúvel ($0,03 \text{ mg kg}^{-1} \text{ P}$), tornando necessária a aplicação de altas dosagens de adubos fosfatados. Diversos micro-organismos do solo, incluindo bactérias e fungos, têm a capacidade de solubilizar diferentes formas de fosfatos, aumentando a disponibilidade desse elemento às plantas. Entre os fungos, os micorrízicos arbusculares (FMA) são conhecidos por contribuir para o crescimento das plantas, aumentando a aquisição de P e de outros nutrientes devido à expansão da área de absorção das raízes. Neste estudo foram selecionados isolados de fungos solubilizadores de fosfato (FSP) eficientes em disponibilizar P às videiras (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon), na presença ou não de FMA, em solos com ou sem adição de fosfato de rocha. A partir de solo rizosférico de videiras foram isolados 220 espécimes de fungos solubilizadores de P, sendo 216 *Aspergillus* e quatro *Penicillium*. Destes, dez foram selecionados a partir do índice de solubilização (IS) e testados para avaliação da capacidade de solubilizar, *in vitro*, fontes de fosfato [termofosfato (TEF), superfosfato simples (SFS), fosfato de rocha arad (FRA) e fosfato monoamônico (MAP)]. Foi observado que 10 a 90 % dos espécimes eram potencialmente capazes de solubilizar essas fontes de P e diminuir o pH do meio de cultura líquido. Três espécimes (FSP 39, 145 e 220) foram testados para determinar a dosagem de inóculo adequada para atingir a máxima solubilização de MAP, SFS, TEF e FRA. Estes fungos mostraram máxima solubilização e maiores percentuais de eficiência de solubilização na dosagem de esporos 10^7 mL^{-1} . Em casa de vegetação, 90 dias após a inoculação de videiras com glomerosporos, o tratamento com FMA promoveu incremento significativo na biomassa seca aérea ($0,60 \text{ g planta}^{-1}$), porém a adição de fosfato de rocha anulou este benefício. A aplicação de FSP de forma isolada ($0,40 \text{ g planta}^{-1}$) ou em combinação com FMA ($0,42 \text{ g planta}^{-1}$) resultou em aumento na produção de biomassa seca aérea, diferindo significativamente do controle ($0,21 \text{ g planta}^{-1}$) em solo sem adição de fosfato. Para o teor de nutrientes (N, K e P), as plantas inoculadas diferiram estatisticamente das não inoculadas. Conclui-se que a solubilização *in vitro* de MAP, SFS, TEF e FRA pelos fungos pode constituir alternativa para aproveitamento eficiente dessas fontes de P. Os FMA, isolados ou em combinação com FSP, podem promover maior crescimento das plantas, aumentando o uso eficiente de nutrientes disponíveis no solo e possibilitando redução nas doses de adubação fosfatada.

Palavras-chave: fungos filamentosos; fosfato de rocha arad; termofosfato; superfosfato simples; fosfato monoamônico

ABSTRACT

Phosphorus (P) is essential to plants, but in general, Brazilian soils have low phosphorus levels ($0.03 \text{ mg kg}^{-1} \text{ P}$), requiring the application of high doses of phosphate fertilizers. Various microorganisms in the soil, including fungi and bacteria have the ability to solubilize various forms of phosphate, increasing the availability of this element to the plants. Among fungi, the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are known to contribute to the growth of plants by increasing the acquisition of P and other nutrients due to the expansion of absorption of the roots. In this study, isolates of phosphate-solubilizing fungi (PSF) effective in providing P to the vines (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon) were selected, in the presence or absence of AMF, on soils with or without addition of rock phosphate. From the rhizospheric soil of vines, 220 specimens of P-solubilizing fungi were isolated, being 216 *Aspergillus* and four *Penicillium*. Of these, ten were selected from the solubilization index (SI), and tested to evaluate the ability to solubilize, *in vitro*, phosphate sources [thermophosphate (THP), single superphosphate (SSP), arad rock phosphate (ARP) and monoammonium phosphate (MAP)]. It was observed that 10-90 % of the specimens were potentially able to solubilize these sources of P and to reduce the pH of the liquid culture medium. Three specimens (PSF 39, 145 and 220) were tested to determine the adequate inoculum dosage to achieve maximum solubilization of the MAP, SSP, THP and ARP. These fungi showed maximal solubilization and greater percentages of solubilization efficiency of the 10^7 mL^{-1} spores dose. In the greenhouse, 90 days after inoculation of vines with glomerospores, treatment with AMF promoted significant increase in shoot dry biomass ($0.60 \text{ g plant}^{-1}$), however the addition of rock phosphate annulled this benefit. The application of PSF in isolation ($0.40 \text{ g plant}^{-1}$) or in combination with AMF ($0.42 \text{ g plant}^{-1}$) resulted in increased production of shoot dry biomass, differing significantly from control ($0.21 \text{ g plant}^{-1}$) in soil without addition of phosphate. For the nutrient content (N, P and K), the inoculated plants differed significantly from the uninoculated. It is concluded that solubilization *in vitro* of MAP, SSP, THP and ARP for fungi may constitute an alternative for efficient utilization of these sources of P. The AMF, alone or in combination with PSF, can promote greater plant growth, increasing the efficient use of available nutrients in the soil and allowing reduced doses of P fertilization.

Keywords: filamentous fungi; arad rock phosphate; thermophosphate; single superphosphate; monoammonium phosphate

Lista de figuras

Capítulo 3	Pág.
Figura 1 - Valores médios de biomassa seca ($\text{g } 50 \text{ mL}^{-1}$) e número de esporos ($\times 10^{10}$ esporos mL^{-1}) de isolados de fungos solubilizadores de fosfato (FSP) cultivados em meio GL líquido suplementado com (a) fosfato monoamônico (MAP) e (b) superfosfato simples (SFS), no 10º dia (T4) de incubação.....	44
 Capítulo 4	
Figura 1 - Número de fungos solubilizadores de fosfato isolados da rizosfera de videiras (<i>Vitis vinifera</i> L. cv. Cabernet sauvignon) sem porta-enxerto e sobre dois porta-enxertos (IAC 572 e 101-14), em três fases fenológicas (pós-poda, floração e colheita), na região do submédio do Vale do São Francisco, Petrolina, Brasil.....	50
 Capítulo 5	
Figura 1 - Teor de fósforo (P) no solo inicial e ao final do experimento, aos 90 dias, nos diferentes tratamentos de inoculação, na rizosfera de videira (<i>Vitis vinifera</i> cv. Cabernet sauvignon).....	69

Lista de tabelas

Capítulo 3	Pág.
Tabela 1 - Valores médios de P solúvel, pH e número de esporos em meio de cultivo GL líquido suplementado com fosfato monoamônico (MAP) e inoculado com isolados de fungos solubilizadores de fosfato (FSP), em diferentes épocas de avaliação.....	42
Tabela 2 - Valores médios de P solúvel, pH e número de esporos em meio de cultivo GL líquido suplementado com superfosfato simples (SFS) e inoculado com isolados de fungos solubilizadores de fosfato (FSP), em diferentes épocas de avaliação.....	43
 Capítulo 4	
Tabela 1 - Fungos solubilizadores de fosfato (FSP) isolados de solos rizosféricos de <i>vinifera</i> L. cv. Cabernet sauvignon) sem porta-enxerto e sobre dois porta-enxertos (IAC 572 em três fases fenológicas (pós-poda, floração e colheita), em Petrolina/PE, Brasil.....	52
Tabela 2 - Valores médios de P solúvel, pH e biomassa seca em meio de cultivo GL líquido suplementado com fontes de fosfato e inoculado ou não com fungos solubilizadores de fosfato (FSP), após 7 dias de inoculação.....	55
Tabela 3 - Valores médios de P solúvel ($\mu\text{g ml}^{-1}$), pH e biomassa seca ($\text{g } 50\text{mL}^{-1}$) em meio de cultivo GL líquido suplementado com fontes de fosfato e inoculado ou não com diferentes concentrações de fungos solubilizadores de fosfato (FSP), após 7 dias de inoculação.....	57
 Capítulo 5	
Tabela 1 - Área foliar ($\text{cm}^2 \text{ planta}^{-1}$), biomassa seca da parte aérea e radicular (g planta^{-1}) de videira (<i>Vitis vinifera</i> L. cv. Cabernet sauvignon) em resposta aos tratamentos de inoculação, após 90 dias.....	64
Tabela 2 - Incremento da área foliar, biomassa seca da parte aérea e radicular de videira (<i>Vitis vinifera</i> L. cv. Cabernet sauvignon) em resposta aos tratamentos de inoculação, após 90 dias.....	64
Tabela 3 - Colonização micorrízica e número de glomerosporos na rizosfera de videiras (<i>Vitis vinifera</i> L. cv. Cabernet sauvignon) inoculadas com fungos solubilizadores de P e micorrízicos arbusculares, isoladamente ou em combinação, após 90 dias.....	66

Tabela 4 - Teor de potássio (K), fósforo (P) e nitrogênio (N) no tecido da parte aérea e radicular de videira (<i>Vitis vinifera</i> L. cv. Cabernet sauvignon) em resposta aos tratamentos de inoculação, após 90 dias.....	67
Tabela 5 - Incremento do teor de potássio (K), fósforo (P) e nitrogênio (N) no tecido da parte aérea e radicular de videira (<i>Vitis vinifera</i> L. cv. Cabernet sauvignon) em resposta aos tratamentos de inoculação, após 90 dias.....	68

SUMÁRIO

Pág.

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
2.1. Regiões Vitivinícolas Brasileiras e a Vitivinicultura no Semiárido Brasileiro.....	15
2.2. Nutrição e Adubação em Videira.....	19
2.2.1. Importância do fósforo na nutrição das plantas.....	21
2.3. Micro-organismos e transformações biológicas do fósforo no solo.....	26
2.3.1. Mecanismos de solubilização.....	28
2.3.2. Fungos solubilizadores de fosfatos.....	29
3. SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATOS <i>IN VITRO</i> POR <i>Aspergillus</i> spp. E <i>Penicillium</i> spp....	34
Resumo.....	35
Introdução.....	35
Material e métodos.....	38
Resultados e Discussão.....	39
4. SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATOS POR FUNGOS ISOLADOS DE RIZOSFERA DE VIDEIRAS (<i>Vitis vinifera</i> L. CV. CABERNET SAUVIGNON).....	45
Resumo.....	46
Introdução.....	46
Material e métodos.....	48
Resultados e Discussão.....	50
Conclusões.....	58
5. FUNGOS SOLUBILIZADOR DE FOSFATO E MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM MUDAS DE VIDEIRA (<i>Vitis vinifera</i> L. CV. CABERNET SAUVIGNON).....	59
Resumo.....	60
Introdução.....	60
Material e métodos.....	62
Resultados e Discussão.....	63
6. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
APÊNDICE.....	85
ANEXO.....	90

1. INTRODUÇÃO

Entre os elementos essenciais, o fósforo (P), seguido do nitrogênio (N), ocupa posição de destaque para os seres vivos, tendo em vista sua atuação estrutural, funcional e na transferência de energia (Nahas, 1991). A maioria dos solos brasileiros apresenta baixos teores de P total, e a maior parte se encontra sob formas pouco solúveis, indisponíveis para os vegetais (Narloch et al., 2002).

Os micro-organismos solubilizadores de fosfatos (MSP), tais como bactérias, fungos e actinomicetes, desempenham importante papel no suprimento de P para as plantas, sendo que vários grupos apresentam capacidade de solubilizar fosfatos de rocha existentes ou adicionados ao solo (Mendes & Reis Júnior, 2003). Estes micro-organismos podem atuar também sobre os fosfatos de baixa solubilidade, formados após a aplicação de fosfatos solúveis ao solo, otimizando a eficiência da utilização do P (Narloch et al., 2002). A ação solubilizadora tem sido associada principalmente à produção de ácidos orgânicos (Carvalho et al., 2005) e fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* estão entre os mais atuantes nesse processo (Souchie et al., 2005; Souchie & Abboud, 2007; Vassilev et al., 2007; Bojinova et al., 2008).

Outro grupo de fungos que pode contribuir para o aumento na absorção de P do solo compreende representantes do Filo Glomeromycota. Estes, conhecidos como fungos micorrízicos arbusculares (FMA), formam associações simbiotróficas com as raízes da maioria das plantas vasculares contribuindo para o aumento da nutrição e do crescimento das espécies vegetais. Um dos mecanismos para o aumento na aquisição de P é a expansão da superfície alcançada pelas hifas, que se estendem além do sistema radicular da planta hospedeira, demonstrando grande potencial para aplicação na agricultura, visando aumento na produtividade (Colozzi Filho & Cardoso, 2000).

A inoculação com MSP associados ou não a outros micro-organismos benéficos do solo pode aumentar a taxa de crescimento das plantas (Andreazza et al., 2004). Este fato tem despertado a atenção para a utilização desses micro-organismos como inoculante comercial ou no manejo de suas populações como forma de promover melhor utilização do P existente no solo ou daquele adicionado como fertilizante. O uso dos MSP depende do conhecimento de suas características, entre as quais a capacidade de solubilização é uma das mais importantes no processo de seleção e pode variar com o isolado ou espécie de micro-organismo e as condições do ambiente, como solo e temperatura (Silva Filho & Vidor, 2001).

Uma das áreas que demandam mais nutrientes é a fruticultura, que por seu caráter intensivo consome com fertilizante quase 10 % dos custos totais de produção, sendo 6 % destinado à adubação fosfatada (Albuquerque et al., 2009), o que justifica o estudo de práticas alternativas que possibilitem diminuir os custos, sem prejuízo da produtividade e da qualidade dos produtos e do meio ambiente.

Dentre as fruteiras cultivadas no estado de Pernambuco a videira (*Vitis vinifera* L.) é uma das mais importantes em virtude da geração de emprego e renda, contribuindo com 99 % (80 mil toneladas) das exportações de uva no país (Silva et al., 2009). Além da produção de uva de mesa, as áreas com uva para vinhos e sucos têm sido expandidas, o que leva à busca por alternativas para uso eficiente dos fertilizantes fosfatados para videiras varietais.

Inoculantes contendo MSP e FMA podem representar uma opção para aumentar a eficiência da adubação com fosfatos solúveis e diminuir os custos de produção e o desenvolvimento de programas de inoculação com MSP tem mostrado resultados favoráveis (Oliveira et al., 2008; Silva Filho et al., 2002; Souchie & Abboud, 2007). Pesquisas sobre a eficiência desses micro-organismos na solubilização de diferentes fontes de P e no desenvolvimento de videiras constituem potenciais a serem explorados, principalmente nas condições semiáridas.

Neste trabalho é apresentada fundamentação teórica sobre o assunto abordado (Capítulo 2), resultados de experimentos sobre a solubilização de fosfatos por espécimes de *Aspergillus* e *Penicillium* (Capítulos 3 e 4) e os efeitos de fungos solubilizadores de fosfato, na presença ou não de FMA, na promoção do crescimento de videiras (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon), em solos com ou sem adição de fosfato de rocha (Capítulo 5).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1. Regiões Vitivinícolas Brasileiras e a Vitivinicultura no Semiárido Brasileiro

A partir da introdução do cultivo da videira (*Vitis vinifera* L.) no Brasil, ocorrida em 1532, diferentes Estados em muitas regiões chegaram a experimentar e a desenvolver o cultivo e a elaborar vinhos. Contudo, a vitivinicultura ganhou impulso e tornou-se atividade de importância socioeconômica a partir do final do século XIX, com a chegada dos imigrantes italianos, sobretudo no estado do Rio Grande do Sul (Tonietto & Falcade, 2003).

Atualmente, a vitivinicultura brasileira é desenvolvida como atividade economicamente importante nas Regiões Sul, Sudeste e Nordeste, nas quais seis estados se destacam na produção agroindustrial: Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo, Minas Gerais, Bahia e Pernambuco, totalizando 12 regiões vitivinícolas (Serra Gaúcha, Campanha, Serra do Sudeste, Jaguari, São José do Ouro, Rolante, Alto Vale do Rio do Peixe, Urussanga, São Roque, Capão Bonito/São Miguel Arcanjo, Caldas/Andradas e Submédio do Vale do São Francisco) (IBRAVIN, 2010). Essas regiões estão localizadas em áreas de baixas e médias latitudes, com condições bastante diversificadas de altitude, relevo, solo e clima.

Na Região Sul, a videira é cultivada no Planalto das Araucárias (regiões da Serra Gaúcha, do Alto Vale do Rio do Peixe, de Rolante e de São José do Ouro), na Serra Geral (região de Urussanga), no Planalto da Campanha Gaúcha (região da Campanha), na Depressão Central do Rio Grande do Sul (região de Jaguari) e no Planalto Uruguaio-Sul-Rio-Grandense (região da Serra do Sudeste). Uma nova zona de produção junto aos Campos de Cima da Serra está sendo estabelecida na Região de São Joaquim, no estado de Santa Catarina (IBRAVIN, 2010).

Na Região Sudeste, a videira é cultivada no Planalto Sul de Minas Gerais (região de Caldas/Andradas) e no Planalto do Sudeste (região de São Roque e de Capão Bonito/São Miguel Arcanjo), enquanto na região Nordeste, a videira é cultivada no Planalto Nordestino (região do Submédio do Vale do São Francisco) (IBRAVIN, 2010).

As regiões apresentam importância relativa distinta, seja em área cultivada, seja em volume de produção, bem como quanto aos tipos de produtos elaborados, sendo o estado do Rio Grande do Sul o maior produtor nacional. Nesta região, o cultivo de uva atende a produção de vinhos finos, de vinhos de consumo corrente (vinhos comuns), ou de outros derivados da uva e do vinho (González, 2005).

A vitivinicultura vem passando por mudanças significativas em várias partes do mundo, merecendo destaque a emergência de novas regiões produtoras, que apresentam safras cada vez maiores, com rendimento acima da média mundial e produção de uvas de mesa e de vinhos finos de alta qualidade. No Brasil, o excelente desempenho dos vinhedos no semiárido nordestino, a partir de 1980, firmou o Submédio do Vale do São Francisco (VSF) como uma nova fronteira para a expansão da vitivinicultura no mundo, numa condição muito particular, a de produção de uvas e vinhos finos sob condições irrigadas no trópico semiárido (Mello, 2003).

A partir da segunda metade da década de 1980 a atividade frutícola da região do VSF expandiu-se rapidamente, favorecida pelas vantagens comparativas dadas as potencialidades de recursos naturais desta região, em especial das condições de clima semiárido tropical, com temperaturas elevadas, alta insolação e grande disponibilidade de água de excelente qualidade para irrigação (Tonietto & Falcade, 2003). Entre outros fatores que também concorreram para a formação deste pólo frutícola, destacam-se os incentivos fiscais e financeiros e o apoio institucional oferecidos pelo Estado, assim como a ação do setor público com estudos e pesquisas destinados a dotar esta região de uma base científica e tecnológica sólida, que viria apoiar os empreendimentos atuais (Soares & Carvalho Júnior, 2009).

Além disto, a aplicação de tecnologias modernas de agricultura irrigada tem proporcionado produtividades elevadas e frutas de boa qualidade, firmando esta região como importante pólo (ou dipólo Petrolina/Juazeiro) de produção de frutas no cenário nacional, voltado tanto para o mercado interno quanto para o externo (Carneiro & Coelho, 2007). Neste sentido, foi fundamental para consolidação do pólo de fruticultura nessa região, o apoio técnico e científico fornecidos pelos centros de pesquisa da Embrapa e das entidades estaduais de pesquisa como o Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) e a Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA), dos órgãos de fomento e de desenvolvimento regional (Codevasf e Sudene), de instituições de apoio, fomento e capacitação – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sertão Pernambucano (IF Sertão-PE *campus* Petrolina) e Universidades – Universidade do Estado da Bahia (Uneb) e Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), entre outras (Silva et al., 2009).

A vitivinicultura na região semiárida vem se destacando no cenário nacional, face aos altos rendimentos alcançados, proporcionados pela alta produtividade e qualidade da uva e de vinhos, resultando na rápida expansão da área cultivada e do volume de produção, tanto

de uva para consumo *in natura* quanto de vinhos (Freund, 2007). Diante disto, a vitivinicultura passou a se destacar como alternativa econômica para a agricultura irrigada do pólo Petrolina/Juazeiro, mesmo nos cenários mais adversos da economia brasileira, como o de estagnação e inflação dos anos 80 e início dos anos 90, dos impactos das variações cambiais ocorridas nos períodos entre 1994 e 1998 e entre 2003 e 2007, os quais não foram capazes de interromper essa tendência de crescimento (IBRAVIN, 2010).

Convém ressaltar a peculiaridade da vitivinicultura da região semiárida nordestina, em virtude da adaptação e do comportamento fisiológico diferenciado de diversas cultivares às condições edafoclimáticas. Os processos fisiológicos são acelerados, podendo a primeira safra ser obtida em cerca de um ano após o transplântio das mudas (Tonietto, 2009). Considerando-se que o ciclo produtivo da videira pode oscilar entre 90 e 130 dias, dependendo da cultivar pode-se obter até duas safras e meia por ano, mediante a adequação das técnicas de produção. Desta forma, a partir do manejo e programação das safras é possível produzir uvas durante todo o ano, bem como alcançar produtividades maiores que $30 \text{ t ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, tanto para uvas destinadas para o consumo *in natura* quanto para a produção de vinhos finos e sucos concentrados, superando as obtidas nas demais regiões produtoras brasileiras (BRDE, 2005; Carneiro & Coelho, 2007).

Por outro lado, a readequação das técnicas de produção também permite programar a colheita, que no caso das uvas para o consumo *in natura* é realizada nos períodos de entressafra do mercado internacional, quando os preços apresentam-se mais elevados. O escalonamento da produção de uvas, especialmente para vinhos finos, possibilita a construção de plantas industriais de menor porte, sem prejuízos para a produção anual. São peculiaridades que tornam a vitivinicultura uma atividade com menor grau de incerteza e de elevada rentabilidade econômica para os vitivinicultores do VSF (Pereira et al., 2009).

No período de 1991 a 1997, enquanto a área cultivada e a produção de uva no Brasil cresceram em ritmo muito lento ou permaneceram praticamente estagnadas e com tendência de declínio em algumas regiões, no semiárido nordestino o crescimento foi significativo, motivado pela expansão agroindustrial. Nesse período, a área cultivada com videira passou de 1.935 ha para 4.368 ha, registrando crescimento da ordem de 14,5 % ao ano, enquanto a produção cresceu a ritmo superior a 20,6 % ao ano, no mesmo período, passando de 37,2 mil para 114,2 mil toneladas. Esse crescimento também foi acompanhado pela elevação da produtividade média da uva desta região, que, no período de 1991 a 1997, passou de $19,2 \text{ t ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ para $26,1 \text{ t ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$. Este binômio melhorou substancialmente a

posição competitiva desta região como produtora de uvas no cenário nacional (BRDE, 2005; Silva & Correia, 2004; Silva et al., 2009).

Atualmente, a área irrigada na região do VSF é de aproximadamente 120 mil hectares. Destes, aproximadamente 12,2 mil hectares são cultivadas com videiras, dos quais 9,9 mil hectares estão em produção, superadas apenas pelas culturas da manga, com 23,3 mil hectares, e da cana-de-açúcar, com 17 mil hectares (Silva et al., 2009)

Em 2006, esta região respondia a mais de 10 % da área cultivada e a mais de 30 % da produção de uva para consumo *in natura* no Brasil (Soares & Carvalho Júnior, 2010). Em 2007, cerca de 80 mil toneladas de uvas para consumo *in natura* foram exportadas na região, o que equivale a 99 % do total de uvas exportadas pelo Brasil (Silva et al., 2009). Em relação à uva para vinhos, a área cultivada no VSF, no ano de 2006, era da ordem de 1.000 ha, dos quais 70 % encontrava-se em produção e 30 % em fase de implantação. Nesse mesmo ano, a região respondia por mais de sete milhões de litros de vinhos finos e espumantes, que correspondiam a cerca de 15 % da produção nacional (Tonietto, 2009).

Esta atividade, iniciada na região a partir de 1980 conheceu expressivo crescimento no final da década seguinte, com a instalação de várias empresas vinícolas. Atualmente, as sete vinícolas em operação produzem cerca de 20 tipos de vinhos (Mello, 2003). Com boa adaptação das principais cultivares de uva utilizadas na elaboração dos melhores vinhos das principais regiões viníferas do mundo, o VSF vem especializando-se em vinhos finos, entre os quais: *Cabernet Sauvignon*, *Syrah*, *Chenin Blanc*, *Moscato Canelli*, além dos espumantes moscatéis. Outros produtos derivados de uva, como suco e passas começam a despontar na região, mas a produção ainda é incipiente (Camargo, 2009).

A cultura da videira reveste-se de especial importância econômica e social para a região do VSF, uma vez que envolve grande volume anual de negócios e se destaca entre as culturas irrigadas com a maior geração de empregos diretos e indiretos (Silva & Correia, 2004). O valor da produção de uva no Nordeste, em 2005, foi de 505,79 milhões de reais, dos quais 97,5 % do volume de negócios foram movimentados pela vitivinicultura do pólo Petrolina/Juazeiro (Carneiro & Coelho, 2007). Esta atividade envolve número significativo de pequenos empreendimentos, seja pela participação de um grande contingente de pequenos produtores, seja pelo expressivo número de ocupações geradas na dinâmica de serviços em torno de inúmeras atividades desenvolvidas ao longo da cadeia produtiva da uva (Carneiro & Coelho, 2007).

A região vinícola do pólo Petrolina/Juazeiro, localizada entre 9° e 10° de latitude sul, é a mais próxima da linha do Equador em todo o mundo (Freund, 2007). Essa produção fora

das tradicionais zonas temperadas representa um novo paradigma setorial e fronteira a ser desbravada, com potencial para a produção de uvas e seus derivados (Siqueira *apud* Silva et al., 2009).

2. Nutrição e Adubação em Videira

As plantas necessitam de dezesseis elementos para o seu desenvolvimento: carbono (C), hidrogênio (H), oxigênio (O), nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), boro (B), cloro (Cl), molibdênio (Mo), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn). O carbono e o oxigênio são obtidos do ar, nas formas de CO₂ e O₂, utilizados nos processos de fotossíntese e respiração, respectivamente. O hidrogênio, assim como o oxigênio, é encontrado na água. Os outros elementos são encontrados no solo sob diversas formas (Bissani et al., 2008).

Portanto, a nutrição mineral é componente chave da produção da videira e o tipo de manejo da cultura pode influenciar a produtividade e a qualidade da uva, determinando o sucesso ou insucesso do cultivo. Além de ser fundamental para a produtividade da cultura, a fertilização é também um dos mais significativos componentes do custo de produção da cultura da videira, perfazendo quase 10 % dos custos totais, sendo 6 % destinado à adubação fosfatada. Embora a correção do solo e a adubação possam afetar a disponibilidade de nutrientes do solo, em muitos casos estas práticas ainda são feitas de forma empírica, sem que se observem as reais necessidades do solo e da cultura (Albuquerque & Dechen, 2000; Albuquerque et al., 2009).

Independentemente dos outros fatores de produção, tais como irrigação, manejo da cultura e tratamentos fitossanitários, as adubações devem ser realizadas com base em uma análise criteriosa das condições de solo e das exigências da cultura da videira, para que se obtenham produtividades elevadas e uvas com excelente qualidade (Souza, 2008). Adubações com doses excessivas e formulações inadequadas às necessidades do cultivo podem ocasionar desequilíbrios, com excedentes de nutrientes no solo causando, em consequência, degradação do ambiente e queda da produtividade dos vinhedos. Por outro lado, adubações abaixo das necessidades da cultura não oferecem as condições necessárias para a obtenção de produtividades rentáveis (Albuquerque, 2007; Borges et al., 2003). Para se ter sucesso em qualquer exploração agrícola é necessário otimizar os fatores de produção, levando-se em conta que a produção de uvas de qualidade é decorrente, em grande parte, da nutrição equilibrada das videiras, o que representa quantidades de

nutrientes suficientes e satisfatórias para atender às necessidades de desenvolvimento vegetativo e de produção (Albuquerque & Dechen, 2000; Peres, 2009).

O estado nutricional da videira é bastante influenciado pelo porta-enxerto e está condicionado a outros fatores, tais como a qualidade produtiva do solo, que inclui características físicas, químicas e biológicas, e as exigências nutricionais da cultivar produtora considerada, se para vinho ou para a mesa (Leão et al., 2009)

As quantidades de macro e micronutrientes extraídos do solo pela cultura da videira podem apresentar grande variação (7,7 a 156 kg ha⁻¹ de N; 1,3 a 28 kg ha⁻¹ de P; 10,2 a 192 kg ha⁻¹ de K; 10 a 146 kg ha⁻¹ de Ca; 3,5 a 39 kg ha⁻¹ de Mg; 17 a 380 kg ha⁻¹ de B; 25 a 910 kg ha⁻¹ de Cu; 250 a 2000 kg ha⁻¹ de Fe; 13 a 4093 kg ha⁻¹ de Mn; 20 a 585 kg ha⁻¹ de Zn) (Albuquerque, 2007). Dependendo dos teores de nutrientes no solo é necessário que seja feita uma adubação complementar, visando o não comprometimento da produtividade da videira e da qualidade da uva (Bissani et al., 2008).

Na prática, para a correta adubação dos vinhedos é preciso que se utilize as análises químicas do solo e do tecido vegetal como ferramenta de diagnóstico das necessidades de nutrientes tanto para o solo como para o cultivo. Porém, as quantidades de N, P e K recomendadas para adubação de plantio e de crescimento de videira variam em função da cultivar, uva de mesa ou de vinho (Quadro 1) (Albuquerque et al., 2009).

A videira pode ser cultivada em praticamente todas as classes de solo. Deve-se, entretanto, evitar solos rasos, extremamente arenosos ou argilosos, solos com camada adensada ou compactada, mal drenados e contendo teores relativamente altos de sais solúveis e sódio trocável (Santos et al., 2009)

Os solos do VSF, de uma maneira geral, são de baixa fertilidade natural, caracterizada por baixos teores de matéria orgânica (MO), que está em torno de 10 g kg⁻¹, resultando em baixos teores de N e P. Os teores de Ca, Mg e K podem variar de baixo, nos neossolos quartzarênicos, a alto, nos vertissolos. Quanto aos micronutrientes, têm sido observadas deficiências de B e Zn, com possibilidade de ocorrer também deficiência de Mo (Faria et al., 2007).

No VSF, as principais unidades de solo onde se realiza o cultivo da videira são: latossolo amarelo e latossolo vermelho-amarelo: solos de textura arenosa com baixos a médios valores de bases trocáveis (Ca, Mg e K) e baixos valores de P, N, MO e alumínio trocável; argissolo amarelo e argissolo vermelho-amarelo: solos de textura arenosa a franco-arenosa com baixos a médios valores de bases trocáveis e baixos teores de MO, N e P; vertissolo: solo de textura argilosa com argila expansiva e predomínio de Ca e teores de

MO, N e P muito baixos; luvissolo: solo de textura franco-arenosa a argilosa com altos valores de bases trocáveis e baixos teores de MO, N e P; neossolo quartzarênico: solo profundo com mais de 90 % de areia e baixos teores de Ca, Mg, K, N, P e MO; neossolo flúvico: que apresenta grande variação nas características físico-químicas e onde os teores de MO, N e P variam de médios a altos (Santos et al., 2006; Santos et al., 2009).

A produtividade média de uvas no VSF é variável com a cultivar e está em torno de 27 t ha⁻¹ano⁻¹, com potencial para 30 t ha⁻¹ano⁻¹, considerando-se apenas um ciclo produtivo por ano. Em algumas cultivares, a produtividade pode chegar a 50 t ha⁻¹ano⁻¹, considerando-se duas safras anuais e dependendo do nível tecnológico adotado pelo vitivinicultor, bem acima das obtidas (30 t ha⁻¹ano⁻¹) nas demais regiões produtoras brasileiras. Mesmo em solos muito arenosos e de baixa fertilidade é possível alcançar alta produtividade (30 a 40 t ha⁻¹ano⁻¹), desde que sejam adotadas tecnologias adequadas para tais condições (Albuquerque, 2009).

2.1. Importância do fósforo na nutrição das plantas

Dentre os nutrientes essenciais, o fósforo é um dos mais importantes para as culturas e estimativas recentes apontam que no planeta 5,7 bilhões de hectares apresentam concentrações de fósforo (P) insuficientes para sustentar o potencial produtivo das culturas agrícolas (Mendes & Reis Júnior, 2003). A baixa disponibilidade desse elemento para as plantas é devido à grande reatividade e à alta taxa de retenção de seus íons, relacionados a numerosos constituintes do solo (Hinsinger, 2001).

A aplicação de fertilizantes fosfatados tem sido utilizada para suprir a deficiência de fósforo; porém, quando fontes solúveis de P são adicionadas ao solo, esse elemento pode ficar adsorvido na superfície dos colóides ou convertido a compostos muito pouco solúveis de ferro (Fe) e alumínio (Al). Isso contribui para o baixo nível de eficiência (10 – 25 %) dos adubos fosfatados aplicados ao solo e para superar esse entrave, doses relativamente elevadas de fertilizantes são necessárias para alcançar a produção e o retorno econômico. 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 em menor utilização de fontes naturais não renováveis (Andrada, 2005; Mendes & Reis Júnior, 2003; Richardson, 2001).

Em geral, os solos brasileiros apresentam baixo teor de P total (1,25 a 3,5 mg kg⁻¹ P) e sendo a quantidade de P solúvel muito baixa (0,03 mg kg⁻¹ P) e em decorrência da alta capacidade de fixação química por componentes do solo, há necessidade de aplicação de

adubos fosfatados em quantidades muito superiores às necessidades das plantas (Andrada, 2005; Gomes et al., 2008). No VSF, os adubos fosfatados utilizados com maior frequência na cultura da videira são os fosfatos naturais reativos (Arad/Israel 33 % de P, Gafsa/Tunísia 27 % de P), termofosfatos (17% de P) e fosfatos solúveis (superfosfato simples 18 % de P, superfosfato triplo 45 % de P, fosfato monoamônico 48 % de P e fosfato diamônico 45% de P) (Albuquerque et al., 2009; Bissani et al., 2008).

Um dos fatores que contribuem para a deficiência do fósforo é a alta taxa de intemperismo dos solos intertropicais, visto que a maior incidência dos raios solares acarreta maior evaporação e, conseqüentemente, maior precipitação pluvial, levando ao aumento da lixiviação de cátions básicos intemperizando e acidificando o solo (Albuquerque et al., 2007).

Os solos que apresentam alto grau de decomposição mineralógica sofrem com a perda de cálcio, magnésio, potássio e sódio. A perda destes elementos favorece o aumento da acidez e a solubilização de alumínio e ferro, que beneficiam as reações de fixação de fósforo, formando precipitados insolúveis (Albuquerque et al., 2009; Gomes et al., 2008).

Outra razão para a deficiência de P nos solos é o fato de a origem do fósforo advir de rochas fosfáticas, relativamente pouco encontradas na natureza (Dakora & Philips, 2002). Ressalta-se, ainda, que as rochas fosfáticas constituem recurso natural relativamente escasso, não renovável e sem sucedâneo (Borges et al., 2003). No Brasil, as rochas fosfáticas são de origem metamórfica e apresentam baixa solubilidade e potencial agronômico quando comparado com rochas de origem sedimentar de outros países. Estima-se que esta fonte no Brasil esgote-se em apenas 50 anos. Em adição, durante sua transformação para fosfatos solúveis há necessidade do emprego de ácidos à base de enxofre não encontrado no país, criando-se uma dependência de mercados estrangeiros (Albuquerque, 2007).

Em solos ácidos, com predomínio de caolinita e de óxidos de ferro e de alumínio, o fósforo aparece combinado, formando fosfatos de ferro e de alumínio, e em solos neutros ou calcários, formando fosfato de cálcio, em elevada concentração, porém com baixa solubilidade (Santos & Rabelo, 2008). O fósforo é encontrado, também, na matéria orgânica, formando compostos tais como: fosfato de inositol, fosfolipídios e ácidos nucleicos. Na solução do solo, o fósforo pode apresentar-se dissociado na forma de íons ortofosfato, derivados do ácido ortofosfórico (H_3PO_4). Em solos ácidos, com pH abaixo de 6, a forma predominante é de $H_2PO_4^-$ e, em solos neutros (pH de 6 a 7) e alcalinos (pH de 7

a 9), predominam as formas de HPO_4^{2-} e PO_4^{3-} (Mendes & Reis Júnior, 2003; Silveira & Freitas, 2007).

Da quantidade de P presente no solo, de 1 a 10 % encontra-se imobilizado na biomassa microbiana, constituindo um reservatório lábil desse nutriente. 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 (Silveira & Freitas, 2007).

Contudo, a quantidade de fosfato solúvel na solução do solo é muito baixa. A concentração mais comum é de $1\mu\text{M}$ ($0,03\text{ mg kg}^{-1}\text{ P}$), que corresponde a teor baixo, porém as plantas absorvem o P principalmente quando estão micorrizadas. Para se ter uma idéia da extensão desses valores, basta compará-los às concentrações de potássio, cálcio e magnésio, respectivamente de 90, 700 e $1.000\mu\text{M}$ (Tisdale et al. *apud* Mendes & Reis Júnior, 2003). Entretanto, a maior parte do teor total de fósforo do solo, ou seja, 95 a 99 % estão na forma insolúvel, inorgânica ou orgânica (Andrada, 2005).

Assim, o solo é constituído por duas frações de P não assimiláveis pelas plantas, uma orgânica (Po) e outra inorgânica (Pi), sendo que o conteúdo da primeira varia de 10 a 50 % do P total do solo (Nahas et al., 1994a).

A fração de Po pode ser encontrada em húmus e materiais orgânicos, que podem ou não estar associados. Dentre as principais formas de Po no solo, destacam-se os inositolis-fosfatos (10 a 50 %), os fosfolipídios (1 a 5 %), os ácidos nucleicos (0,2 a 2,5 %), outros componentes que aparecem em quantidades mínimas e o restante por compostos não definidos. Devido à formação de complexos entre os inositolis-fosfatos e proteínas e também devido à sua adsorção em partículas de argila e óxidos de Fe e Al, essas são as formas orgânicas mais resistentes à ação das enzimas presentes no solo, liberadas pelas raízes e/ou micro-organismos (Nahas et al., 1994a,b; Rodríguez & Fraga, 1999).

A fração mineral (Pi) provém, em sua maioria, da intemperização de rochas contendo apatita. Os compostos fosfatados podem aparecer em combinação com cálcio, principalmente em solos levemente ácidos ou alcalinos, ou com ferro ou alumínio, em solos ácidos. Em solos brasileiros, o P é encontrado em maior quantidade como fosfatos de Al e Fe. A disponibilidade do Pi depende de sua solubilidade que pode ser influenciada pela atividade das raízes das plantas e micro-organismos do solo (Nahas, 1991; Nahas et al., 1994b).

Além dos compostos mencionados, muitos outros de menor importância podem existir no solo ou se formar pela adição de fosfatos solúveis. O P_i pode aparecer também ligado à fração argila, húmus ou a outras frações orgânicas (Almeida, 2005).

Diferentes grupos de micro-organismos podem participar da transformação dos nutrientes, propiciando a mineralização de compostos orgânicos de fósforo, a solubilização de componentes minerais insolúveis e a formação de associações com as raízes das plantas. Dentre os grupos de micro-organismos, os solubilizadores de P, constituídos por bactérias e fungos, favorecem a solubilização de compostos insolúveis de fósforo e atuam no transporte dele para dentro das plantas.

Desde o início do século XX e principalmente a partir da década de 1950, cientistas têm estudado formas de aumentar o teor de P disponível 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-micro-organismo são complexas e, com poucas exceções, têm se mostrado de difícil manejo (Gomes, 2008; Richardson, 2001).

Portanto, oportunidades para a exploração de processos microbiológicos que favorecem a mobilização/disponibilização do P melhoram com o conhecimento dos processos envolvidos no ciclo desse elemento e o entendimento sobre fatores que interferem na fisiologia/ecologia dos micro-organismos envolvidos (Silveira & Freitas, 2007).

O processo de solubilização ocorre principalmente devido à ação de micro-organismos do solo, mas por meio dos exsudatos radiculares produzidos pelas plantas os fosfatos inorgânicos insolúveis também podem ser transformados em fosfatos solúveis (Osaki, 2008). Esse mecanismo está condicionado à produção de ácidos orgânicos ou inorgânicos que propiciam dissolução direta de fosfatos insolúveis ou a quelação de cátions da molécula. Por sua vez, vários fatores poderão influir na quantidade e qualidade desses ácidos e, por conseguinte, no mecanismo de solubilização ou quantidade de fosfato solubilizada (Silveira & Freitas, 2007).

Quando a matéria orgânica é incorporada ao solo, a população microbiana heterotrófica decompõe as substâncias complexas (carboidratos, lipídeos, proteínas) até compostos simples. À medida que os açúcares simples são metabolizados, inúmeros ácidos orgânicos podem ser secretados como produtos finais de um mecanismo oxidativo

incompleto e que irá promover a solubilização do fosfato mineral (Nahas, 1994b; Osaki, 2008).

Contudo, a qualidade dos ácidos orgânicos secretados é mais importante que a quantidade, dentre eles os mais efetivos são aqueles que têm propriedades quelantes. O ácido orgânico com propriedade quelante apresenta cargas negativas que quimicamente complexam o íon com carga positiva (cálcio, magnésio, ferro, manganês) liberando o ânion fosfato na solução do solo (Nahas, 1991). A produção de ácidos está associada ao crescimento dos micro-organismos, o qual por sua vez está sujeito à disponibilidade de nutrientes, entre eles, o carbono e o nitrogênio. Compostos contendo esses elementos podem ocorrer no solo em decorrência da aplicação de fertilizantes, das transformações da matéria orgânica existente ou da incorporação ao solo (Cunha, 2007).

Uma vez disponível, o P é absorvido pelas plantas, preferencialmente na forma H_2PO_4 , permanecendo nas células como fosfato inorgânico ou é esterificado, formando éster fosfato (açúcar fosfato) ou, ainda, une-se a outro fosfato por meio de uma ligação altamente energética, formando o pirofosfato – P ~P (ATP). O fósforo dentro das plantas está em constante mudança entre essas três formas (Prado, 2009).

Embora no solo o P tenha baixa mobilidade, na planta o fósforo é móvel, translocando-se dos tecidos mais velhos para os tecidos meristemáticos. Sua principal função é a transferência de energia nas rotas metabólicas. Este elemento entra na composição de vitaminas, lecitina, ácidos nucleicos, difosfato e trifosfato de adenosina, que são transportadores de energia no cloroplasto (Hinsinger, 2001; Prado, 2009).

Considerado elemento essencial aos organismos vivos, o fósforo é indispensável aos processos biológicos e não pode ser substituído inteiramente por nenhum outro elemento. O efeito mais visível da sua omissão ou redução é a diminuição substancial do crescimento (Nahas, 1991). Além da redução do crescimento e da produção, a deficiência de fósforo acarreta menor perfilhamento, comprometimento da floração e da granação dos frutos e atraso na maturação (Peres, 2009).

Os efeitos constatados nos diferentes processos vitais (estrutural, funcional e armazenamento e transferência de energia) são decorrentes das funções do fósforo. No processo estrutural, o fósforo está presente em todas as células fazendo parte de fosfolípidios, ácidos nucleicos, carboidratos e compostos relacionados, e indiretamente participa da síntese de outros polímeros como as proteínas. No processo funcional, o P participa de inúmeras coenzimas (nicotinamida-nucleotídeo, riboflavina-fosfato, tiamina-pirofosfato, piridoxal-fosfato, piridoxamina-fosfato, coenzima B12 e coenzima A) que

atuam como cofatores de enzimas, as quais catalisam diferentes reações biológicas (Luiz, 2008; Nahas, 1991).

No armazenamento e transferência de energia, as células precisam de energia para funcionar, nos organismos fotossintéticos, a energia é propiciada pela luz solar, enquanto que nos organismos heterotróficos e bactérias autótrofas, a energia provém de moléculas orgânicas e inorgânicas do ambiente, respectivamente (Silveira & Freitas, 2007; Prado, 2009). Dentro da célula, essas formas de energia são transformadas em energia química de adenosina-trifosfato (ATP), que funciona como transportador entre os compostos fosfatados de alta energia, produzidos pela quebra dos polímeros, e as substâncias receptoras de fosfato que, dessa forma, se tornam carregadas de energia (Dakora & Philips, 2002).

Algumas substâncias como fosfocreatina, fosfoarginina e polimetafosfato servem para armazenar energia dentro da célula. O polimetafosfato é encontrado em micro-organismos com o nome de volutina, e é um polímero linear de tamanho indefinido que se acumula na célula na forma de grânulos insolúveis. A quebra da célula por fosfatases específicas libera grupos fosfato de alta energia (Nahas, 1991).

3. Micro-organismos e transformações biológicas do fósforo no solo

Diversos micro-organismos desempenham importante papel na ciclagem do P no solo; dentre estes destacam-se os envolvidos nas associações micorrízicas e os solubilizadores de fosfatos (Richardson, 2001).

Uma parcela expressiva dos micro-organismos do solo, incluindo bactérias (*Agrobacterium*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Brevibacterium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Sarcina* conforme Vazquez et al., 2000; Stamford et al., 2003; Souchie et al., 2005; Chen et al., 2006; Zhu et al., 2007; Stamford et al., 2009), fungos (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* e *Trichoderma* segundo Omar, 1998; Vassileva et al., 1998; Vazquez et al., 2000; Wahid & Mehana, 2000; Reddy et al., 2002; Wakelin et al., 2004; Rudresh et al., 2005; Zayed & Abdel-Motaal, 2005; Bojinova et al., 2008; Mittal et al., 2008) e actinomicetes (*Micromonospora*, *Nocardia* e *Streptomyces* de acordo com Mason et al., 1990; Hamdali et al., 2008; Ghodhbane-Gtari et al., 2010; Gupta et al., 2010a) possuem capacidade para solubilizar fosfatos como hidroxiapatitas, fluorapatitas, fosfatos de cálcio, ferro e alumínio. Os micro-organismos

podem solubilizar uma ou mais fontes de P e apresentar diferentes potenciais de solubilização para cada fonte (Chabot et al., 1996).

Esses micro-organismos afetam diretamente a habilidade das plantas em adquirir P do solo por meio de vários mecanismos, incluindo: incremento da área superficial das raízes pela extensão do sistema radicular (associações micorrízicas) ou pela promoção do crescimento de raízes laterais e pelos radiculares (promoção de crescimento por meio de fitohormônios); deslocamento do equilíbrio químico de adsorção, o que resulta numa transferência de íons fosfato para a solução do solo ou incremento na mobilidade de formas orgânicas de P; 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 hidrolisar o P orgânico (Nahas, 1991; Richardson, 2001).

Os micro-organismos envolvidos nos processos de solubilização do fosfato inorgânico excretam ácidos orgânicos e seus prótons associados, que atuam dissolvendo diretamente o material fosfático, ou quelando os cátions que acompanham o ânion fosfato. Dentre esses, destacam-se os ácidos láctico, glicólico, cítrico, málico, oxálico, succínico e tartárico, entre outros (Mendes & Reis Júnior, 2003).

Para serem utilizadas pelas plantas, as formas orgânicas de P são mineralizadas por micro-organismos produtores de enzimas como fosfatases e fitases, que catalisam a hidrólise de ésteres e anidridos de H_3PO_4 (Prado, 2009).

Além dos micro-organismos responsáveis pela solubilização do fosfato inorgânico e mineralização do fosfato orgânico, os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) 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), além de possuírem a capacidade de absorver P de fontes não disponíveis para as plantas (Colozzi Filho & Cardoso, 2000).

Cabe destacar que as plantas também possuem mecanismos capazes de influenciar a disponibilidade do P, dentre esses se destacam as mudanças no pH da rizosfera e a liberação de ácidos orgânicos, agentes quelantes e fosfatases (Hinsinger, 2001; Dakora & Philips, 2002).

Embora os micro-organismos solubilizadores de P desempenhem importante papel na mineralização/solubilização do fósforo do solo, geralmente, competem com outros organismos presentes na rizosfera. Assim, o P liberado por esses micro-organismos, em

geral, é insuficiente para promover substancialmente o crescimento da planta (Rodríguez & Fraga, 1999), em virtude disto, programas de inoculação e manejo destas populações no campo devem ser incentivados.

Para a implementação destes programas alguns entraves devem ser superados em condições de campo, dentre estes a seleção de micro-organismos eficientes em promover benefícios às plantas alvo, de forma que níveis populacionais superiores aos que ocorrem normalmente nos solos sejam alcançados e assim maior solubilização dos fosfatos seja obtida (Chagas Júnior et al., 2006).

Portanto, a inoculação de micro-organismos solubilizadores de fosfatos ou o manejo de suas populações tem sido sugerido como forma de minimizar o uso de fertilizantes fosfatados solúveis, mediante melhor aproveitamento das formas naturais existentes ou adicionados ao solo e dos formados pela aplicação de fontes solúveis (Silva Filho et al., 2002).

3.1. Mecanismos de solubilização

A capacidade solubilizadora é frequentemente associada à produção de ácidos, ou seja, com o decréscimo do pH do meio a solubilização do P aumenta (Raij, 2003). O efeito da acidez pode ser dividido em dois componentes: a concentração de íons hidrogênio na solução (pH) e a acidez potencial (acidez titulável). Diversos trabalhos têm demonstrado uma relação linear entre o decréscimo do pH e o fósforo solubilizado (Siqueira et al., 2003; Vitti et al., 2003). No entanto, em outros, a relação é significativa, porém não de forma linear. Mas, ainda há casos em que a solubilização ocorre sem alterações significativas ou ocorre com a elevação do pH (Reddy et al., 2002; Yadav & Tarafdar, 2003). Resultados semelhantes têm sido encontrados quando se comparam as quantidades solubilizadas com a acidez titulável (Vassilev et al., 2006; Barroso & Nahas, 2008). Porém, nem sempre as tendências de pH e acidez titulável em relação ao teor de fósforo solubilizado são coincidentes. Chuang et al. (2007) verificaram que o P solubilizado aumentou com o decréscimo do pH, mas não com o aumento do teor da acidez titulável. Assim, pode-se supor que o efeito da acidez é importante na solubilização de fosfatos mas este, por si só, não explica a totalidade do P solubilizado nas diferentes condições do meio e fontes de P.

Os micro-organismos podem liberar diversos metabólitos que acidificam o meio. Isto se deve ao fato de terem de regular suas atividades, mantendo entre outros o pH interno, a eletroneutralidade e suas rotas metabólicas. A inibição pelo acúmulo de acidez é variável entre os micro-organismos. Cada organismo tem um pH interno e apresenta uma

capacidade diferente de regulação, compatível com a espécie. Em alguns casos, ele pode variar apenas 0,1 unidade, enquanto para outros as alterações de pH podem ser maiores (Bizukoje & Ledakowicz, 2004; Son et al., 2006).

Os micro-organismos podem liberar diferentes tipos de ácidos orgânicos, como ácidos glicólico, 2-ceto glucônico, láctico, cítrico, itacônico, fumárico, oxálico, succínico e tartárico (Fiorucci et al., 2002). A produção de ácidos orgânicos e metabólitos pode variar com as condições do meio, estado fisiológico e tipo de micro-organismo. Diferenças na quantidade de ácidos produzida entre isolados de *Aspergillus niger* Tiegh. foram contatadas por Gharieb & Gadd (1999).

Papagianni et al. (2005) observaram que a composição do meio afeta o crescimento e a produção de ácidos. Gharieb (2000) verificou que *A. niger* produz ácido cítrico em condições de nitrogênio limitante, enquanto a produção de ácido oxálico é promovida quando o carbono é limitante. Quanto às fontes de carbono, Ahuja et al. (2007) verificaram que frutose, galactose, amido e lactose favorecem mais a solubilização que sacarose e manose. Muitas vezes, a quantidade de ácidos orgânicos determinada nos meio de cultura não explica os valores de acidez encontrados e as quantidades de P solubilizado. Illmer & Schinner (1992) encontraram apenas três ácidos orgânicos de um total de 24 testados e concluíram que o mecanismo de solubilização deve ser outro que não a produção de ácidos orgânicos. Eles citam a possibilidade de liberação de H^+ do citoplasma para a membrana externa, que poderia acontecer na troca de cátions (especialmente NH_4^+) ou pelo mecanismo de translocação do H^+ pela ATPase no processo de produção de energia pela hidrólise do ATP. Neste último caso, o fosfato seria solubilizado na superfície da célula.

Além de agirem como acidificantes, os ácidos orgânicos podem formar complexos com cálcio, alumínio e ferro, que dependerão do tipo de ácido, cátion e pH (Nahas & Assis, 1992).

3.2. Fungos solubilizadores de fosfatos

A partir do início do século XX, simultaneamente com o progresso da microbiologia agrícola, Stoklasa atraiu a atenção dos estudiosos da época para o papel que os micro-organismos do solo desempenhavam nas transformações de compostos fosfáticos incorporados ao solo (Eira, 1992). Porém, somente em 1948 Gerretsen confirmou essa hipótese, demonstrando que a nutrição das plantas, a partir de fosfatos insolúveis, é maior em “solos vivos” do que em solos esterilizados (Nahas et al., 1994c).

Posteriormente, vários autores (Sperber, 1958a,b; Casida Jr, 1959; Katznelson et al., 1962; Das, 1963; Sundara Rao & Sinha, 1963; Subba Rao & Bajpai, 1965; Raghu & MacRae, 1966; Bajpai, 1967; Chhonkar & Subba Rao, 1967; Ramos & Callao, 1967; Ahamed & Jha, 1968; Barber, 1968; Ramos et al., 1968; Agnihotri, 1970; Mehta & Logan, 1970; Bardiya & Gaur, 1974; Ralston & McBride, 1976; Nair & Subba Rao, 1977; Barthakur, 1978; Ortuno et al., 1978a,b; Arora & Gaur, 1979; Wani et al., 1979; Gaur et al., 1980; Banik & Dey, 1982; Kucey, 1983; Tuovinem et al., 1983; Venkateswarlu et al., 1984; Surange, 1985; Thomas et al., 1985; Kucey, 1987; Asea et al., 1988; Salih, 1989; Young, 1990; Jones et al., 1991; Cunningham & Kuiack, 1992; Illmer & Schinner, 1992; Illmer et al., 1995) estudaram a influência de populações microbianas no solo, ou culturas isoladas de fungos e bactérias, na liberação ou mobilização de íons fosfato a partir de fosfatos naturais insolúveis.

No Brasil, as pesquisas com micro-organismos capazes de disponibilizar P às plantas tiveram início na década de 60, do século passado, com Carvalho et al. (1969) e Eira & Carvalho (1969, 1970). Porém, os trabalhos nessa área firmaram-se a partir de 1980 com: Nahas et al. (1982, 1990, 1994a,b,c), Sylvester-Bradley et al. (1982), Machado et al. (1983), Nahas & Rossi (1984), Cerezine et al. (1988), Nahas (1989, 1991, 1996), Minhoti et al. (1991), Nahas & Assis (1991, 1992), Barroti & Nahas (2000), Silva Filho & Vidor (2000, 2001), Narloch et al. (2002), Silva Filho et al. (2002), Souchie et al. (2006, 2007), Souchie & Abboud (2007).

Pela análise geral desses trabalhos, observa-se que micro-organismos solubilizadores de fosfatos insolúveis estão presentes em todos os solos e que variam, tanto em número quanto em espécies, em função do tipo de solo, vegetação, pH, temperatura, teor de matéria orgânica, tipo de fosfato e outras variáveis nutricionais do solo e dos meios de cultura utilizados para seu isolamento e avaliação.

Dependendo do tipo de solo, o número de solubilizadores pode variar de 7,1 a 55,6 % do total de bactérias e de 8,1 a 57,9 % do total de fungos (Nahas et al., 1994a). Das comunidades totais de solubilizadores encontrados no solo, algumas espécies têm revelado maior habilidade na dissolução de fosfatos insolúveis (Arora & Gaur, 1979). No semiárido, Coutinho et al. (2010) relataram a ocorrência de 78 espécies de fungos filamentosos na rizosfera de melão (*Cucumis melo* L.) e destes 15 % apresentavam capacidade de solubilizar P (Coutinho et al., 2011).

Dentre os gêneros de fungos mais comumente citados quanto à habilidade de solubilizar o fósforo destacam-se *Aspergillus* e *Penicillium* (Quadro 2). Narsian & Patel

(2000) relataram alta solubilização de fosfatos de rocha (33 % P_2O_5 China; 36,7 % P_2O_5 Senegal; 26,4 % P_2O_5 Índia) por *Aspergillus aculeatus* Iizuka. Posteriormente, Reddy et al. (2002) e Ahuja et al. (2007) encontraram *Aspergillus tubingensis* Mosseray, *A. niger* e *Paecilomyces marquandii* (Masse) S. Hughes solubilizando diferentes fosfatos de rocha (40 % P_2O_5 Foskar; 33,3 % P_2O_5 Jordânia; 32,9 % P_2O_5 Israel; 33,2 % P_2O_5 Marrocos; 34,1 % P_2O_5 Índia), enquanto Achal et al. (2007) registraram *A. tubingensis* como principal solubilizador de fosfatos de rocha (34,1 % P_2O_5) e Vassilev et al. (2007) e Lv et al. (2008) relataram *A. niger* como mais hábil em disponibilizar fosfatos de rocha (12,8 % P_2O_5), fosfato de alumínio ($AlPO_4$), de cálcio ($Ca_3(PO_4)_2$) e de ferro ($FePO_4$).

A alta atividade de *A. niger* foi mencionada por vários autores (Nahas et al., 1994a; Vassilev et al., 1995; Vassileva et al., 1998; Vazquez et al., 2000; Singh et al., 2011). A eficiência de isolados de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Emmericella* na dissolução de fosfatos orgânicos (fitina e glicerofosfato) também foi relatada (Yadav & Tarafdar, 2003), assim como a habilidade de *Aspergillus* e *Penicillium* em solubilizar fosfato de alumínio (16 % P_2O_5) e apatita de Araxá (14 % P_2O_5) (Souchie et al., 2006, 2007; Souchie & Abboud, 2007).

Eupenicillium parvum (Raper & Fennell) Stolk & D.B. Scott, isolado da rizosfera de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, predominou entre os capazes de solubilizar fosfato tricálcico e fosfatos de rochas (Carolina do Norte/EUA e Mussoorie/Índia) (Vyas et al., 2007). Oliveira et al. (2008), Xiao et al. (2008), Chang & Yang (2009), Saber et al. (2009) e Yadav et al. (2011) mostraram a eficiência de *Aspergillus fumigatus* Fresen., *A. niger*, *Aspergillus terreus* Thom, *Penicillium citrinum* Thom, *Penicillium expansum* Link, *Penicillium* sp. e *Talaromyces rotundus* (Raper & Fennell) C.R. Benj. na dissolução de fosfato de cálcio, alumínio, ferro e rocha (China, Egito e Israel), hidroxiapatita, fitato de sódio e lecitina de soja. Recentemente, foi demonstrado o potencial solubilizador de *Aspergillus* sp. e *Absidia* sp. frente ao fosfato tricálcico (Gupta et al., 2010b; Nenwani et al., 2010).

Alguns trabalhos em laboratório e em casa de vegetação relatam a tentativa de aumentar a disponibilidade de fosfato inorgânico por meio da inoculação combinada com bactérias, FSP e FMA. Valissev et al. (1996) relataram que a inoculação combinada com *Glomus deserticola* Trappe, Bloss & J.A. Menge e *A. niger* resultou em maior taxa de crescimento de *Trifolium repens* L. Posteriormente, Omar (1998) registrou maior teor de fósforo e crescimento em plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) adubadas com fosfato de rocha (15,4 % P_2O_5) e recebendo tripla inoculação (*Glomus constrictum* Trappe, *A. niger* e

P. citrinum). Da mesma forma, Babana & Antoun (2006) obtiveram maior rendimento de grãos com alta concentração de P em plantas de trigo adubadas com fosfato de rocha (23-32 % P_2O_5 Tilemsi) e inoculadas com *Glomus intraradices* N.C. Schenck & G.S. Sm., *Aspergillus awamori* Nakaz. e *Pseudomonas* sp.. Um dos mecanismos responsáveis pela melhoria no crescimento das plantas é o aumento na disponibilidade de fosfato solúvel, devido aos fungos solubilizadores na rizosfera e maior absorção de P por fungos micorrízicos arbusculares, como observado por Souchie et al. (2006) em *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. e *Acacia holosericea* (G. Don) A. Cunn. inoculadas com FSP (isolado FSF 7) e FMA [*Glomus clarum* T.H. Nicolson & N.C. Schenck e *Glomus geosporum* (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker], evidenciando o sinergismo entre esses micro-organismos.

A dupla inoculação de *A. niger* e *Trichoderma viride* Pers. em plantas de feijão caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] adubadas com esterco, aumentou significativamente a quantidade de P sóluvel (295 mg L^{-1}) na rizosfera, enquanto a rizosfera de plantas não inoculadas apresentou apenas 120 mg L^{-1} de P solúvel (Zayed & Abdel-Motaal, 2005). Recentemente, em condições de laboratório, a co-inoculação de *Trichoderma harzianum* Rifai e *A. niger* resultou em aumento significativo dos parâmetros de crescimento, incluindo altura e peso seco das partes aérea e radicular (18,2 e 8,6 cm; 10,3 e 8,3 mg) em plantas de grão de bico (*Cicer arietinum* L.) (Yadav et al., 2011).

Por outro lado, Mittal et al. (2008) demonstraram o efeito da inoculação isolada de FSP (*A. awamori*) em plantas de grão de bico (*C. arietinum* L. cv. GPF2) adubadas com fosfato tricálcico, que apresentaram maior crescimento, entre 7-12 % de aumento na altura, quase três vezes mais no número de sementes e duas vezes no peso dos grãos, em relação ao controle não inoculado. Similarmente, Kapri & Tewari (2010) relataram aumento do peso seco da parte aérea (22-33 %) e da raiz (35-60 %) de plantas de grão de bico com outro isolado de FSP (*Trichoderma* sp.) e adição de fosfato tricálcico, quando comparado ao controle sem fungo. As inoculações em solos rizosféricos de trigo (*T. aestivum*) e milho (*Zea mays* L.) com *Penicillium oxalicum* Currie & Thom e fosfato de rocha (31,5 % P_2O_5) melhoraram o rendimento destas plantas, respectivamente, em 42 e 82 % em comparação ao controle não inoculado (Singh & Reddy, 2011). A disponibilidade de P pode variar significativamente entre as fontes de fósforo aplicadas, Saber et al. (2009) verificaram que em plantas de feijão mungo [*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek] houve aumento de P solúvel nas rizosferas inoculadas com *A. niger* e *Penicillium* sp. e adubadas com fosfato tricálcico ($202,3$ e $211,1 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente), fosfato de alumínio ($104,7$ e $82,6 \text{ mg L}^{-1}$), fosfato

de rocha (99,7 e 77,5 mg L⁻¹), fitato de sódio (89,1 e 50,4 mg L⁻¹) e fosfato de ferro (33,7 e 19,9 mg L⁻¹).

Constata-se, portanto, que os micro-organismos solubilizadores de fosfato, associados ou não a outros organismos, constituem uma alternativa para maximizar a utilização do fósforo, tanto do existente no solo como do adicionado na forma de fosfatos naturais.

O processo de seleção de micro-organismos solubilizadores eficientes envolve diversas etapas, incluindo avaliações das populações do solo, obtenção de isolados, testes para avaliação do potencial solubilizador em diferentes fontes de fósforo, em condições de meio de cultura, associados a plantas em casa de vegetação ou no campo. Algumas dessas etapas também são importantes no manejo de populações preestabelecidas, visando o aumento da população e da atividade solubilizadora. Ressalta-se que a inoculação pode introduzir mudanças nas populações do solo, contribuindo para o aumento da disponibilidade de nutrientes e, conseqüentemente, para incremento do crescimento e do rendimento das plantas (Silva Filho & Vidor, 2001; Silva Filho et al., 2002). No entanto, para a maximização do processo de solubilização, há necessidade de mais conhecimento sobre esses micro-organismos, dos mecanismos utilizados e dos fatores que modulam a solubilização.

3. SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATOS *IN VITRO* POR *Aspergillus* spp. E *Penicillium* spp.¹

¹ Aceito para publicação como Coutinho, F.P., Felix, W.P., Yano-Melo, A.M. 2012. Solubilization of phosphates *in vitro* by *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. *Ecological Engineering* 42: 85-89.

3. SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATOS *IN VITRO* POR *Aspergillus* spp. E *Penicillium* spp.

Resumo

O fósforo (P) é um dos nutrientes mais importantes para o desenvolvimento vegetal e na maioria dos solos brasileiros o teor deste elemento é baixo e pouco disponível para as plantas. Os micro-organismos solubilizadores de fosfatos desempenham importante papel no suprimento de P para as plantas, pois apresentam capacidade de disponibilizar fosfatos insolúveis, existentes ou adicionados no solo, pelos processos de acidificação, quelação e reações de troca iônica. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade e o potencial de dez isolados fúngicos em solubilizar superfosfato simples (SFS) e fosfato monoamônico (MAP) *in vitro*, em quatro épocas de avaliação (1º, 4º, 7º e 10º dia após a inoculação). Constatou-se que 90 % desses isolados apresentaram potencial de solubilização do superfosfato simples e fosfato monoamônico no sétimo dia de avaliação, com valores médios 23 % e 22 % superiores ao controle, respectivamente, com redução após esse período. Essa redução pode ser atribuída ao aumento da biomassa fúngica, que acarreta maior captação de fosfato solúvel para o crescimento. Todos isolados, com exceção do FSP 94, solubilizaram as duas fontes de fosfato no 7º dia. Contudo, os isolados FSP 28, em MAP, e FSP 220, em SFS, destacaram-se dos demais por terem os maiores valores de P solúvel (840 e 560 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente). Este é o primeiro relato de solubilização do superfosfato simples e fosfato monoamônico *in vitro* por espécies de *Aspergillus* e *Penicillium*, demonstrando que esses fungos podem servir como solubilizadores destas fontes de fosfato, contribuindo para melhor uso do SFS e MAP e reduzindo os custos com insumos agrícolas e os impactos gerados pelo excesso de adubação fosfatada.

Palavras chave: fungos filamentosos; solubilizadores de P; superfosfato simples; fosfato monoamônico; biomassa

Introdução

Entre os elementos essenciais, o fósforo (P), seguido do nitrogênio (N), ocupa posição de destaque para os seres vivos, tendo em vista sua atuação estrutural, funcional e na transferência de energia (Sharpley 1995; Bissani et al. 2008). Em geral, os solos brasileiros apresentam baixo teor de fósforo total, sendo o conteúdo de fósforo solúvel muito baixo (0,03 mg kg^{-1} P), tornando necessário a aplicação de fosfatos em quantidades muito

superiores às demandas das plantas, em decorrência da grande reatividade e alta taxa de retenção de seus ânions a numerosos constituintes do solo (Mendes e Reis Júnior 2003). Dessa maneira, as formas solúveis são facilmente precipitadas em complexos insolúveis e não são eficientemente absorvidas pelas plantas. Assim, de modo a superar esse entrave, doses excessivas de P são aplicadas para alcançar a produção e o retorno econômico (Vassilev e Vassileva 2003).

Por outro lado, diversos micro-organismos do solo, incluindo bactérias, fungos e actinomicetes, possuem capacidade para solubilizar fosfatos insolúveis, convertendo-os em formas solúveis disponíveis às plantas, por meio de diferentes mecanismos, tais como acidificação, quelação e reações de troca iônica, destacando-se neste caso a produção de ácidos (Rodríguez e Fraga 1999; Sahu e Jana 2000; Whitelaw 2000). Devido ao fato de estes micro-organismos estarem presentes na maioria dos solos, a solubilização de P por meio deles pode constituir em alternativa de menor custo para produção na agricultura (Rajan et al. 1996; Mendes e Reis Júnior 2003).

Uma das áreas que demandam mais nutrientes é a fruticultura, que por seu caráter intensivo, consome com fertilizante quase 10 % dos custos totais de produção (Albuquerque et al., 2009) o que justifica o estudo de práticas alternativas que possibilitem diminuir os custos, sem prejuízo à produtividade e à qualidade dos produtos e do meio ambiente.

Dentre as fruteiras cultivadas no Submédio do Vale do São Francisco (VSF), a videira (*Vitis vinifera* L.) é uma das mais importantes em virtude da geração de emprego e renda, contribuindo com 99 % (80 mil toneladas) das exportações de uva no país (Silva et al., 2009). Além da produção de uva de mesa, as áreas com uva para vinhos e sucos vêm expandindo-se, justificando a necessidade de alternativas para o uso eficiente dos fertilizantes fosfatados. Destes, o fosfato monoamônico (MAP) e o superfosfato simples (SFS) são bastante utilizados na cultura da videira no VSF principalmente por conterem, além de P, nitrogênio (MAP) e cálcio e enxofre (SFS).

Apesar de estas fontes fosfatadas serem solúveis em água (MAP 44 % e SFS 16 % solúveis em água), parte do P pode tornar-se adsorvida à superfície dos colóides ou convertida a compostos muito pouco solúveis, assim estudos com o intuito de otimizar o aproveitamento desses fertilizantes fosfatados adicionados ao solo através da solubilização pelos fungos é desejável, contribuindo para o estabelecimento de um sistema agrícola sustentável, baseado em maior eficiência na utilização de fontes naturais não renováveis.

A solubilização de P por fungos tem sido relatada, destacando-se espécies de *Aspergillus* do grupo *niger* (*Aspergillus aculateus*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus tubingensis*) (Achal et al. 2007; Ahuja et al. 2007; Gupta et al. 2010; Lv et al. 2008; Reddy et al. 2002; Vassilev et al. 2007) e algumas espécies de *Penicillium* (Oliveira et al. 2008; Saber et al. 2009; Souchie et al. 2005; Souchie e Abboud 2007; Vyas et al. 2007; Xiao et al. 2008).

O incremento na disponibilização de P pelos fungos pode variar em decorrência da fonte e isolado fúngico. Vyas et al. (2007) relataram que a taxa de fosfato tricálcico solubilizado por *Eupenicillium parvum* variou de 120,8 a 213,7 $\mu\text{g mL}^{-1}$, com valores médios de 121 a 214 % superiores ao controle. Por outro lado, Gupta et al. (2010) ao avaliarem a capacidade de *Aspergillus* sp. quanto à solubilização de fosfato de rocha (Índia) constataram variação de 45,2 a 54,4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de P solúvel, com incremento de 63 a 105 % em relação ao controle.

Alguns trabalhos relatam a tentativa de aumentar a disponibilidade de fosfato inorgânico por meio da inoculação com fungos solubilizadores de fosfato (FSP), sendo a maioria destes experimentos conduzidos em laboratório e casa de vegetação. Saber et al. (2009) avaliaram *A. niger* e *Penicillium* sp. como inoculantes em plantas de *Vigna radiata* (L.) R. Wilczek e verificaram aumento de P solúvel nas rizosferas adubadas com fosfato tricálcico (211 $\mu\text{g mL}^{-1}$), fosfato de alumínio (104 $\mu\text{g mL}^{-1}$), fosfato de rocha (99 $\mu\text{g mL}^{-1}$), fitato de sódio (89 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e fosfato de ferro (33 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Recentemente, Kapri e Tewari (2010) relataram aumento do peso seco da parte aérea (22-33 %) e da raiz (35-60 %) de plantas de grão de bico na presença de *Trichoderma* sp. em solo adubado com fosfato tricálcico, quando comparado aos controles sem inoculação do fungo, demonstrando o potencial de aplicação destes micro-organismos.

Os trabalhos indicam que os FSP podem constituir em alternativa viável para maximizar a utilização do fósforo. Embora o uso de FSP seja extremamente importante ou mais relevante em fontes de fosfato natural, informações sobre a solubilização em MAP e SFS não existem e mesmo sendo bastante solúveis, os FSP podem contribuir ainda mais para suas solubilizações. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade e o potencial de dez isolados fúngicos, provindos da cultura da videira, em solubilizar fosfato monoamônico e superfosfato simples *in vitro*, analisando a influência do período de incubação sobre tal atividade.

Material e métodos

Dez espécimes de FSP, oito de *Aspergillus* (FSP 9, 28, 39, 57, 145, 198, 212 e 220) e dois de *Penicillium* (FSP 94 e 169), foram isolados de solos rizosféricos de videira (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon), na região do submédio do Vale do São Francisco (Fazenda Planaltino, ViniBrasil), Petrolina, Brasil (08°59'49"S, 40°16'19"W); através da técnica de suspensão em série (1:1000 v/v) do solo.

Estes FSP foram cultivados em erlenmeyers contendo 50 mL de meio GL (Sylvester-Bradley et al. 1982) líquido suplementado com 0,52 g 50 mL⁻¹ de fosfato monoamônico (MAP) ou 1,39 g 50 mL⁻¹ de superfosfato simples (SFS), correspondendo a 0,25 g P₂O₅ 50 mL⁻¹, com pH do meio ajustado para 6,5. Um mililitro de suspensão de esporos de cada espécime de FSP, representando cerca de 10⁷ esporos mL⁻¹, foi adicionado como inóculo. Os erlenmeyers foram incubados em estufa DBO (demanda bioquímica de oxigênio) a 30 °C por um período de 10 dias. Erlenmeyers com o mesmo meio, não inoculados, correspondendo ao tratamento controle, foram mantidos.

As avaliações do P na solução foram feitas após 1 (T1), 4 (T2), 7 (T3) e 10 (T4) dias da inoculação, retirando-se 5 mL da cultura de cada frasco. As culturas foram centrifugadas a 10.000 g por 5 minutos e o sobrenadante foi filtrado (papel Whatman N° 40). O fósforo na solução (filtrado) foi determinado por espectrofotometria (660 nm) segundo procedimento descrito por Tedesco et al. (1995).

O pH do sobrenadante foi determinado por peagômetro e o número de esporos foi quantificado em câmara de Neubauer. Ao final do período de incubação, o micélio de cada tratamento foi lavado com água destilada e seco a 70 °C por 72 h ou até peso constante para estimativa da biomassa seca.

O delineamento experimental foi do tipo inteiramente casualizado em arranjo fatorial de 11 (10 isolados e controle) x 4 épocas de avaliação (T1, T2, T3 e T4), em três repetições. As variáveis analisadas foram P solúvel, pH e número de esporos. Análises de correlação simples foram feitas entre P solúvel, pH e número de esporos.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade utilizando-se o programa Statistica 5.0 (Statsoft, 1997).

Os dados de P solúvel foram utilizados no cálculo de incremento (Weber et al., 2004) proporcionado pelos FSP, utilizando a fórmula $100[(X-Y)/Y]$, em que X representou o tratamento inoculado com FSP e Y o tratamento controle.

Resultados e Discussão

Houve efeito dos fatores e da interação entre isolados e épocas de avaliação para todas as variáveis analisadas, em ambas as fontes de fosfato.

No primeiro e quarto dia de avaliação (T1 e T2), não houve diferença entre os tratamentos controle e os isolados; o único isolado que apresentou pouco potencial de solubilização em ambas as fontes de P e permaneceu estatisticamente igual ao controle em T3 e T4 foi o FSP 94 (Tabelas 1 e 2).

Constatou-se que 90 % dos isolados apresentaram potencial de solubilização do superfosfato simples e fosfato monoamônico no sétimo dia de avaliação (T3), com valores médios 23 % e 22 % superiores ao controle, respectivamente, com redução após este tempo (Tabelas 1 e 2). Segundo Barroso e Nahas (2008), esta redução da disponibilidade de P está relacionada ao aumento do desenvolvimento fúngico, que acarreta maior captação de fosfato solúvel pelo fungo para seu próprio crescimento, tanto vegetativo quanto reprodutivo. No 10º dia (T4) o número de esporos foi maior (Tabelas 1 e 2), sendo provável que os FSP testados tenham também mobilizado parte da fonte de fosfato em seu micélio contribuindo para a diminuição na quantidade de P solúvel. Claramente observado pelos resultados do FSP 94, que apresentou maior número de esporos, em contraste, a concentração de P solúvel não diferiu do controle. Por outro lado, os isolados FSP 39 (MAP e SFS) e FSP 220 (SFS) também apresentaram em T4 alto P solúvel, o que pode estar relacionado ao metabolismo de crescimento destes isolados.

Todos isolados, com exceção do FSP 94, solubilizaram o P das duas fontes de fosfato em T3, porém os isolados FSP 28 e FSP 220 destacaram-se dos demais por terem os maiores valores de P solúvel em MAP e em SFS (840 e 560 $\mu\text{g mL}^{-1}$), respectivamente, sendo as taxas de incremento em relação ao controle de 29 % e 44 %. A inoculação destes FSP em experimentos em casa de vegetação ou em campo poderia reduzir as doses de MAP e SFS aplicadas, possibilitando a diminuição dos custos com insumos agrícolas. Essa máxima solubilização obtida após sete dias da inoculação, corrobora resultados obtidos por Achal et al. (2007) e Mittal et al. (2008), que constataram aumento de P solúvel a partir da solubilização de fosfato tricálcico e fosfato de rocha/Índia (4,7 e 248 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente) por *Aspergillus* spp. Da mesma forma, Saber et al. (2009) registraram valores máximos de solubilidade de P a partir de fosfato de rocha/Egito solúvel por *Aspergillus niger* (67 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e *Penicillium* sp. (46,2 $\mu\text{g mL}^{-1}$) também no 7º dia de experimento. Embora fatores como a imobilização de P no micélio fúngico e o uso de P para crescimento e reprodução dos fungos possam explicar os resultados obtidos no 7º dia

deste trabalho e dos demais, mais estudos são necessários para elucidarmos os fatores responsáveis por tal resposta.

A maioria dos isolados em T3, para ambas as fontes de fosfato, mostrou alta taxa de solubilização de P e baixo número de esporos (Tabelas 1 e 2), enquanto que o espécime FSP 94 apresentou em ambos os tempos (T3 e T4) maior número de esporos e menor concentração de P solúvel, porém não houve correlação ($r^2 = -0,05$ MAP; $r^2 = -0,01$ SFS; $n = 132$; $p < 0,05$) entre número de esporos e P solúvel.

Reyes et al. (1999) e Yadav e Tarafdar (2003) constataram correlação negativa entre biomassa (estruturas vegetativas e reprodutivas) e solubilização de P sugerindo a ocorrência de um mecanismo de bomba de H^+ envolvido na solubilização de pequenas quantidades de fosfato pelo fungo, permitindo assim o desenvolvimento de maior biomassa.

Esses autores também sugerem que os isolados com baixa biomassa podem translocar carbono para produzir diferentes tipos e maior quantidade de ácidos orgânicos para solubilizar mais P, isso é reforçado pelos dados, em T4, entre biomassa seca e número de esporos, onde o aumento de biomassa foi acompanhado pelo crescente número de esporos. O isolado FSP 39 apresentou as menores taxas dessas variáveis e alta taxa de P solúvel, enquanto o FSP 94 apresentou os maiores valores em número de esporos e biomassa seca e baixa solubilização, indicando que maior desenvolvimento e esporulação não estão relacionados à maior solubilização de P (Figura 1; Tabelas 1 e 2).

Os resultados sugerem que os isolados podem possuir estratégias metabólicas distintas, refletindo a falta de correlação e respostas distintas em relação à solubilização e produção de micélio e esporos. Ressalta-se a necessidade de mais estudos sobre a fisiologia destes fungos visando à seleção de micro-organismos eficientes.

Relatos anteriores demonstraram correlação negativa entre o desenvolvimento e a reprodução dos fungos e o pH do meio devido à afinidade desses micro-organismos em crescer em ambiente ácido (Yadav e Tarafdar, 2003; Barroso e Nahas, 2005; Rousk et al., 2009). Porém, neste estudo não foi constatado correlação entre estas variáveis ($r^2 = 0,14$ MAP; $r^2 = -0,01$ SFS; $n = 132$; $p < 0,05$), apesar de ter havido aumento do número de esporos e diminuição do pH.

A redução do pH do meio, observada neste estudo (Tabelas 1 e 2), sugere um efeito da produção de ácidos orgânicos na solubilização do fosfato, o que é confirmado pela análise de correlação entre o pH e a quantidade de fosfato solubilizado ($r^2 = -0,47$ MAP; $r^2 = -0,68$ SFS; $n = 132$; $p < 0,05$). Relatos demonstraram correlação negativa similar entre estes

fatores (Alam et al. 2002; Pradhan e Sukla 2005; Silva Filho et al. 2002; Souchie et al. 2007; Kang et al. 2008).

No entanto, outros trabalhos mencionam ausência de correlação, sugerindo que a quantidade de ácidos produzida pelos fungos pode ser a mesma, mas a eficácia da solubilização pode ser diferente, em decorrência do tipo de ácido produzido (Barroso e Nahas 2005; Mittal et al. 2008).

Além disso, a diminuição do pH do meio de cultura pode ser resultado da absorção de íon seletivo pelos fungos, e não um efeito direto da produção de ácido orgânico, segundo Cerezine et al. (1988). Salienta-se ainda, que a solubilização pode ser devida à excreção do próton H^+ e depende do tipo de micro-organismo e fonte de fosfato (Illmer et al., 1995).

Este é o primeiro relato de solubilização de fosfato monoamônico e superfosfato simples *in vitro* por *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp., indicando que estes isolados podem servir como solubilizadores destes tipos de fosfatos, quando inoculados em solos onde o MAP ou SFS são utilizados como fertilizante. O uso em conjunto dos FSP com estas fontes otimiza o aproveitamento do P e reduz custos com insumos agrícolas e impactos gerados pelo excesso de adubação fosfatada, pois ainda que o MAP e o SFS apresentem solubilidade em água, estes fosfatos podem tornar-se rapidamente adsorvidos ou fixados no solo, devido suas propriedades físicas, como aeração, retenção de água, compactação, estruturação, e época de aplicação do P. Do período de incubação, o sétimo dia de avaliação foi o que apresentou maior potencial de solubilização para ambas as fontes de fosfato.

Ressalta-se, entretanto, a necessidade de mais estudos sobre o metabolismo destes isolados, quais as substâncias responsáveis pela solubilização de P, bem como os fatores que podem afetar esta produção. Tais respostas poderão contribuir para selecionar e ofertar inoculantes de FSP para áreas agrícolas, assim como para manejar melhor as populações autóctones de forma a diminuir o uso de fosfatos, mediante um melhor aproveitamento do P existente ou adicionado ao solo e do formado pela aplicação de fontes fosfatadas.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de doutorado (Coutinho) e de PQ (Yano-Melo), à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo auxílio à pesquisa, à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Semiárido) e à Fazenda Planaltino (ViniBrasil) pelo suporte à pesquisa, à Leonardo Costa pela revisão do inglês.

Tabela 1. Valores médios de P solúvel, pH e número de esporos em meio de cultivo GL líquido suplementado com fosfato monoamônico (MAP) e inoculado com isolados de fungos solubilizadores de fosfato (FSP), em diferentes épocas de avaliação.

Isolados	P solúvel ($\mu\text{g mL}^{-1}$)								pH				NE ($\times 10^7$ spores mL^{-1})			
	T1	I %	T2	I %	T3	I %	T4	I %	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
C	650 aA		710 aA		650 bA		650 cA		6,2 abA	6,1 aA	6,1 aA	6,2 aA	0,0 dA	0,0 fA	0,0 eA	0,0 fA
PSF 9	710 aC	09	770 aB	08	800 aA	23	740 abB	14	5,8 bcA	4,8bcC	5,4 bB	5,4 bB	1,8 bD	5,7 cC	8,9 cB	23,0 cA
PSF 28	710 aC	09	770 aB	08	840 aA	29	710 bC	09	5,6 cdeA	3,5 dB	3,5 cB	3,5 cB	1,2 bcC	1,6 deC	2,7 dB	4,1 eA
PSF 39	680 aB	05	730 aB	03	800 aA	23	790 aA	22	5,2 fA	3,8 cdB	3,5 cC	3,7 cBC	1,2 bC	1,6 deB	2,1 dB	3,0 eA
PSF 57	650 aC	00	750 aB	06	800 aA	23	750 aB	15	5,7 cdeA	3,8 cdB	3,9 cB	3,9 cB	0,5 cdD	1,3 eC	2,3 dB	3,1 eA
PSF 94	660 aB	02	740 aA	04	690 bB	06	620 cB	-05	6,2 abA	5,1 abB	6,0 abA	5,9 abA	4,3 aD	8,4 abC	35,3 aB	96,6 aA
PSF 145	690 aC	06	750 aB	06	800 aA	23	740 abB	14	5,3 efA	4,6 bcdB	5,6 abA	5,8 abA	1,8 bC	2,6 dB	3,1 dB	3,8 eA
PSF 169	680 aC	05	710 aBC	00	810 aA	25	750 aB	15	6,3 aA	5,3 abA	5,3 bA	5,8 abA	1,8 bC	2,4 deBC	3,7 dB	4,9 eA
PSF 198	720 aB	11	790 aB	11	830 aA	28	740 abB	14	5,4 defB	5,3 abB	5,5 abAB	5,8 abA	4,9 aC	6,8 bcB	8,6 cB	10,9 dA
PSF 212	670 aC	03	710 aB	00	790 aA	22	730 abB	12	5,6 cdefA	4,8 bcB	5,6 abA	5,6 abA	1,3 bB	2,2 deB	3,2 dA	3,7 eA
PSF 220	680 aB	05	730 aB	03	770 aA	18	710 bB	09	6,0 abcA	5,6 abB	5,6 abB	5,7 abAB	5,5 aD	8,9 aC	19,7 bB	47,0 bA
CV (%)	4,369								4,926				6,703			

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). NE = número de esporos; C = controle; I = incremento $\{100[(X-Y)/Y]$, X = tratamento inoculado com FSP e Y = tratamento controle}; CV = coeficiente de variação. T1 = 1º, T2 = 4º, T3 = 7º e T4 = 10º dia após a inoculação.

Tabela 2. Valores médios de P solúvel, pH e número de esporos em meio de cultivo GL líquido suplementado com superfosfato simples (SFS) e inoculado com isolados de fungos solubilizadores de fosfato (FSP), em diferentes épocas de avaliação.

Isolados	P solúvel ($\mu\text{g mL}^{-1}$)								pH				NE ($\times 10^7$ esporos mL^{-1})			
	T1	I %	T2	I %	T3	I %	T4	I %	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
C	390 aA		420 aA		390 cA		400 cA		3,6 aA	3,5 abA	3,6 bcdA	3,6 bcA	0 eA	0 eA	0 eA	0 fA
PSF 9	390 aC	00	450 aB	07	470 bA	21	450 bB	13	3,4 aA	3,0 dB	3,5 cdA	3,7 bA	34 bC	49 bC	108 bB	235 bA
PSF 28	380 aC	-03	460 aB	10	500 abA	28	470 bB	18	3,5 aA	2,9 dB	3,3 dA	3,3 cA	17 cdD	34 bcdC	60 cdB	77 deA
PSF 39	380 aC	-03	430 aB	02	480 bA	23	520 aA	30	4,0 aA	2,9 dA	3,5 cdA	3,9 abA	17 cdC	34 bcdB	45 dA	49 eA
PSF 57	440 aB	13	440 aB	05	510 abA	31	470 bB	18	3,2 aB	3,4 abAB	3,9 abA	3,6 bcAB	13 deC	19 dcC	33 dB	52 eA
PSF 94	430 aAB	10	450 aA	07	400 cB	03	390 cB	-03	3,5 aC	3,4 bcC	3,8 abcB	4,0 abA	63 aD	78 aC	141 aB	387 aA
PSF 145	390 aC	00	410 aB	-02	470 bA	21	440 bB	10	3,3 aB	3,7 aA	3,9 abA	3,9 abA	19 cdC	40 bcBC	62 cdB	115 cdA
PSF 169	380 aC	-03	440 aB	05	510 abA	31	460 bB	15	3,5 aB	3,0 dC	3,9 abA	3,8 bAB	28 bcC	48 bC	98 bB	161 cA
PSF 198	450 aAB	15	470 aA	12	470 bA	21	430 bB	08	3,0 aC	3,7 abB	4,1 aA	4,3 aA	24 bcdC	44 bBC	85 bcB	153 cA
PSF 212	370 aC	-05	430 aB	02	480 bA	23	440 bB	10	3,4 aB	3,0 dC	3,9 abA	3,9 abA	14 dC	24 cdBC	38 dB	49 eA
PSF 220	440 aB	13	450 aB	07	560 aA	44	520 aA	30	3,1 aC	3,1 cdC	4,1 aB	4,3 aA	17 cdD	31 bcdC	50 cdB	98 cdA
CV (%)	3,666								1,875				4,294			

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). NE = número de esporos; C = controle; I = incremento $\{100[(X-Y)/Y]$, X = tratamento inoculado com FSP e Y = tratamento controle}; CV = coeficiente de variação. T1 = 1°, T2 = 4°, T3 = 7° e T4 = 10° dia após a inoculação.

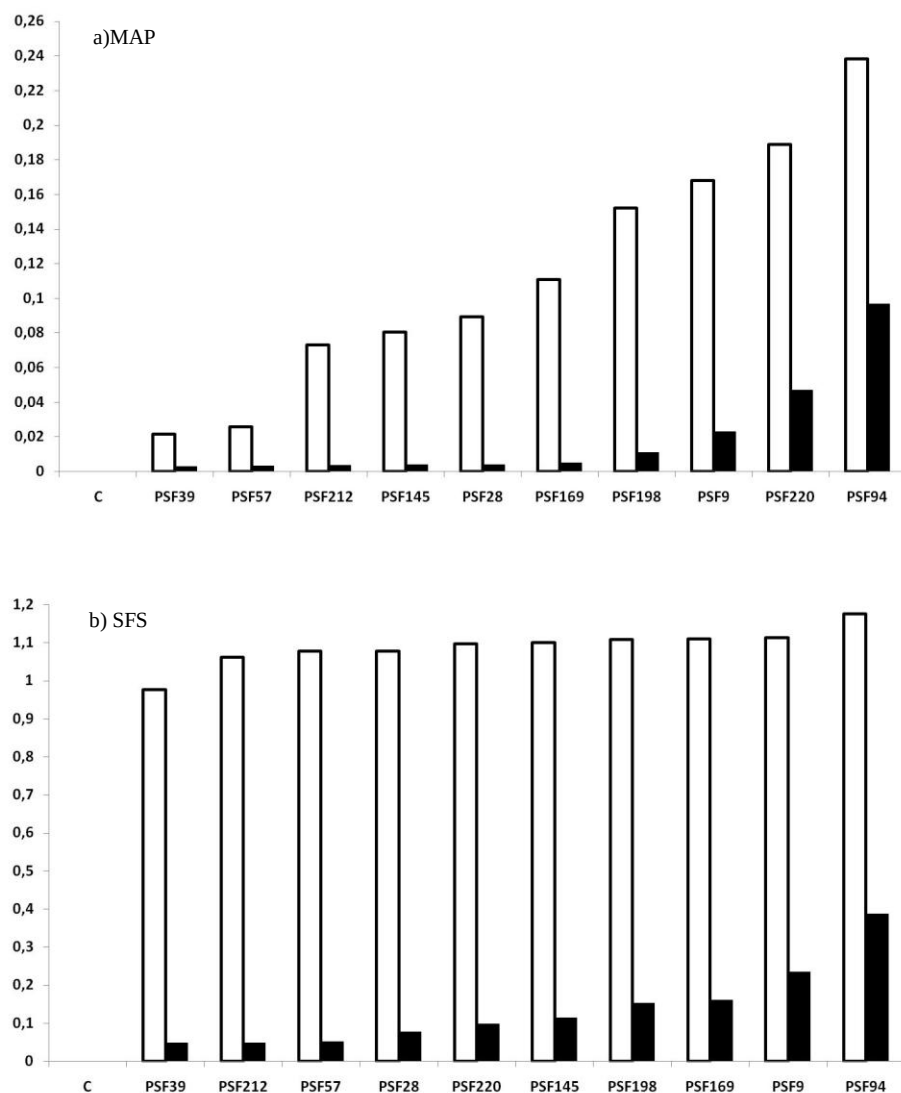


Figura 1. Valores médios de biomassa seca (g 50 mL⁻¹) e número de esporos (x 10¹⁰ esporos mL⁻¹) de isolados de fungos solubilizadores de fosfato (FSP) cultivados em meio GL líquido suplementado com (a) fosfato monoamônico (MAP) e (b) superfosfato simples (SFS), no 10º dia (T4) de incubação. □ = biomassa seca; ■ = número de esporos.

4. SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATOS *IN VITRO* POR FUNGOS ISOLADOS DE RIZOSFERA DE VIDEIRAS (*Vitis vinifera* L. CV. CABERNET SAUVIGNON) ²

² A ser submetido para publicação como Coutinho, F.P., Yano-Melo, A.M. 2012. Solubilização de fosfatos *in vitro* por fungos isolados de rizosfera de videira (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon). *Applied Soil Ecology*.

4. SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATOS *IN VITRO* POR FUNGOS ISOLADOS DE RIZOSFERA DE VIDEIRA (*Vitis vinifera* L. CV. CABERNET SAUVIGNON)

Resumo

Diversos micro-organismos do solo, incluindo bactérias e fungos, têm a capacidade de solubilizar diferentes formas de fosfatos, aumentando a disponibilidade do fósforo (P) às plantas. No presente estudo a capacidade e o potencial de solubilização de fontes de fosfato por fungos isolados de rizosfera de videira foram investigados. A partir do solo rizosférico de videira foram isolados 220 espécimes de fungos solubilizadores de P (FSP), sendo 216 *Aspergillus* e 04 *Penicillium*. Destes, dez fungos foram selecionados a partir do índice de solubilização (IS) e testados a fim de avaliar a capacidade de solubilizar *in vitro* fontes de fosfato (termofosfato, superfosfato simples, fosfato de rocha arad e fosfato monoamônico). A maioria desses espécimes apresentaram potencial de solubilização das fontes de P, de diminuição do pH do meio de cultura líquido e de aumento da biomassa seca. Os isolados FSP 39, 145 e 220 mostraram máxima solubilização de MAP, SFS, TEF e FRA e maiores percentuais de eficiência de solubilização na dosagem 10^7 esporos mL⁻¹. A solubilização *in vitro* de termofosfato, fosfato de rocha arad, fosfato monoamônico e superfosfato simples pelos fungos pode constituir alternativa para aproveitamento eficiente das fontes de P.

Palavras chave: fungos filamentosos; superfosfato simples; fosfato monoamônico; termofosfato; fosfato de rocha arad

1. Introdução

O fósforo (P) é essencial às plantas, porém os solos brasileiros apresentam baixo teor de fósforo total (1,25 a 3,5 mg kg⁻¹ P), sendo a concentração de fósforo solúvel ainda mais baixo (0,03 mg kg⁻¹ P) (Velázquez & Rodríguez-Barrueco, 2002), tornando necessária a aplicação de altas dosagens de adubos fosfatados para a obtenção de alta produtividade (Yadav & Tarafdar, 2003). A adubação fosfatada é realizada principalmente com fosfatos de baixa solubilidade, para reduzir os custos de produção com fertilizantes, atingindo dosagens de fósforo muito superiores às necessidades das culturas, pois a maior parte do adicionado torna-se indisponível às plantas (Omar, 1998).

Diversos micro-organismos do solo, incluindo bactérias e fungos, têm a capacidade de solubilizar diferentes formas de fosfatos inorgânicos, constituindo-se em alternativa viável ao melhor aproveitamento do fósforo existente no solo ou do adicionado na forma de fosfatos naturais ou solúveis (Chang & Yang, 2009).

Inúmeros experimentos têm demonstrado que a utilização de micro-organismos solubilizadores tem aumentado a disponibilidade e a absorção de fósforo, o crescimento e o rendimento das plantas (Babana & Antoun, 2006; Mittal et al., 2008; Matias et al., 2009). Desta forma, podem contribuir para reduzir custos, aumentar a produtividade e a lucratividade das culturas. Entretanto, a fase fenológica da planta pode influenciar na atividade dos micro-organismos, de modo que no solo ao redor das raízes a disponibilidade de determinada quantidade de exsudatos poderia favorecer a microbiota da rizosfera (Bertin et al., 2003), possivelmente promovendo o aumento da população de FSP.

Os fosfatos inorgânicos podem ser transformados em fosfatos solúveis por meio do mecanismo de solubilização, que ocorre principalmente devido à ação de micro-organismos do solo, mas também de plantas, pelos seus exsudatos radiculares (Bojinova et al., 2008; Kumari et al., 2008). Esse mecanismo está condicionado à produção de ácidos orgânicos (ácido cítrico e oxálico) que propiciam a dissolução direta de fosfatos insolúveis ou a quelatação de cátions da molécula (Achal et al., 2007). Assim, o ácido orgânico com propriedade quelante apresenta cargas negativas que quimicamente complexam o íon com carga positiva (cálcio, magnésio, ferro e manganês) liberando o fosfato solúvel (Carvalho et al., 2005). No entanto, a intensidade da solubilização é afetada por diversos fatores, entre os quais o micro-organismo envolvido, o tipo e a concentração do fosfato e as condições do meio (teores de nutrientes) (Guarieb & Gadd, 1999).

Uma das culturas importantes na região semiárida brasileira é a videira (*Vitis vinifera* L.), face aos altos rendimentos alcançados devido à alta produtividade e qualidade da uva e de vinhos (Freund, 2007). Por outro lado, esta cultura demanda grande quantidade de nutrientes, consumindo com fertilizantes cerca de 10 % dos custos totais de produção, sendo 6 % destinado à adubação fosfatada (Albuquerque et al., 2009), o que justifica o desenvolvimento de pesquisas visando o uso eficiente dos adubos fosfatados a partir da disponibilização pelos fungos, possibilitando a diminuição dos custos e estabelecendo a sustentabilidade do sistema agrícola. Das fontes fosfatadas empregadas na cultura da videira, o fosfato monoamônico (MAP) e o superfosfato simples (SFS) são bastante utilizados devido à solubilidade em água (MAP 44 % e SFS 16 %), compensando o alto custo destes fosfatos. Em contrapartida, o termofosfato (TEF) e o fosfato de rocha arad (FRA) são menos custosos, porém há necessidade de aplicação de ácido cítrico para torná-los solúveis (TEF 14 % e FRA 9 %).

Ressalta-se que o estágio fenológico adequado para o isolamento fúngico e o conhecimento da capacidade e do potencial de solubilização e dos mecanismos envolvidos na solubilização de fosfatos são de suma importância, podendo contribuir de forma decisiva na utilização destes

micro-organismos como inoculantes ou no melhor manejo das populações autóctones do solo. Em alguns casos, a aplicação de micro-organismos isolados do ambiente onde estão adaptados às condições edáficas e onde serão empregados resulta em melhor resposta no crescimento vegetal (Caravaca et al., 2005).

Neste estudo foi avaliada a capacidade e o potencial de solubilização de fontes de fosfato por fungos isolados de rizosfera de videira (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon), determinando-se a dose de inóculo ideal para disponibilização de P.

2. Material e métodos

2.1. Isolamento, pré-seleção e identificação dos fungos

Fungos foram isolados da rizosfera de videiras (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon) sem porta-enxerto e sobre dois porta-enxertos (IAC 572 e 101-14) em três fases fenológicas (pós-poda, floração e colheita), na região do submédio do Vale do São Francisco (Fazenda Planaltino, ViniBrasil), Petrolina, Brasil (08°59'49"S, 40°16'19"W). Em cada porta-enxerto (IAC 572, 101-14 e C. sauvignon) foram retiradas três amostras compostas, perfazendo nove amostras compostas para cada fenofase e totalizando 27 amostras de solo rizosférico.

Para obtenção dos isolados fúngicos, alíquotas de um mililitro de suspensões em série (1:1000 v/v) foram plaqueadas em meio de cultura GL sólido (10 g glicose, 2 g extrato de levedura e 15 g ágar) acrescido de K_2HPO_4 e $CaCl_2$ ambos a 10 %, para produzir um precipitado de fosfato inorgânico ($CaHPO_4$), e incubadas por sete dias a 28 °C em estufa DBO (demanda bioquímica de oxigênio). Os fungos que mostraram halo de solubilização ao redor das colônias foram isolados e mantidos a 7 °C em tubos de ensaio contendo meio BDA (Batata Dextrose Agar).

Alguns espécimes foram pré-selecionados com base no índice de solubilização (IS) obtido da relação entre diâmetro total (colônia+halo)/diâmetro da colônia para dar início aos experimentos *in vitro*. De acordo com o resultado, os isolados foram classificados em: $IS \leq 1,13$ = baixo; $1,13 < IS \leq 1,24$ = médio; $IS > 1,24$ = alto (Edi-Premono et al. 1996 apud Alam et al. 2002). Alíquotas de 10^7 esporos mL^{-1} , quantificadas em câmara de Neubauer, de cada isolado de fungo solubilizador de fosfato (FSP) foram testadas em meio GL líquido (50 mL) contendo $CaHPO_4$ com pH ajustado para 6,5, em três repetições. Os Erlenmeyers foram incubados em estufa DBO a 30 °C por período de sete dias. O fósforo solúvel (filtrado) foi determinado por espectrofotometria (660 nm) segundo Tedesco et al. (1995). Este pré-teste selecionou apenas os fungos que produziram valores de P solúvel igual ou superior a 1500 $\mu g mL^{-1}$ para prosseguir com as avaliações *in vitro* das demais fontes de fosfato.

Os fungos foram identificados em nível específico com base nos dados de sequências de nucleotídeos do ITS do rDNA. Os fragmentos de rDNA foram amplificados usando primers fúngicos universais, ITS1 e ITS4 (White et al., 1990). Dados de sequências de nucleótidos foram comparados com os dados do GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) utilizando a pesquisa do BlastN.

2.2. Solubilização de fontes de fosfato

Os FSP foram cultivados em Erlenmeyers contendo 50 mL de meio GL líquido suplementado com termofosfato (TEF; 17 % P_2O_5), superfosfato simples (SFS; 18 % P_2O_5), fosfato de rocha arad (FRA; 33 % P_2O_5) ou fosfato monoamônico (MAP; 48 % P_2O_5), correspondendo a 0,25 g P_2O_5 50 mL⁻¹, com pH do meio ajustado para 6,5. Um mililitro de suspensão de esporos de cada espécime, representando cerca de 10^7 esporos mL⁻¹, foi adicionado como inóculo. Os Erlenmeyers foram incubados em estufa DBO a 30 °C por sete dias. Erlenmeyers não inoculados, correspondendo ao tratamento controle, foram mantidos no mesmo sistema. O fósforo solúvel (filtrado) foi determinado por espectrofotometria (660 nm), a alteração do pH por peagômetro e o micélio foi lavado com água destilada e seco a 70 °C por 72 h ou até peso constante para estimativa da biomassa seca.

O delineamento experimental foi do tipo inteiramente casualizado em arranjo fatorial de 11 (10 isolados e controle) x 4 fontes de fosfato (TEF, SFS, FRA e MAP), em quinze repetições. As variáveis analisadas foram P solúvel, pH e biomassa seca.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade utilizando-se o programa Statistica 5.0 (Statsoft, 1997). Os dados de P solúvel foram utilizados no cálculo de eficiência de solubilização (ES) (Sharma et al., 2007) proporcionado pelos FSP, utilizando a fórmula $100[(X-Y)/Y]$, em que X representou o tratamento inoculado com FSP e Y o tratamento controle.

2.3. Determinação da dose ideal de inóculo de fungo solubilizador de fosfato

O efeito de diferentes concentrações de inóculo dos FSP foi testado para disponibilização de P. Para cada fonte de fosfato foi selecionado um espécime mais eficiente, e este foi cultivado em Erlenmeyer contendo 50 mL de meio GL líquido suplementado com as diferentes fontes de fosfato (TEF, SFS, FRA ou MAP), correspondendo a 0,25 g P_2O_5 50 mL⁻¹, com pH do meio ajustado para 6,5. Um mililitro de suspensão de esporos de cada isolado de FSP com doses crescentes (10^3 , 10^5 , 10^7 , 10^9 e 10^{11} esporos mL⁻¹) foi adicionado como inóculo. Os Erlenmeyers com os fungos e o controle foram incubados em estufa DBO a 30 °C durante sete dias. Foram determinados: pH, biomassa seca, fósforo solúvel e eficiência de solubilização.

Para cada fonte de P foi montado um experimento inteiramente casualizado, com 6 tratamentos de níveis (sem inóculo – controle e 5 níveis de inóculo: 10^3 , 10^5 , 10^7 , 10^9 e 10^{11} esporos mL^{-1}), em quinze repetições. As variáveis analisadas foram P solúvel, pH e biomassa seca.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade utilizando-se o programa Statistica 5.0 (Statsoft, 1997).

3. Resultados e Discussão

3.1. Isolamento, pré-seleção e identificação dos fungos

Foram isolados da rizosfera de videira 220 espécimes de FSP, sendo 216 *Aspergillus* e 04 *Penicillium*. Considerando-se a fase fenológica da planta, observou-se maior número de FSP na rizosfera durante a pós-poda (52,3 %), seguido de floração (32,3 %) e de colheita (15,4 %) (Figura 1). Segundo Bertin et al. (2003), no início da fase vegetativa a planta está em intenso desenvolvimento, contribuindo com a atividade dos micro-organismos, de forma que no solo ao redor das raízes haveria maior quantidade de exsudatos, favorecendo a microbiota e promovendo aumento da população. Desse modo, a redução da quantidade de micro-organismos está relacionada à exsudação radicular decrescente após os estádios iniciais de crescimento da planta (Graham et al., 1981 apud Andrade e Silveira, 2004).

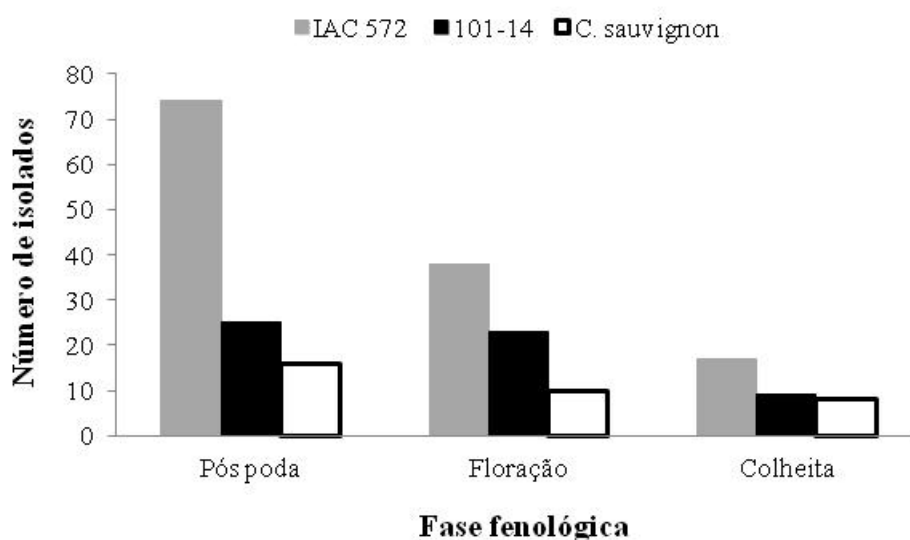


Figura 1. Número de fungos solubilizadores de fosfato isolados da rizosfera de videiras (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon) sem porta-enxerto e sobre dois porta-enxertos (IAC 572 e 101-14), em três fases fenológicas (pós-poda, floração e colheita), na região do submédio do Vale do São Francisco, Petrolina, Brasil.

Em relação às rizosferas dos porta-enxertos de videira, o IAC 572 apresentou maior número de fungos solubilizadores de fosfato (55 %), enquanto que 101-14 e C. sauvignon apresentaram 29,5 % e 15,5 %, respectivamente (Figura 1). Possivelmente esse resultado está relacionado ao elevado vigor apresentado pelo porta-enxerto IAC 572, contribuindo para maior extensão radicular e permitindo à planta explorar maior volume de solo e produzir mais exsudatos radiculares, ampliando e intensificando a atividade fúngica (Bordin et al., 2003).

Os espécimes (220 isolados) produziram halo de solubilização de fosfato de 13 a 63 mm de diâmetro. Esses resultados diferem dos apresentados por Nopparat et al. (2007) e Mittal et al. (2008), que relataram zona de solubilização de P em torno das colônias fúngicas bem menor (10 a 22 mm e 1 a 15 mm), respectivamente, para 30 isolados de *Aspergillus* sp. e 22 espécimes (12 *Aspergillus* e 10 *Penicillium*) da rizosfera de diversas culturas (arroz, beringela, cana de açúcar, ervilha, milho, mostarda e orquídea), demonstrando que isolados de mesmos gêneros podem apresentar respostas diferentes, o que está relacionado ao metabolismo de crescimento de cada fungo e potencial de solubilização.

O índice de solubilização (IS) variou de 1,0 a 1,43, observando-se maior frequência de fungos com IS classificado como baixo (167 isolados - 76 %), seguido por IS médio (44 isolados - 20 %) e alto (9 isolados - 4 %). Como a maioria dos isolados apresentou rápido crescimento e considerando que o IS é calculado de acordo com o tamanho do halo de solubilização e do crescimento fúngico, quando maiores o halo e a colônia, menor será o IS destes FSP.

Dos 220 isolados, 32 foram pré-selecionados com base no IS e de forma aleatória em relação ao período fenológico e à origem (Tabela 1). Após sete dias de incubação, foi observada variação de 520 a 1940 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de P solúvel, corroborando resultados relatados por Nahas et al. (1994) e Mittal et al. (2008), que constataram solubilização de CaHPO_4 , 600 a 1359 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 22 a 1140 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente, por *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. Entretanto, em outros relatos os valores máximos (495 $\mu\text{g mL}^{-1}$) de solubilidade de P por *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. (Pradhan et al., 2005; Kang et al., 2008; Singh et al., 2011; Yadav et al., 2011), não ultrapassaram o valor mínimo (520 $\mu\text{g mL}^{-1}$) observado neste estudo. Dos 32 FSP, dez produziram quantidade de fósforo solúvel igual ou superior a 1500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Tabela 1). Contudo, 40 % dos isolados (FSP 9, FSP 28, FSP 198 e FSP 220) com alta habilidade para solubilizar CaHPO_4 em meio líquido, mostraram baixo IS em meio sólido contendo fosfato de cálcio. Silva Filho e Vidor (2000) sugerem que em meio sólido os íons fosfato seriam complexados em uma forma mais cristalina e fixados devido ao estado físico do meio, possivelmente dificultando a solubilização.

A combinação dos métodos para seleção dos fungos solubilizadores de fosfato em meio sólido e em meio líquido teve mais eficácia que a utilização de uma única técnica, visto que o método tradicional (índice de solubilização) para seleção não foi totalmente confiável.

Tabela 1. Fungos solubilizadores de fosfato (FSP) isolados de solos rizosféricos de videira (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon) sem porta-enxerto e sobre dois porta-enxertos (IAC 572 e 101-14), em três fases fenológicas (pós-poda, floração e colheita), em Petrolina/PE, Brasil.

Isolado	Espécie	Fase fenológica	Origem (sem ou com porta-enxerto)	Diâmetro (mm) em meio de cultura GL sólido + CaHPO ₄		IS	P solúvel (µg ml ⁻¹) (GL líquido + CaHPO ₄)
				Colônia	Total*		
FSP7	<i>Aspergillus aculeatus</i> Iizuka	Colheita	101-14	35	40	1,14 (médio)	1260
FSP9	<i>A. aculeatus</i>	Colheita	101-14	35	39	1,11 (baixo)	1520
FSP28	<i>Aspergillus tubingensis</i>	Colheita	C. sauvignon	38	43	1,13 (baixo)	1940
	Mosseray						
FSP35	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	Pós-poda	101-14	51	59	1,15 (médio)	940
	Varga, Frisvad & Samson						
FSP39	<i>A. tubingensis</i>	Pós-poda	101-14	41	48	1,17 (médio)	1520
FSP47	<i>Penicillium sclerotiorum</i>	Pós-poda	101-14	19	22	1,15 (médio)	960
	J.F.H. Beyma						
FSP52	<i>A. brasiliensis</i>	Pós-poda	101-14	41	51	1,24 (médio)	890
FSP56	<i>A. brasiliensis</i>	Pós-poda	101-14	47	52	1,1 (baixo)	1230
FSP57	<i>A. tubingensis</i>	Pós-poda	101-14	39	46	1,17 (médio)	1560
FSP69	<i>A. aculeatus</i>	Pós-poda	IAC 572	35	40	1,14 (médio)	1110
FSP79	<i>A. aculeatus</i>	Pós-poda	IAC 572	30	35	1,16 (médio)	1270
FSP86	<i>A. aculeatus</i>	Pós-poda	IAC 572	39	45	1,15 (médio)	1090
FSP92	<i>A. aculeatus</i>	Pós-poda	IAC 572	41	50	1,21 (médio)	660
FSP94	<i>Penicillium citrinum</i> Thom	Pós-poda	IAC 572	16	23	1,43 (alto)	1500
FSP96	<i>A. aculeatus</i>	Pós-poda	IAC 572	34	45	1,32 (alto)	1310
FSP99	<i>A. aculeatus</i>	Pós-poda	IAC 572	36	40	1,11 (baixo)	810
FSP101	<i>A. aculeatus</i>	Pós-poda	IAC 572	30	42	1,4 (alto)	1290
FSP104	<i>A. aculeatus</i>	Pós-poda	IAC 572	34	48	1,41 (alto)	1010
FSP142	<i>A. tubingensis</i>	Pós-poda	C. sauvignon	37	41	1,1 (baixo)	900
FSP145	<i>A. brasiliensis</i>	Pós-poda	C. sauvignon	32	38	1,18 (médio)	1560
FSP146	<i>A. brasiliensis</i>	Pós-poda	C. sauvignon	30	40	1,33 (alto)	890
FSP152	<i>A. brasiliensis</i>	Floração	101-14	40	46	1,15 (médio)	920
FSP165	<i>A. brasiliensis</i>	Floração	101-14	47	52	1,1 (baixo)	1250
FSP169	<i>P. sclerotiorum</i>	Floração	101-14	11	13	1,18 (médio)	1650
FSP175	<i>A. brasiliensis</i>	Floração	IAC 572	52	63	1,21 (médio)	570
FSP190	<i>A. brasiliensis</i>	Floração	IAC 572	40	50	1,25 (alto)	520

FSP198	<i>A. brasiliensis</i>	Floração	IAC 572	41	46	1,12 (baixo)	1850
FSP199	<i>A. brasiliensis</i>	Floração	IAC 572	36	49	1,36 (alto)	1210
FSP207	<i>A. brasiliensis</i>	Floração	IAC 572	38	50	1,31 (alto)	610
FSP210	<i>A. brasiliensis</i>	Floração	IAC 572	42	55	1,3 (alto)	610
FSP212	<i>A. brasiliensis</i>	Floração	C. sauvignon	33	40	1,21 (médio)	1570
FSP220	<i>A. aculeatus</i>	Floração	C. sauvignon	20	22	1,1 (baixo)	1590

*Diâmetro total = diâmetro do halo + colônia; Índice de solubilização (IS) = diâmetro total/diâmetro da colônia. $IS \leq 1,13$ = baixo; $> 1,13 \leq 1,24$ = médio; $> 1,24$ = alto. GL = glicose-extrato de levedura.

3.2. Solubilização de fontes de fosfato

Dos 10 isolados selecionados e testados para avaliação da capacidade de solubilizar *in vitro* outras fontes de fosfato (TEF, SFS, FRA e MAP), a maioria apresentou potencial de solubilização das fontes de P, diminuição do pH do meio de cultura líquido e aumento da biomassa seca dos fungos (Tabela 2).

Os isolados FSP 39, 57, 169, 198, 212 e 220 (MAP), FSP 28, 39, 57, 198, 212 e 220 (SFS), FSP 39 (TEF), FSP 145 e 198 (FRA) destacaram-se dos demais por produzirem os maiores valores de P solúvel, apresentando ainda baixo pH e alta biomassa seca (Tabela 2). Narsian & Patel (2000) demonstraram resultado similar em relação à solubilização de fosfato de rocha (33 % P_2O_5) por *Aspergillus aculeatus* Iizuka ($45,8 \mu g mL^{-1}$). Diferentemente, Reddy et al. (2002) ao avaliarem a capacidade de *Aspergillus niger* Tiegh. (= *Aspergillus brasiliensis*) quanto à solubilização de fosfatos de rocha (32,9 a 33,3 % P_2O_5) constataram variação de 20 a $37 \mu g mL^{-1}$ de P solúvel. Estas diferenças podem ser atribuídas à eficiência dos isolados como sugerido por Xiao et al. (2008) e Chang & Yang (2009).

A eficiência de solubilização (ES) em relação ao controle foi de 11,84 % (MAP), 34,70 % (SFS), 105,00 % (TEF), 313,23 e 335,47 % (FRA), respectivamente para FSP 220, FSP 39, FSP 198 e FSP 145. A eficiência na solubilização de fontes menos solúveis como TEF e FRA por FSP, em especial os isolados FSP 39, 198 e 145 é indiscutível, podendo reduzir sobremaneira a quantidade destes fertilizantes aplicados ao solo e consequentemente diminuindo o impacto do excesso de insumos e custos de produção (Sharma et al., 2008; Khan et al., 2010). Apesar de o MAP e o SFS serem fontes mais solúveis em água (MAP 44 % e SFS 16 %), parte do P pode tornar-se adsorvido ou convertido a compostos muito pouco solúveis, principalmente em solos mais argilosos (Machado et al., 2011). Dessa maneira, além de aumentar a solubilidade do MAP e SFS em quase 12 e 35 %, respectivamente, a aplicação do FSP 220 poderia otimizar o aproveitamento desses fertilizantes fosfatados adicionados ao solo.

Os FSP podem representar uma alternativa para aumentar a disponibilização de P, possibilitando a redução das dosagens das fontes de P testadas e a diminuição dos custos com insumos agrícolas. Além disso, podem contribuir para redução dos impactos gerados ao meio ambiente pelo excesso de adubação fosfatada, considerando que as fontes solúveis são rapidamente adsorvidas ou fixadas ao solo e os fosfatos naturais e termofosfatos apresentam insolubilidade em água.

Tabela 2. Valores médios de P solúvel, pH e biomassa seca em meio de cultivo GL líquido suplementado com fontes de fosfato e inoculado ou não com fungos solubilizadores de fosfato (FSP), após 7 dias de inoculação.

Isolados	P solúvel ($\mu\text{g ml}^{-1}$)								pH				BS ($\text{g } 50\text{mL}^{-1}$)			
	MAP	ES%	SFS	ES%	TEF	ES%	FRA	ES%	MAP	SFS	TEF	FRA	MAP	SFS	TEF	FRA
Controle	741,8bcd	-	388,1c	-	105,9g	-	10,8f	-	5,73 ab	4,05 ab	7,20 ab	7,20 a	0 f	0 b	0 b	0c
FSP 9	692,7d	0,00	448,5b	15,56	100,6g	0,00	15,4cdef	42,65	5,84 a	3,48 de	7,05 b	4,64 e	0,2408 b	1,0751 a	1,6015 a	0,9551 ab
FSP 28	744,4bcd	3,50	471,7ab	21,54	160,8c	51,84	18,6bcde	71,69	3,31 g	3,28 e	6,13 cd	5,94 c	0,0706 e	1,0683 a	1,0730 a	0,9811 a
FSP 39	789,4ab	6,42	474,6ab	22,23	210,2a	105,00	20,6bc	90,47	4,00 f	3,50 de	5,98 cd	5,96 c	0,1162 d	1,1172 a	1,7202 a	0,8826 ab
FSP 57	781,3abc	5,32	471,5ab	21,49	192,6b	81,87	24,1b	123,03	3,17 g	3,94 ab	6,29 c	5,90 c	0,0696 e	1,1052 a	1,2424 a	0,8957 ab
FSP 94	713,2cd	0,00	432,1bc	11,34	138,0de	30,31	13,1def	21,28	5,53 bc	3,81 bc	5,90 d	6,59 b	0,2341 b	1,0989 a	1,1375 a	0,8977 ab
FSP 145	743,6bcd	0,10	432,8bc	11,52	144,5cd	36,45	49,5a	335,47	4,32 e	3,93 ab	6,33 c	4,96 e	0,1793 c	1,1126 a	1,6606 a	0,8775 b
FSP 169	767,0abc	3,40	456,5b	17,62	135,8def	28,23	17,0bcdef	57,63	5,90 a	3,93 ab	5,37 e	5,34 d	0,2874 a	1,1168 a	1,1215 a	0,9228 ab
FSP 198	801,4ab	8,03	466,9ab	20,30	131,1def	23,80	44,7a	313,23	5,11 d	4,12 a	7,57 a	5,04 de	0,1672 c	1,1061 a	1,0954 a	0,9043 ab
FSP 212	794,0ab	7,03	481,6ab	24,10	124,3ef	17,37	22,1bc	104,16	5,48 c	3,91 ab	7,43 a	5,73 c	0,1829 c	1,0774 a	1,5277 a	0,9173 ab
FSP 220	829,6a	11,84	522,4a	34,70	118,0fg	11,42	12,0ef	10,82	5,00 d	3,59 cd	7,32 ab	6,49 b	0,2595 ab	1,1402 a	1,3889 a	0,9552 ab
CV (%)	4,369		3,666		3,487		4,521		4,926	1,875	2,0185	3,408	6,703	4,294	5,480	4,921

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). BS = biomassa seca; ES = eficiência de solubilização $\{100[(X-Y)/Y]$, X = tratamento inoculado com FSP e Y = tratamento controle}; CV = coeficiente de variação. MAP = fosfato monoamônico; SFS = superfosfato simples; TEF = termofosfato; FRA = fosfato de rocha arad.

3.3. Determinação da dose de inóculo de FSP

Os isolados FSP 39, 145 e 220 mostraram máxima solubilização e maiores percentuais de ES a partir do nível 10^7 esporos mL^{-1} (Tabela 3). Contudo, o FSP 39 proporcionou os maiores valores de P solúvel e ES na dosagem 10^7 esporos mL^{-1} , com redução destas taxas após este nível. Segundo Barroso e Nahas (2008) a redução na solubilização está relacionada ao aumento do crescimento fúngico, que acarreta maior captação de fosfato solúvel para seu próprio desenvolvimento, mesmo que a biomassa seca não tenha apresentado diferença estatística entre as dosagens. Desse modo, a biomassa do fungo mobiliza parte da fonte de fosfato em suas estruturas contribuindo para a diminuição do P solúvel e da ES.

A solubilização *in vitro* pelos isolados FSP 220, 39 e 145, na concentração de 10^7 esporos mL^{-1} para 5 g $\text{P}_2\text{O}_5 \text{ kg}^{-1}$, reduziu em 11,8 % o uso de MAP; 34,6 % do SFS; 98,5 % do TEF; e 238,4 % do FRA. Estas reduções indicam a possibilidade de utilização desses isolados visando a inoculação controlada.

A capacidade solubilizadora é frequentemente associada à produção de ácidos, ou seja, com o decréscimo do pH do meio a solubilização de P aumenta, o que é confirmado pela análise de correlação entre o pH e a quantidade de fosfato solubilizado ($r = -0,99$ TEF; $r = -0,98$ FRA; $r = -0,99$ MAP; $r = -0,98$ SFS; $p < 0,01$). Correlação negativa entre essas variáveis foi observada por Nenwani et al. (2010), Singh et al. (2011) e Yadav et al. (2011).

A redução do pH também é correlacionada negativamente com a biomassa fúngica (Yadav e Tarafdar, 2003; Barroso e Nahas, 2005; Rousk et al., 2009), visto que a produção de ácidos orgânicos é influenciada pelo crescimento do fungo. Foi observada correlação negativa entre biomassa e pH ($r = -0,55$ TEF; $r = -0,63$ FRA; $r = -0,54$ MAP; $r = -0,65$ SFS; $p < 0,01$), fato que pode estar relacionado à qualidade do ácido orgânico produzido pelos isolados de FSP (Magnuson & Lasure, 2003), o que consequentemente pode resultar em variação na eficiência de solubilização de P, como observado por Akintokun et al. (2007) e Kumari et al. (2008).

Tabela 3. Valores médios de P solúvel ($\mu\text{g mL}^{-1}$), pH e biomassa seca ($\text{g } 50\text{mL}^{-1}$) em meio de cultivo GL líquido suplementado com fontes de fosfato e inoculado ou não com diferentes concentrações de fungos solubilizadores de foafato (FSP), após 7 dias de inoculação.

Nº de esporos	FSP 220 MAP				FSP 220 SFS				FSP 39 TEF				FSP 145 FRA			
	PS	ES%	pH	BS	PS	ES%	pH	BS	PS	ES%	pH	BS	PS	ES%	pH	BS
Controle	741,83 c		5,91a	0,00b	388,13b		3,94a	0,00c	102,43e		7,20a	0,00c	11,38c		7,20a	0,00b
10³	767,83 bc	3,5	5,71b	0,27a	454,20b	17,0	3,74b	1,13b	122,80d	19,9	6,56b	1,14b	39,74b	249,2	5,55b	0,81a
10⁵	789,28 bc	6,4	5,95a	0,27a	482,68b	24,4	3,58b	1,18ab	136,73c	33,5	6,28bc	1,37ab	40,03b	251,8	4,73c	0,87a
10⁷	829,63 a	11,8	5,73b	0,28a	522,98a	34,7	3,68b	1,19ab	210,18a	105,2	6,04c	1,41ab	49,56a	335,5	5,06bc	0,89a
10⁹	803,40 ab	8,3	6,02a	0,29a	516,50a	33,1	4,00a	1,19ab	157,48b	53,7	6,13c	1,56a	47,66a	318,8	4,67c	0,96a
10¹¹	794,20 abc	7,1	5,95a	0,30a	496,28a	27,9	3,99a	1,23a	135,98c	32,8	6,09c	1,59a	46,94a	312,5	5,46b	0,96a
CV (%)	4,369		4,926	6,703	3,666		1,875	4,294	3,487		2,0185	5,480	4,521		3,408	4,921

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). PS = fósforo solúvel; ES = eficiência de solubilização $\{100[(X-Y)/Y]$, X = tratamento inoculado com FSP e Y = tratamento controle}; BS = biomassa seca; CV = coeficiente de variação. MAP = fosfato monoamônico; SFS = superfosfato simples; TEF = termofosfato; FRA = fosfato de rocha arad.

4. Conclusões

A solubilização *in vitro* pelos isolados FSP 39, 145 e 220, na concentração de 10^7 esporos mL^{-1} para $5 \text{ g P}_2\text{O}_5 \text{ kg}^{-1}$, reduz o uso de fontes fosfatadas (TEF, FRA, MAP e SFS), os tornando aptos a participarem de programas visando à inoculação controlada, otimizando o uso desses fertilizantes adicionados ao solo, de modo que contribuam para o desenvolvimento de um sistema agrícola sustentável, tendo em vista a maior eficiência na utilização de fontes não renováveis.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de doutorado (Flavia Paiva Coutinho) e de PQ (Adriana Mayumi Yano-Melo), à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo auxílio à pesquisa, à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Semiárido) e à Fazenda Planaltino (ViniBrasil) pelo suporte à pesquisa.

**5. APLICAÇÃO DE FUNGOS SOLUBILIZADORES DE FOSFATO E
MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM MUDAS DE VIDEIRA (*Vitis vinifera* L.
CV. CABERNET SAUVIGNON)³**

³ A ser submetido para publicação como Coutinho, F.P., Yano-Melo, A.M. 2012. Aplicação de fungos solubilizadores de fosfato e micorrízicos arbusculares em mudas de videira (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon). *Soil and Tillage Research*.

5. APLICAÇÃO DE FUNGOS SOLUBILIZADORES DE FOSFATO E MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM MUDAS DE VIDEIRA (*Vitis vinifera* L. CV. CABERNET SAUVIGNON)

Resumo

O fósforo (P) é um dos principais elementos limitantes à produção agrícola mundial, sendo necessária a aplicação deste nutriente na forma de fertilizantes fosfatados. Os fungos solubilizadores de fosfatos (FSP) desempenham importante papel no suprimento de P às plantas, apresentando capacidade de solubilizar fosfatos existentes ou adicionados ao solo. Além dos FSP, os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) também contribuem para aumentar a absorção de nutrientes devido à expansão na área de exploração do solo, incrementando o crescimento das plantas. Neste estudo foi examinado o potencial de FSP, associados ou não a FMA, na promoção do crescimento de videiras (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon), em solos com ou sem adição de fosfato de rocha (FRA), em casa de vegetação. Noventa dias após a inoculação, o tratamento com FMA promoveu incremento significativo na biomassa seca aérea ($0,60 \text{ g planta}^{-1}$), porém a adição de fosfato de rocha anulou este benefício. A aplicação de FSP de forma isolada ($0,40 \text{ g planta}^{-1}$) ou em combinação com FMA ($0,42 \text{ g planta}^{-1}$) resultou em aumento na produção de biomassa seca aérea, diferindo significativamente do controle ($0,21 \text{ g planta}^{-1}$) em solo sem adição de FRA. As plantas inoculadas apresentaram maior teor de nutrientes (N, K e P) quando comparadas às não inoculadas. Conclui-se que o maior crescimento das plantas inoculadas com FMA, isolado ou em combinação com FSP, demonstra o uso eficiente dos nutrientes disponíveis no solo, sugerindo a possibilidade de redução nas doses de adubação fosfatada e o potencial para aplicação desses fungos na agricultura.

Palavras chave: nutrientes; fosfato de rocha; fungos filamentosos; *Aspergillus*; *Glomeromycota*

1. Introdução

O fósforo (P) é um dos principais elementos limitantes à produção agrícola mundial; em média, os solos contêm de 0,02 a 0,5 % de P total, sendo necessária a aplicação deste nutriente na forma de fertilizantes fosfatados. Contudo, apenas 1 % do adicionado é utilizado pelas plantas e o restante é rapidamente convertido em complexos insolúveis, tornando necessária a aplicação freqüente de fontes fosfatadas, o que pode tornar a

produção bastante onerosa e ambientalmente indesejável (Reddy et al., 2002; Chuang et al., 2007). A cultura da videira (*Vitis vinifera* L.) requer elevada quantidade de nutrientes, demandando com adubos em torno de 10 % dos custos totais de produção, sendo 6 % destinado à adubação fosfatada (Albuquerque et al., 2009), justificando a busca por alternativas para a utilização eficiente das fontes fosfatadas, visando a redução dos custos e estabelecendo a sustentabilidade do sistema agrícola. Desta forma, é cada vez maior a necessidade de desenvolver tecnologias econômicas e sustentáveis.

Alguns fungos desempenham importante papel no suprimento de P às plantas, apresentando capacidade de solubilizar fosfatos existentes ou adicionados ao solo (Mendes & Reis Júnior, 2003). Estes micro-organismos podem atuar também sobre os fosfatos de baixa solubilidade, formados após a aplicação de fontes de fosfatos ao solo, otimizando a eficiência da utilização do P (Ahuja et al., 2007; Chang & Yang, 2009). A ação solubilizadora tem sido associada principalmente à produção de ácidos orgânicos por fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* e por bactérias (*Acidithiobacillus*, *Bacillus* e *Pseudomonas*) (Silva Filho & Vidor, 2001; Vassilev et al., 2007; Bojinova et al., 2008; Kumari et al., 2008; Assumpção et al., 2009).

Outro grupo de fungos que pode contribuir para o aumento na absorção de P do solo compreende representantes do Filo Glomeromycota. Estes, conhecidos por fungos micorrízicos arbusculares (FMA), formam associações simbióticas com as raízes da maioria das plantas vasculares contribuindo para aumento da absorção de nutrientes e do crescimento das espécies vegetais. Um dos mecanismos para o aumento na aquisição de P é a expansão da superfície de exploração do solo, alcançada pelas hifas, que se estendem além do sistema radicular da planta hospedeira, demonstrando assim grande potencial para aplicação na agricultura, visando o aumento na produtividade (Smith & Read, 2008).

A inoculação com fungos solubilizadores de fosfatos (FSP) associados ou não a outros micro-organismos benéficos do solo pode aumentar a taxa de crescimento das plantas (Mittal et al., 2008) e consequentemente a produtividade. Este fato tem despertado a atenção para a utilização desses micro-organismos como inoculante comercial ou no manejo de suas populações como forma de promover melhor utilização do P existente no solo ou daquele adicionado como fertilizante. O uso dos FSP depende do conhecimento de suas características, entre as quais a capacidade de solubilização é uma das mais importantes no processo de seleção e pode variar com o isolado e as condições do ambiente, como solo e temperatura (Silva Filho & Vidor, 2001).

O benefício da inoculação com FMA em videiras tem sido mencionado por vários pesquisadores. Além de promover aumento no crescimento, Belew et al. (2010) observaram maior teor de fósforo em videiras (*Vitis* spp.) inoculadas com *Glomus fasciculatum* (Thaxt.) Gerd. & Trappe. Recentemente, Kara et al. (2011) constataram que a aplicação de *Glomus mosseae* (T.H. Nicolson & Gerd.) Gerd. & Trappe, *Glomus intraradices* N.C. Schenck & G.S. Sm., *Glomus aggregatum* N.C. Schenck & G.S. Sm. e *Glomus etunicatum* W.N. Becker & Gerd. [= *Claroideoglomus etunicatum* (W.N. Becker & Gerd.) C. Walker & A. Schüssler] incrementou o vigor de plantas desta cultura. Anzanello et al. (2011) relataram ainda que a inoculação com FMA em porta-enxertos de videira proporciona maior crescimento e acúmulo de nutrientes, ressaltando que a inoculação com isolado de *G. etunicatum* beneficia os porta-enxertos 043-43, SO4 e Paulsen 1103, enquanto que o isolado de *Scutellospora heterogama* (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & F.E. Sanders é mais efetivo nos dois últimos porta-enxertos.

O uso de inoculantes puros ou em combinações contendo FSP e FMA pode representar uma opção para aumentar a eficiência da adubação com fosfatos solúveis e diminuir os custos de produção. Essa hipótese foi confirmada em culturas de *Triticum aestivum* L. (Babana & Antoun, 2006), *Zea mays* L. (Ouahmane et al., 2007), *Centrosema coriaceum* Benth. e *Tibouchina multiflora* Cogn. (Matias et al., 2009).

Pesquisas sobre a eficiência desses micro-organismos na solubilização de diferentes fontes de P e no crescimento e desenvolvimento de videiras constituem potenciais a serem explorados, principalmente nas condições semiáridas.

O objetivo do presente estudo foi demonstrar o efeito de FSP, associado ou não a FMA, na promoção do crescimento de videiras (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon) em solos com ou sem adição de fosfato de rocha arad, em casa de vegetação.

2. Material e métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação em vasos plásticos com capacidade de 1,5 kg, utilizando argissolo (pH 5,6; matéria orgânica 11,27 g kg⁻¹; P 9,07 mg dm⁻³; K 0,34 cmolc dm⁻³; Ca 2,4 cmolc dm⁻³; Mg 0,7 cmolc dm⁻³; Na 0,03 cmolc dm⁻³; Al 0,05 cmolc dm⁻³; Cu 0,7 mg dm⁻³; Fe 15,1 mg dm⁻³; Mn 31,9 mg dm⁻³; Zn 3 mg dm⁻³) autoclavado a 121 °C por 60 minutos. Foram testadas duas condições de fertilidade no solo: com ou sem adição de fosfato de rocha arad (FRA; 33 % P₂O₅) na quantidade recomendada para a cultura da videira (23 mg FRA 1,5 kg⁻¹ de solo) (Melo, 2008).

Estacas de videira da variedade Cabernet sauvignon (*Vitis vinifera* L.) foram transplantadas para vasos com os respectivos tratamentos após a emergência das folhas. A inoculação com FMA e FSP foi feita próximo às raízes da planta no momento do transplante. Foi utilizado solo-inóculo de FMA constituído por hifas, raízes de *Sorghum bicolor* (L.) Moench colonizadas e cerca de 200 glomerosporos de *Claroideoglossum etunicatum* e *Entrophospora infrequens* (I.R. Hall) R.N. Ames & R.W. Schneid. (UNIVASF 23B) isolados da rizosfera de videiras (Festival seedless/IAC 766) (Freitas et al., 2011). Para inoculação com FSP utilizou-se 1,0 mL de suspensão de esporos (10^7 esporos mL⁻¹) do isolado FSP 145 (*Aspergillus brasiliensis* Varga, Frisvad & Samson), obtido da rizosfera de videiras var. Cabernet sauvignon. Em seguida, os vasos foram irrigados com água destilada e os tratamentos dispostos em bancadas, na casa de vegetação. Quando necessário, água destilada foi adicionada para manter a umidade do solo em cerca de 70 % da capacidade de campo.

Noventa dias após a inoculação as plantas foram coletadas e avaliadas quanto à área foliar (aparelho de análise foliar LiCor), biomassa seca radicular e da parte aérea, teor de P, N e K nas raízes e na parte aérea, por fotolorimetria (Embrapa, 1997). O número de glomerosporos na rizosfera de cada planta também foi estimado e a porcentagem de raiz colonizada por FMA foi determinada (Giovanetti & Mosse, 1980). Amostras do solo foram analisadas quimicamente no momento inicial e final do experimento pelo Laboratório de Solos da Embrapa Semiárido (Embrapa, 1997).

O delineamento experimental foi do tipo inteiramente casualizado em arranjo fatorial de 4 tratamentos de inoculação (não inoculado – controle; inoculado com FSP145, com FMA e com FSP145+FMA) x 2 solos (com ou sem adição de FRA), em oito repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 1 % de probabilidade utilizando-se o programa Statistica 5.0 (Statsoft, 1997).

Para calcular o incremento proporcionado pelos tratamentos de inoculação utilizou-se a fórmula $100[(X-Y)/Y]$, em que X representou o tratamento inoculado e Y o controle (Weber et al., 2004).

3. Resultados e Discussão

A inoculação com FMA promoveu incremento significativo na área foliar (108 %) e na biomassa seca aérea (186 %), porém a adição de fosfato de rocha ao solo anulou os benefícios da micorrização, reduzindo o incremento (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Área foliar (cm² planta⁻¹), biomassa seca da parte aérea e radicular (g planta⁻¹) de videiras (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon) 90 dias após os tratamentos de inoculação.

Tratamento	Área Foliar		Biomassa seca aérea		Biomassa seca radicular
	FRA -	FRA +	FRA -	FRA +	
NI	58,2 bA	70,8 aA	0,21 cB	0,42 aA	1,27 b
FSP 145	80,7 bA	75,9 aA	0,40 bA	0,42 aA	1,99 a
FMA	121,2 aA	70,9 aB	0,60 aA	0,48 aB	1,99 a
FSP145+FMA	74,9 bA	77,1 aA	0,42 bA	0,49 aA	2,25 a
					FRA - FRA + 2,10 A 1,65 B
CV (%)	19,8		16,2		23,5

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$). NI = não inoculado; FSP = fungo solubilizador de fosfato; FMA = fungo micorrízico arbuscular; FRA - = sem adição de fosfato de rocha arad; FRA + = com adição de fosfato de rocha arad; CV = coeficiente de variação.

Tabela 2. Incremento da área foliar, biomassa seca da parte aérea e radicular de videiras (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon) em resposta aos tratamentos de inoculação, após 90 dias.

Tratamento	Área Foliar I %		Biomassa seca aérea I %		Biomassa seca radicular I %
	FRA -	FRA +	FRA -	FRA +	
NI					
FSP 145	39	07	91	00	57
FMA	108	00	186	14	57
FSP145 + FMA	29	09	100	17	77

NI = não inoculado; FSP = fungo solubilizador de fosfato; FMA = fungo micorrízico arbuscular; FRA - = sem adição de fosfato de rocha arad; FRA + = com adição de fosfato de rocha arad; I = incremento $\{100[(X-Y)/Y]\}$, X = tratamento inoculado e Y = tratamento controle}.

Conforme demonstrado, os FMA podem promover aumento de 60 a 190 % na produção de matéria seca da parte aérea de videiras. Belew et al. (2010) constataram que a aplicação de *Glomus fasciculatum* incrementou a biomassa seca aérea em 188 % (*Vitis champini* Planchon) e 71 % (*Vitis rupestris* Scheele), 120 dias após a inoculação. Recentemente, Anzanello et al. (2011) obtiveram maior matéria seca da parte aérea em porta-enxerto 043-43 (95 %) quando inoculado com *Glomus etunicatum* (= *Claroideoglomus etunicatum*) e em SO4 (62 %) com *Scutellospora heterogama*, 135 dias após a inoculação. Estes autores relatam que combinações específicas entre o FMA e a espécie de *Vitis* ou porta-enxerto podem promover diferenças significativas no crescimento e no desenvolvimento da videira. Ou seja, respostas diferenciadas

observadas em *Vitis* sp. são determinadas pela compatibilidade funcional entre os simbiontes. Os percentuais mencionados corroboram os resultados encontrados neste trabalho, visto que as videiras inoculadas com FMA apresentaram maior matéria seca aérea, atribuída provavelmente à maior área foliar das plantas inoculadas, que conferiram alto acúmulo de biomassa seca, possivelmente em resposta à maior produção de fotoassimilados (Minhone & Auler, 2003).

Em contraste, Rooyen et al. (2004) mostraram que, 90 dias após a inoculação, um isolado de *G. etunicatum* não promoveu aumento significativo no crescimento de variedades (Sauvignon blanc e Richter 99) de *V. vinifera* em relação às plantas não micorrizadas, atribuindo tal fato à duração do experimento. Segundo os autores, o tempo foi insuficiente para o FMA expressar sua eficiência, ou a rápida expansão das raízes destas variedades, pode ter possibilitado a exploração de todo o volume do solo contido no vaso (500 mL), dispensando o auxílio dos FMA.

O exame microscópico das raízes mostrou que apenas as plantas inoculadas com FMA foram colonizadas. A porcentagem de raiz colonizada por FMA foi maior [75 % (FMA) e 62 % (FSP+FMA)] em videiras cultivadas sem adição de fosfato de rocha ao solo. Quando receberam aplicação desse fertilizante, as plantas apresentaram apenas 35 e 33 % de colonização micorrízica, respectivamente. Embora a colonização micorrízica não tenha relação direta com a eficiência simbiótica no crescimento das plantas (Silva et al., 2009), observa-se que a adição de P reduziu significativamente o percentual de colonização micorrízica em raízes de videira, porém sem efeito sobre o número de glomerosporos (Tabela 3). O uso de rochas fosfáticas pode aumentar a colonização micorrízica (Cardoso et al., 2010), mas tal fato não foi observado neste estudo (Tabela 3), sugerindo a influência da planta estudada e da dose aplicada sobre os resultados obtidos. Feddermann et al. (2010) sugerem que a habilidade de colonização é controlada pela absorção de P na planta hospedeira por um mecanismo de “feedback”.

Tabela 3. Colonização micorrízica e número de glomerosporos na rizosfera de videiras (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon) 90 dias após a inoculação com fungos solubilizadores de P e micorrízicos arbusculares, isoladamente ou em combinação.

Tratamento	Colonização micorrízica (%)		Nº de glomerosporos (50 g ⁻¹ de solo)	
	FRA -	FRA +	FRA -	FRA +
NI	00 bA	00 bA	0,0 bA	0,0 bA
FSP 145	00 bA	00 bA	0,0 bA	0,0 bA
FMA	75 aA	35 aB	1,3 aA	1,3 aA
FSP145+FMA	62 aA	33 aB	1,7 aA	1,7 aA
CV (%)	27,0		23,5	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$). NI = não inoculado; FSP = fungo solubilizador de fosfato; FMA = fungo micorrízico arbuscular; FRA - = sem adição de fosfato de rocha arad; FRA + = com adição de fosfato de rocha arad; CV = coeficiente de variação.

A aplicação de FSP de forma isolada (0,40 g planta⁻¹) ou em combinação com FMA (0,42 g planta⁻¹) resultou em aumento na produção de biomassa seca aérea, diferindo significativamente do controle (0,21 g planta⁻¹) e do tratamento com FMA (0,60 g planta⁻¹) em solo sem adição de FRA (Tabela 1). *Aspergillus* sp. tem sido utilizado como biofertilizante por sua capacidade em solubilizar fosfatos, porém os resultados não são unânimes. Singh & Reddy (2011) e Yadav et al. (2011) relacionaram benefícios consideráveis à biomassa seca de *Triticum aestivum*, *Zea mays* e *Cicer arietinum* L. com a inoculação de FSP. Por outro lado, Costa et al. (2009) não observaram eficiência na inoculação com FSP em *T. aestivum* para todos os parâmetros analisados, atribuindo o insucesso da inoculação ao curto período do experimento. Embora ambos os micro-organismos (FSP e FMA) sejam conhecidos por beneficiar o crescimento das plantas, a dupla inoculação em plantas de videira não resultou em sinergismo, diferentemente dos resultados de Souchie et al. (2006) e Kohler et al. (2007), que relataram maior matéria seca aérea de *Trifolium pratense* L. e *Lactuca sativa* L., respectivamente, em plantas inoculadas com FSP+FMA em comparação à inoculação isolada destes micro-organismos. Estes resultados contrários reforçam a necessidade de seleção de isolados de FMA e FSP, associados ou não, para as culturas de interesse, considerando a diversidade funcional dos fungos (Feddermann et al., 2010).

Para a biomassa seca radicular observa-se diferença entre os tratamentos de inoculação e entre os solos, com maior acúmulo nas plantas inoculadas e em solo sem adição de P (Tabela 1). O incremento no crescimento das plantas inoculadas foi de 57 % para FSP

ou FMA e 77 % para a dupla inoculação (Tabela 2), resultado expressivo em comparação ao apresentado por Souchie et al. (2006), que relataram aumento significativo (47 %) para biomassa seca radicular de *T. pratense* apenas na presença do FSP, enquanto não se observou efeito de FMA isolado ou combinado com FSP.

O teor de nutrientes (P, N e K) nos tecidos vegetais aéreos ficou acima ($>24 \text{ g kg}^{-1}$ para N) e na faixa adequada ($1,2\text{-}4,0 \text{ g kg}^{-1}$ para P e $11\text{-}18 \text{ g kg}^{-1}$ para K) para todos os tratamentos, exceto para o tratamento não inoculado, cujo teor de K permaneceu abaixo ($<11 \text{ g kg}^{-1}$) do recomendado para a cultura da videira (Melo, 2002). Entretanto, houve efeito da inoculação para P radicular, K aéreo e radicular e N radicular e da interação dos fatores para o N aéreo (Tabela 4).

De modo geral as plantas inoculadas tiveram maior teor de nutrientes (N, P e K) comparadas às não inoculadas (Tabela 4). O incremento no crescimento e no teor de nutrientes proporcionado pela inoculação pode ser atribuído à solubilização do P pelo fungo e ao aumento da área de absorção promovido pelas hifas extrarradiculares dos FMA, possibilitando maior contato com as partículas do solo e crescimento radial além da zona de depleção de nutrientes, beneficiando a absorção de macronutrientes (Nogueira & Cardoso, 2000). Caravaca et al. (2004) e Kohler et al. (2007) também constataram resposta significativa nos teores de P, K e N em *Dorycnium pentaphyllum* L. e *L. sativa*, respectivamente, quando inoculadas com FSP ou FMA, isolados ou em combinação.

Tabela 4. Teor de potássio (K), fósforo (P) total e nitrogênio (N) no tecido da parte aérea e radicular de videira (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon) em resposta aos tratamentos de inoculação, após 90 dias.

Tratamento	K radicular (g kg ⁻¹)	K aéreo (g kg ⁻¹)	P radicular (g kg ⁻¹)	P aéreo (g kg ⁻¹)	N radicular (g kg ⁻¹)	N aéreo (g kg ⁻¹)	
						FRA -	FRA +
NI	8,26 b	9,55 b	0,53 b	1,30 a	11,43 b	28,36 bA	28,77 bA
FSP 145	11,01 a	18,14 a	0,83 a	1,55 a	15,90 a	32,42 aA	32,48 aA
FMA	11,52 a	16,39 a	0,85 a	1,56 a	16,19 a	32,35 aA	31,90 aA
FSP145+FMA	11,05 a	17,98 a	0,83 a	1,56 a	16,14 a	33,22 aA	31,61 aB
CV (%)	10,4	7,99	11,8	10,7	6,84	1,46	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$). NI = não inoculado; FSP = fungo solubilizador de fósforo; FMA = fungo micorrízico arbuscular; FRA - = sem adição de fósforo de rocha arad; FRA + = com adição de fósforo de rocha arad; CV = coeficiente de variação.

Os FMA podem contribuir para a absorção dos nutrientes, estimando-se aumento de até 80 % na absorção de P e entre 10 a 25 % na absorção de N e K (Siqueira et al., 2002).

Embora nos tratamentos com FMA tenham ocorrido altos valores de incremento de P nos tecidos aéreo e radicular em relação ao tratamento não inoculado (Tabela 5), os índices não alcançaram o percentual ótimo observado por Siqueira et al. (2002). Entretanto, para o N no tecido aéreo, as taxas de incremento mantiveram-se entre os percentuais estimados, e para o K aéreo e radicular e N no tecido radicular, os valores foram superiores aos relatados por Siqueira et al. (2002).

Tabela 5. Incremento no teor de potássio (K), fósforo (P) total e nitrogênio (N) no tecido da parte aérea e radicular de videiras (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon) 90 dias após a inoculação com FMA e FSP, isolados ou em combinação.

Tratamento	K radicular (g kg ⁻¹)	K aéreo (g kg ⁻¹)	P radicular (g kg ⁻¹)	P aéreo (g kg ⁻¹)	N radicular (g kg ⁻¹)	N aéreo (g kg ⁻¹)	
	I (%)	I (%)	I (%)	I (%)	I (%)	FRA - I (%)	FRA + I (%)
NI							
FSP 145	33,3	89,9	56,6	19,2	39,0	14,3	12,8
FMA	39,5	71,6	60,4	20,0	41,6	14,0	10,9
FSP145+FMA	33,8	88,3	56,6	20,0	41,2	17,0	9,8

NI = não inoculado; FSP = fungo solubilizador de fosfato; FMA = fungo micorrízico arbuscular; FRA - = sem adição de fosfato de rocha arad; FRA + = com adição de fosfato de rocha arad; I = incremento $\{100[(X-Y)/Y]\}$, X = tratamento inoculado e Y = tratamento controle}.

Ao final do experimento, a redução do fósforo no solo (Figura 1) foi maior nos tratamentos inoculados, principalmente naquelas com FMA, em comparação ao controle, o que pode ser atribuído à solubilização pelo FSP e maior aproveitamento na absorção deste elemento pelos FMA. A redução no teor de P no solo e maior crescimento das plantas inoculadas com FMA, isolado ou em combinação com FSP, demonstra o uso eficiente do P disponível no solo por meio da simbiose micorrízica, sugerindo a possibilidade de redução na adubação fosfatada.

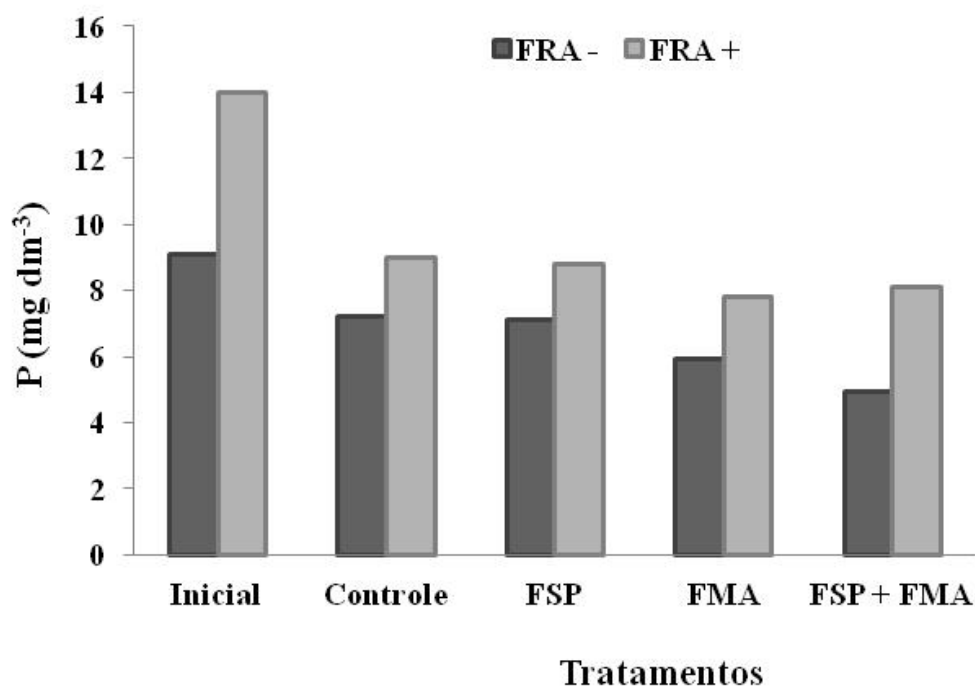


Figura 1. Teor de fósforo (P) total no solo no início e ao final do experimento, aos 90 dias, nos diferentes tratamentos de inoculação, na rizosfera de videira (*Vitis vinifera* cv. Cabernet sauvignon). Controle = sem FSP e sem FMA; FSP = fungo solubilizador de fosfato; FMA = fungo micorrízico arbuscular; FRA - = sem adição de fosfato de rocha arad; FRA + = com adição de fosfato de rocha arad.

Novas pesquisas devem ser realizadas visando confirmar a capacidade e/ou selecionar FSP e FMA capazes de beneficiar o crescimento e o teor de nutrientes, como potencial alternativa para redução de insumos agrícolas, principalmente para o cultivo de culturas de alta exigência nutricional e de importância para o desenvolvimento econômico da região semiárida. A aplicação de fungos solubilizadores de P e de fungos micorrízicos arbusculares é recomendada como uma forma sustentável para aumentar o rendimento das culturas e diminuir o uso excessivo de fertilizantes fosfatados.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de doutorado (Flavia Paiva Coutinho) e de PQ (Adriana Mayumi Yano-Melo), à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo auxílio à pesquisa, à Empresa Brasileira de

Pesquisa Agropecuária (Embrapa Semiárido) e à Fazenda Planaltino (ViniBrasil) pelo suporte à pesquisa.

6. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Fungos filamentosos potencialmente solubilizam fósforo (P) presente no solo, dentre estes, espécimes de *Aspergillus* apresentam maior eficiência na solubilização do que *Penicillium* para quatro fontes fosfatadas (fosfato monoamônico - MAP, termofosfato - TEF, superfosfato simples - SFS e fosfato de rocha arad - FRA), destacando-se os isolados FSP39, FSP145, FSP198 e FSP220. A solubilização *in vitro* por estes isolados, na concentração de 10^7 esporos mL^{-1} para $5 \text{ g P}_2\text{O}_5 \text{ kg}^{-1}$, reduz o uso das fontes fosfatadas (11,8 % MAP; 34,6 % SFS; 98,5 % TEF e 238,4 % FRA), otimizando a eficiência destes fertilizantes não renováveis adicionados ao solo e abrindo a perspectiva para sua aplicação, contribuindo para o desenvolvimento de um sistema agrícola sustentável. Para a consecução da tecnologia de aplicação de fungo solubilizador de fosfato (FSP), é necessário validar estes resultados no campo em diferentes condições climáticas e edáficas, visando entender os fatores que podem interagir no solo e modular a eficiência da inoculação.

A eficiência na solubilização de P demonstrada pelos isolados testados amplia a necessidade de mais estudos para avaliar o potencial de solubilização de outras fontes de fosfatos existentes no mercado, incluindo as que apresentam alta solubilidade, a exemplo do superfosfato simples, que pode ter redução de doses em virtude da inoculação, gerando economia de 25 % para cada kg utilizado.

Nas condições brasileiras, além dos esforços para selecionar micro-organismos com potencial de solubilização de fosfato, também deve-se enfatizar a importância de estudos referindo-se à ecologia das populações nativas de micro-organismos solubilizadores de P existentes nos solos. Dentre as futuras linhas de pesquisas destaca-se: a avaliação do efeito de diferentes práticas culturais, principalmente, do uso de diferentes fontes de P sobre essas populações.

Considerando a eficiência dos fungos na promoção do crescimento de videiras (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet sauvignon), a aplicação de fungos micorrízicos arbusculares [FMA (*Claroideoglomus etunicatum* e *Entrophospora infrequens*)] isolados ou em combinação com FSP145 (*Aspergillus brasiliensis*) pode ser recomendada, pois proporciona maior teor de nutrientes (nitrogênio - N, potássio - K e fósforo - P) e crescimento vegetal (área foliar, biomassa seca da parte aérea e radicular) do que o observado em plantas não inoculadas, aumentando as chances de estabelecimento no transplântio ao campo.

Novas pesquisas devem ser realizadas visando confirmar a capacidade e/ou selecionar FSP e FMA capazes de beneficiar o crescimento e o teor de nutrientes, como potencial alternativa para redução de insumos agrícolas, principalmente para o cultivo de culturas de alta exigência

nutricional e de importância para o desenvolvimento econômico da região semiárida. A aplicação de fungos solubilizadores de P e de fungos micorrízicos arbusculares é recomendada como uma forma sustentável para aumentar o rendimento das culturas e diminuir o uso excessivo de fertilizantes fosfatados.

Neste sentido, o aumento da disponibilidade de P para as plantas mediante o uso de fontes alternativas desse elemento e da inoculação com micro-organismos é extremamente complexo e vai exigir um esforço concentrado de pesquisa. A obtenção de micro-organismos com alta capacidade de solubilização de P por meios de técnicas convencionais e ou modernas, como a biologia molecular, não garantirá, por si mesmo, o êxito do programa, considerando que o ponto mais crítico é a introdução e o estabelecimento desses micro-organismos na rizosfera das plantas, no campo, nas mais variadas situações edafoclimáticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Achal, V., Savant, V.V., Reddy, M.S. 2007. Phosphate solubilization by a wild type strain and UV-induced mutants of *Aspergillus tubingensis*. *Soil Biology and Biochemistry* 39: 695-699.
- Agnihotri, V.P. 1970. Solubilization of insoluble phosphates by some fungi isolated from nursery seedbeds. *Canadian Journal of Microbiology* 16: 877-880.
- Ahamed, N., Jha, K.K. 1968. Solubilization of rock phosphate by micro-organisms isolated from Bihar soils. *Journal of General and Applied Microbiology* 14: 89-94.
- Ahuja, A., Ghosh, S.B., D'Souza, S.F. 2007. Isolation of a starch utilizing, phosphate solubilizing fungus on buffered medium and its characterization. *Bioresource Technology* 98: 3408-3411.
- Akintokun, A.K., Akande, G.A., Akintokun, P.O., Popoola, T.O.S., Babalola, A.O. 2007. Solubilization of insoluble phosphate by organic acid-producing fungi isolated from Nigerian soil. *International Journal of soil science* 2: 301-307.
- Alam, S., Khalil, S., Ayub, N., Rashid, M. 2002. *In vitro* solubilization of inorganic phosphate by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) from maize rhizosphere. *International Journal of Agriculture and Biology* 4: 454-458.
- Albuquerque, T.C.S. 2007. Potencial agrícola do solo: fator de nutrição das plantas. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/CPATSA/35799/1/OPB1323.pdf>. Acesso em: 26 abril 2010.
- Albuquerque, T.C.S., Dechen, A.R. 2000. Absorção de macronutrientes por porta-enxertos e cultivares de videira em hidroponia. *Scientia Agricola* 57: 135-139.
- Albuquerque, T.C.S., Silva, D.J., Faria, C.M.B., Pereira, J.R. 2009. Nutrição e Adubação. In: Soares, J.M., Leão, P.C.S. (eds.) *A vitivinicultura no semiárido brasileiro*. Petrolina, Embrapa Semi-Árido, pp. 431-443.
- Almeida, E.D. 2005. Nitrogênio e fósforo no solo de uma floresta de transição Amazônia Cerrado. Disponível em: http://pgfma.ufmt.br/pagina/index.php?option=com_docman&task=doc. Acesso em: 27 abril 2010.
- Andrada, M.M.C. 2005. Calibração visando recomendações de fertilização fosfatada para as principais culturas de grãos sob sistema plantio direto. Disponível em: <http://www.ipni.net/.../87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/.../Tesis%20Maestria%20Martín%20Maria%20Cubilla.pdf>. Acesso em: 27 abril 2010.
- Andrade, S.A.L., Silveira, A.P.D. 2004. Biomassa e atividade microbianas do solo sob influência de chumbo e da rizosfera da soja micorrizada. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 39: 1191-1198.
- Andreazza, R., Antonioli, Z.I., Silva, R.F., Longhi, S.J. 2004. Espécies de *Pisolithus* sp. na promoção de mudas de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden em solo arenoso. *Ciência Florestal* 14: 51-59.
- Anzanello, R., Souza, P.V.D., Casamali, B. 2011. Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em porta-enxertos micropropagados de videira. *Bragantia* 70: 409-415.
- Arora, D., Gaur, A. C. 1979. Microbial solubilization of different inorganic phosphates. *Indian Journal Experimental Biology* 17: 1258-1261.
- Asea, P.E.A., Kucey, R.M.N., Stewart, J.W.B. 1988. Inorganic phosphate solubilization by two *Penicillium* species in solution culture and soil. *Soil Biology and Biochemistry* 20: 459-464.
- Assumpção, L.C., Lacava, P.T., Dias, A.C.F., Azevedo, J.L., Menten, J.O.M. 2009. Diversidade e potencial biotecnológico da comunidade bacteriana endofítica de sementes de soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 44: 503-510.

- Babana, A.H., Antoun, H. 2006. Effect of Tilemsi phosphate rock-solubilizing microorganisms on phosphorus uptake and yield of field-grown wheat (*Triticum aestivum* L.) in Mali. *Plant and Soil* 287: 51-58.
- Bajipai, P.D. 1967. Influence of seed inoculation with phosphorus-solubilizing organisms on availability of phosphorus as estimated by Neubauer's technique using P^{32} as tracer. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 38: 696-700.
- Banik, S., Dey, B.K. 1982. Available phosphate content of an alluvial soil as influenced by inoculation of some isolated phosphate-solubilizing microorganisms. *Plant and Soil* 69: 353-364.
- Barber, D.A. 1968. Microorganisms and the inorganic nutrition of higher plants. *Annual Review of Plant Physiology* 19: 71-88.
- Bardiya, M.C., Gaur, A.C. 1974. Isolation and screening of microorganisms dissolving low-grade rock phosphate. *Folia Microbiologica* 19: 386-389.
- Barroso, C.B., Nahas, E. 2005. The status of soil phosphate fractions and the ability of fungi to dissolve hardly soluble phosphates. *Applied Soil Ecology* 29: 73-83.
- Barroso, C.B., Nahas, E. 2008. Solubilização do fosfato de ferro em meio de cultura. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 43: 529-535.
- Barroti, G., Nahas, E. 2000. População microbiana total e solubilizadora de fosfato em solo submetido a diferentes sistemas de cultivo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35: 2043-2050.
- Barthakur, H.P. 1978. Solubilization of relatively insoluble phosphate by some fungi isolated from rhizosphere or rice. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 48: 762-766.
- Belew, D., Astatkie, T., Mokashi, M.N., Getachew, Y., Patil, C.P. 2010. Effects of Salinity and Mycorrhizal Inoculation (*Glomus fasciculatum*) on Growth Responses of Grape Rootstocks (*Vitis* spp.). *South African Journal of Enology and Viticulture* 31: 82-88.
- Bertin, C., Yang, X., Weston, L.A. 2003. The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. *Plant and Soil* 256: 67-83.
- Bissani, C.A., Gianello, C., Camargo, F.A.O., Tedesco, M.J. 2008. *Fertilidade dos solos e manejo da adubação de culturas*. Porto Alegre, Metrópole, pp. 111-130.
- Bizukojc, M., Ledakowicz, S. 2004. The kinetics of simultaneous glucose and fructose uptake and product formation by *Aspergillus niger* in citric acid fermentation. *Process Biochemistry* 39: 2261-2268.
- Bojinova, D., Velkova, R., Ivanova, R. 2008. Solubilization of Morocco phosphorite by *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology* 99: 7348-7353.
- Bordin, I., Neves, C.S.V.J., Azevedo, M.C.B., Genta, W., Furlaneto, T.L.R. 2003. Arquitetura e dimensão do sistema radicular de sete porta-enxertos de videira no norte do estado do Paraná. *Revista Brasileira de Fruticultura* 25: 526-527.
- Borges, A.L., Souza, L.S., Alves, E.J. 2003. Exigências edafoclimáticas. Disponível em: <http://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:Fslx9wSKOlCJ:www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo_2322.pdf+Por+outro+lado,+aduba%C3%A7%C3%B5es+abaixo+das+necessidades+da+cultura+n%C3%A3o+oferecem+as+condi%C3%A7%C3%B5es+necess%C3%A1rias+para+a+obten%C3%A7%C3%A3o+de+produtividades+rent%C3%A1veis.&hl=ptBR&gl=br&pid=bl&srcid=ADGEEShASIULsdqW9bdL2wGf1ryTFDAnzvGILvb pLzSExx5y_w8ZM5UuhtMOZEAMWvR---j1VC_68NBr4k-eGess-jH2XtIJUMmiL263A3VaffFLdCy8wqgjmUbEl_FyStn0MVW3lvVz&sig=AHIEtbSYfyf uTE7cW6dqq5cnq8rKlKOOaA>. Acesso em: 26 abril 2010.
- BRDE. 2005. Vitivinicultura: situação atual e perspectivas. Disponível em: <http://www.brde.com.br/estudos_e_public/Vitivinicultura%20em%20Santa%20Catarina.pdf>. Acesso em: 26 abril 2010.

- Camargo, U.A. 2009. Variedades de uva. In: Guerra, C.C., Mandelli, F., Tonietto, J., Zanús, M.C., Camargo, U.A. (eds.) *Conhecendo o essencial sobre uvas e vinhos*. Bento Gonçalves, Embrapa Uva e Vinho, pp. 17-30.
- Caravaca, F., Alguacil, M.M., Azcón, R., Díaz, G., Roldán, A. 2004. Comparing the effectiveness of mycorrhizal inoculation and amendment with sugar beet, rock phosphate and *Aspergillus niger* to enhance field performance of the leguminous shrub *Dorycnium pentaphyllum* L. *Applied Soil Ecology* 25: 169-180.
- Caravaca, F., Alguacil, M.M., Barea, J.M., Roldán, A. 2005. Survival of inocula and native AM fungi species associated with shrubs in a degraded mediterranean ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 227-233.
- Cardoso, E.J.B.N., Cardoso, I.M., Nogueira, M.A., Marluce Baretta, C.R.D., Paula, A.M. 2010. Micorrizas arbusculares na aquisição de nutrientes pelas plantas. In: Siqueira, J.O., Souza, F.A., Cardoso, E.J.B.N., Tsai, S.M. (eds) *Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil*, pp. 153-214.
- Carneiro, W.M.A., Coelho, M.C.S.G. 2007. A Vitivinicultura no Nordeste brasileiro: características e perspectivas da atividade para a região. Disponível em: <<http://www.sober.org.br/palestra/6/189.pdf>>. Acesso em: 26 abril 2010.
- Carvalho, P.C.T., Eira, A.F., Pellegrino, D. 1969. Solubilização quantitativa de fosfatos insolúveis, por algumas espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. *Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz* 26: 173-185.
- Carvalho, W., Silva, D.D.V., Canilha, L., Mancilha, I.M. 2005. Aditivos alimentares produzidos por via fermentativa parte I: ácidos orgânicos. *Revista Analytica* 18: 70-76.
- Casida Jr., L.E. 1959. Phosphatase activity of some common soil fungi. *Soil Science* 87: 305-310.
- Cerezine, P.C., Nahas, E., Banzatto, D.A. 1988. Soluble phosphate accumulation by *Aspergillus niger* from fluorapatite. *Applied Microbiology and Biotechnology* 29: 501-505.
- Chabot, R., Antoun, H., Cescas, M.P. 1996. Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar. *Phaseoli*. *Plant and Soil* 184: 311-321.
- Chang, C.H., Yang, S.S. 2009. Thermo-tolerant phosphate-solubilizing microbes for multi-functional biofertilizer preparation. *Bioresource Technology* 100: 1648-1658.
- Chen, Y.P., Rekha, P.D., Arun, A.B., Shen, F.T., Lai, W.A., Young, C.C. 2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied soil ecology* 34: 33-41.
- Chhonkar, P.K., Subba Rao, N.S. 1967. Phosphate solubilization by fungi associated with legume root nodules. *Canadian Journal of Microbiology* 13: 749-753.
- Chuang, C.C., Kuo, Y.L., Chao, C.C., Chao, W.L. 2007. Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by *Aspergillus niger*. *Biology and Fertility of Soils* 43: 575-584.
- Colozzi Filho, A., Cardoso, E. J. B. N. 2000. Detecção de fungos micorrízicos arbusculares em raízes de cafeeiro e de crotalária cultivada na entrelinha. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35: 2033-2042.
- Costa, L.M., Cabral, J.S.R., Souchie, E.L., Silva, F.G., Caproni, A.L. Ácidos orgânicos, fungos solubilizadores de fosfato e fosfato de arad na cultura do trigo em solo de Cerrado. *Global Science and Technology* 2: 49-59.
- Coutinho, F.P., Cavalcanti, M.A.Q., Yano-Melo, A.M. 2010. Filamentous fungi isolated from the rhizosphere of melon plants (*Cucumis melo* L. cv. Gold Mine) cultivated in soil with organic amendments. *Acta Botânica Brasilica* 24: 292-298.

- Coutinho, F.P., Cavalcanti, M.A.Q., Yano-Melo, A.M. 2011. Phosphate-solubilizing fungi isolated from a semiarid area cultivated with melon (*Cucumis melo* L. cv. gold mine). *Acta Botânica Brasileira* 25: 929-931.
- Cunha, J. 2007. Manual de solos e fertilização. Disponível em: <<http://www.formate.com/mediateca/download-document/1527-manual-solo-e-fertilizacao.html>>. Acesso em: 27 abril 2010.
- Cunningham, J.E., Kuiack, C. 1992. Production of citric and oxalic acids and solubilization of calcium phosphate by *Penicillium bilajii*. *Applied and Environmental Microbiology* 58: 1451-1458
- Dakora, F.D., Philips, D.A. 2002. Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. *Plant and Soil* 245: 35-47.
- Das, A.C. 1963. Utilization of insoluble phosphates by soil fungi. *Journal of the Indian Society of Soil Science* 11: 203-207.
- Eira, A.F. 1992. Solubilização microbiana de fosfatos. In: Cardoso, E.J.B.N., Tsai, S.M., Neves, M.C.D. (eds) *Microbiologia do solo*. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, pp. 243-255.
- Eira, A.F., Carvalho, P.C.T. 1969. Determinação da influência da relação C/N, na solubilização da apatita de Araxá, pela microflora do solo. *Anais da Seção Regional da Sociedade Botânica do Brasil* 51: 6-7.
- Eira, A.F., Carvalho, P.C.T. 1970. Levantamento de microrganismos solubilizadores de fosfato. *Rickia* 5: 114-124.
- Embrapa. 1997. *Manual de Métodos de Análise de Solo*. Rio de Janeiro, Centro Nacional de Pesquisa de Solos.
- Faria, C.M.B., Silva, M.S.L., Silva, D.J. 2007. *Alterações em características de solos do Submédio São Francisco sob diferentes sistemas de cultivo*. Petrolina, Embrapa Semi-Árido.
- Feddermann, N., Finlay, R., Boller, T., Elfstrand, M. 2010. Functional diversity in arbuscular mycorrhiza – the role of gene expression, phosphorus nutrition and symbiotic efficiency. *Fungal Ecology* 3: 1-8.
- Fiorucci, A.R., Soares, M.H.F.B., Cavalheiro, E.T.G. 2002. Ácidos orgânicos. Disponível em: <<http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc15/v15a02.pdf>> Acesso em: 08 agosto 2010.
- Freitas, N., Yano-Melo, A.M., Silva, F.S.B., Melo, N.F., Maia, L.C. 2011. Soil biochemistry and microbial activity in vineyards under conventional and organic management at Northeast Brazil. *Scientia Agricola* 68: 223-229.
- Freund, M. 2007. Vinho no sertão: vinicultura no Vale do São Francisco. disponível em: <<http://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/busca.jsp?baseDados=ACERVO&unidade=TODAS&fraseBusca=%22M.%22%20em%20AUT&formFiltroAction=N&printAll=S>>. Acesso em: 26 abril 2010.
- Gaur, A.C., Mathur, R.S., Sadasivam, K.V. 1980. Effect of organic materials and phosphate-dissolving culture on the yield of wheat and greengram. *Indian Journal Agronomy* 5: 501-503.
- Gharieb, M.M. 2000. Nutritional effects on oxalic acid production and solubilization of gypsum by *Aspergillus niger*. *Mycological Research* 104: 550-556.
- Gharieb, M.M., Gadd, G.M. 1999. Influence of nitrogen source on the solubilization of natural gypsum ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) and the formation of calcium oxalate by different oxalic and citric acid-producing fungi. *Mycological Research* 103: 473-481.
- Ghodhbane-Gtari, F., Essoussi, I., Chattaoui, M., Chouaia, B., Jaouani, A., Daffonchio, D., Boudabous, A., Gtari, M. 2010. Isolation and characterization of non-*Frankia* actinobacteria from root nodules of *Alnus glutinosa*, *Casuarina glauca* and *Elaeagnus angustifolia*. *Symbiosis* 50: 51-57.

- Giovanetti, M., Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84:489-500.
- Gomes, M.A.F., Souza, M.D., Boeira, R.C., Toledo, L.G. 2008. *Nutrientes Vegetais no Meio Ambiente: ciclos bioquímicos, fertilizantes e corretivos*. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente.
- González, F.M. 2005. Influência dos fatores edafoclimáticos nas uvas e vinhos Cabernet Sauvignon de diferentes pólos vitícolas do Rio Grande do Sul. Disponível em: <<http://www.cipedia.com/web/FileDownload.aspx?IDFile=153431>>. Acesso em: 20 abril 2010.
- Gupta, N., Sahoo, D., Basak, U.C. 2010a. Evaluation of *in vitro* solubilization potential of phosphate solubilising *Streptomyces* isolated from phyllosphere of *Heritiera fomes* (mangrove). *African Journal of Microbiology Research* 4: 136-142.
- Gupta, N., Das, S., Basak, U.C. 2010b. TCP and rock phosphate solubilization by mangrove fungi grown under different pH and temperature in liquid culture. *Journal of Agricultural Technology* 6: 421-428.
- Hamdali, H., Bouizgarne, E., Hafidi, M., Lebrihi, A., Virolle, M.J., Ouhdouch, Y. 2008. Screening for rock phosphate solubilizing Actinomycetes from Moroccan phosphate mines. *Applied Soil Ecology* 38: 12-19.
- Hinsinger, P. 2001. Bioavailability of soil inorganic in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: review. *Plant and Soil* 237: 173-195.
- IBRAVIN. 2010. Principais regiões produtoras. Disponível em: <<http://www.ibravin.org.br/regioesprodutoras.php>>. Acesso em: 13 abril 2010.
- Illmer, P., Barbato, A., Schinner, F. 1995. Solubilization of hardly-soluble AlPO_4 with P-solubilizing microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry* 27: 265-270.
- Illmer, P., Schinner, F. 1992. Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from Forest soils. *Soil Biology and Biochemistry* 24: 389-395.
- Jones, D., Smith, B.F.L., Wilson, M.J., Goodman, B.A. 1991. Phosphate solubilizing fungi in a Scottish upland soil. *Mycological Research* 95: 1090-1093.
- Leão, P.C.S., Soares, J.M., Rodrigues, B.L. 2009. Principais cultivares. In: Soares, J.M., Leão, P.C.S. (eds.) *A vitivinicultura no semiárido brasileiro*. Petrolina, Embrapa Semi-Árido, pp. 151-214.
- Luiz, J.T. 2008. Teores de nitrogênio e potássio do cafeeiro recepado em diferentes doses de P_2O_5 . Disponível em: <http://www.muz.ifsuldeminas.edu.br/.../teores_nitrogenio_potassio_cafeeiro_recepado.pdf>. Acesso em: 26 abril 2010.
- Kang, S.C., Pandey, P., Khillan, R., Maheshwari, D.K. 2008. Process of rock phosphate solubilization by *Aspergillus* sp. PS 104 in soil amended medium. *Journal of Environmental Biology* 29: 743-746.
- Kapri, A., Tewari, L. 2010. Phosphate solubilization potential and phosphatase activity of rhizospheric *Trichoderma* spp. *Brazilian Journal of Microbiology* 41: 787-795.
- Kara, Z., Sabir, A., Duman, S. 2011. Effects of mycorrhizal applications on vegetative development of grape cuttings. *Bulletin UASVM Horticulture* 68: 269-274.
- Katznelson, H., Peterson, E.A., Rouatt, J.W. 1962. Phosphate dissolving microorganisms on seed and in the root zone of plants. *Canadian Journal of Botany* 40: 1181-1186.
- Khan, M.S., Zaidi, A., Ahemad, M., Oves, M., Wani, P.A. 2010. Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi – current perspective. *Archives of Agronomy and Soil Science* 56: 73-98.
- Klich, M. 2002. *Identification of Common Aspergillus Species*. Utrecht, The Netherlands, Centraalbureau voor Schimmelcultuur.

- Kohler, J., Caravaca, F., Carrasco, L., Roldán, A. 2007. Interactions between a plant growth-promoting rhizobacterium, an AM fungus and a phosphate-solubilising fungus in the rhizosphere of *Lactuca sativa*. *Applied Soil Ecology* 35: 480-487.
- Kucey, R.M.N. 1983. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. *Canadian Journal of Soil Science* 63: 671-678.
- Kucey, R.M.N. 1987. Increased phosphorus uptake by wheat and field beans inoculated with a phosphorus-solubilizing *Penicillium biliji* strain and with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology* 53: 2699-2703.
- Kumari, A., Kapoor, K.K., Kundu, B.S., Mehta, R.K. 2008. Identification of organic acids produced during rice straw decomposition and their role in rock phosphate solubilization. *Plant and Soil Environment* 54: 72-77.
- Lv, J., Gao, X., Wang, L., An, L. 2008. Phosphate solubilization by *Aspergillus niger* DUT X1 isolation from agricultural soil. *Journal of Biotechnology* 136: 607-619.
- Machado, J.O., Piccin, C.R., Barbosa, J.C., Nahas, E. 1983. Ação de vinhaça e fosfato natural sobre a população de bactérias solubilizadoras de fosfato bicálcico, habitantes da rizosfera de *Lycopersicon esculentum* (Mill.) cv. Petomech. *Científica* 11: 63-69.
- Machado, V.J., Souza, C.H.E., Andrade, B.B., Lana, R.M.Q., Korndorfer, G.H. 2011. Availability curves of phosphorus in soils with different textures after application of increasing doses of monoammonium phosphate. *Bioscience Journal* 27: 70-76.
- Magnuson, J.K., Lasure, L.L. 2004. Organic acid production by filamentous fungi. In: Tkacz, J.S., Lange, L. (eds.) *Advances in fungal biotechnology for industry agriculture and medicine*. New York, Plenum Publishers, pp. 307-340.
- Mason, J.C., Olwen, M.B., Broda, P. 1990. Preparation of ¹⁴C-radiolabelled lignocelluloses from spring barley of differing maturities and their solubilization by *Phanerochaete chrysosporium* and *Streptomyces cyaneus*. *Journal of General Microbiology* 136: 227-232.
- Matias, S.R., Pagano, M.C., Muzzi, F.C., Oliveira, C.A., Carneiro, A.A., Horta, S.N., Scotti, M.R. 2009. Effect of rhizobia, mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing microorganisms in the rhizosphere of native plants used to recover an iron ore area in Brazil. *European Journal of Soil Biology* 1: 1-8.
- Mehta, Y.R., Bhide, V.P. 1970. Solubilization of tricalcium phosphate by some soil fungi. *Indian Journal of Experimental Biology* 8: 228-229.
- Mello, L.M.R. 2003. Regiões Vitivinícolas Brasileiras. In: Kuhn, G.B. (ed.) *Uva para processamento: produção*. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica, pp. 15-17.
- Melo, G.W. 2002. Recomendações de fertilizantes e corretivos para a cultura da videira. Disponível em: < <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/538933/1/Cit40.pdf>>. Acesso em: 24 fevereiro 2012.
- Melo, G.W. 2008. Adubação e manejo do solo para a cultura da videira. Disponível em: < <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/sprod/viticultura/adubvid.html>>. Acesso em: 09 fevereiro 2012.
- Mendes, I.C., Reis Júnior, F.B. 2003. *Microrganismos e disponibilidade de fósforo (P) nos solos: uma análise crítica*. Planaltina, Embrapa Cerrados.
- Minhoni, M.T.A., Auler, P.A.M. 2003. Efeito do fósforo, fumigação do substrato e fungo micorrízico arbuscular sobre o crescimento de plantas de mamoeiro. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 27: 841-847.
- Mittal, V., Singh, O., Nayyar, H., Kaur, J., Tewari, R. 2008. Stimulatory effect of phosphate-solubilizing fungal strains (*Aspergillus awamori* and *Penicillium citrinum*) on the yield. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 718-727.
- Nahas, E. 1989. Control and localization of the phosphatases in conidia of *Neurospora crassa*. *Canadian Journal of Microbiology* 134: 227-233.

- Nahas, E. 1991. *Ciclo do fósforo*: transformações microbianas. Jaboticabal, FUNEP.
- Nahas, E., Assis, L.C. 1992. Efeito da concentração de fosfato na solubilização de fluorapatita por *Aspergillus niger*. *Revista de Microbiologia* 23: 37-42.
- Nahas, E., Assis, L.C. 1991. Efeito da adição ao solo de fosfato solúvel obtido por via microbiológica a partir de fluorapatita. *Revista Latino-americana de Microbiologia* 33: 225-229.
- Nahas, E., Centurion, J.F., Assis, L.C. 1994a. Microrganismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases de vários solos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 18: 43-48.
- Nahas, E., Centurion, J.F., Assis, L.C. 1994b. Efeitos das características químicas e dos solos sobre os microrganismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 18: 49-53.
- Nahas, E., Fornasier, D.J., Assis, L.C. 1994c. Resposta à inoculação de fungo solubilizador de fósforo em milho. *Scientia Agricola* 51: 463-469.
- Nahas, E., Rossi, A. 1984. Properties of a repressible alkaline phosphatase secreted by the wild-type strain 74A of *Neurospora crassa*. *Phytochemistry* 23: 507-510.
- Nahas, E., Terenzi, H.F., Rossi, A. 1982. Effect of carbon source and pH on the production and secretion of acid phosphatase (EC. 3.1.3.2) and alkaline phosphatase (EC 3.1.3.1) in *Neurospora crassa*. *Journal of General Microbiology* 128: 2017-2021.
- Nair, S.K., Subba Rao, N.S. 1977. Distribution and activity of phosphate solubilizing microorganisms in the rhizosphere of coconut and cação under mixed cropping. *Journal of Plantation Crops* 5: 67-70.
- Narloch, C., Oliveira, V.L., Anjos, J.T., Silva Filho, G.N. 2002. Respostas da cultura do rabanete à inoculação de fungos solubilizadores de fosfatos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37: 841-845.
- Narsian, V., Patel, H.H. 2000. *Aspergillus aculeatus* as a rock phosphate solubilizer. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 559-565.
- Nenwani, V., Doshi, P., Saha, T., Rajkumar, S. 2010. Isolation and characterization of a fungal isolate for phosphate solubilization and plant growth promoting activity. *Journal of Yeast and Fungal Research* 1: 09-14.
- Nogueira, M.A., Cardoso, E.J.B.N. 2000. Produção de micélio externo por fungos micorrízicos arbusculares e crescimento da soja em função de doses de fósforo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 24: 329-338.
- Nopparat, C., Jatupompipat, M., Rittiboon, A. 2007. Isolation of phosphate solubilizing fungi in soil from Kanchanaburi, Thailand. *KMITL Science & Technology Journal* 7: 137-146.
- Oliveira, C.A., Alves, V.M.C., Marriel, I.E., Gomes, E.A., Scotti, M.R., Carneiro, N.P., Guimarães, C.T., Schaffert, R.E., Sá, N.M.H. 2008. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. *Soil Biology and Biochemistry* 41: 1-6.
- Oliveira, M.L.C., Lopes, E.C., Silva, M.T.R., Nagai, V. 1977. Influência da oxidação microbiológica do enxofre na solubilização da apatita de Araxá. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 1: 24-28.
- Omar, S.A. 1998. The role of rock-phosphate-solubilizing fungi and vesicular-arbuscular-mycorrhiza (VAM) in growth of wheat plants fertilized with rock phosphate. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 14: 211-218.
- Ortuno, A., Hernandez, A., Nogueira, J., Morales, V., Armero, T. 1978. Accion solubilizadora del fósforo por *Aspergillus niger* y *Pseudomonas fluorescens*. *Microbiologia Espanola* 30-31: 113-120.
- Ortuno, A., Nogueira, J., Hernandez, A., Morales, V., Armero, T. 1978. Metabolismo fosfórico de *Aspergillus niger* em suelos calizos y salinos. *Microbiologia Espanola* 30-31: 101-112.

- Osaki, F. 2008. Distribuição espacial de microrganismos e fertilidade em solos. Disponível em: <http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/1884/18368/1/t250_0277-D.pdf>. Acesso em: 27 abril 2010.
- Ouahmane, L., Thioulouse, J., Hafidi, M., Prin, Y., Ducousso, M., Galiana, A., Plenchette, C., Kisa, M., Duponnois, R. 2007. Soil functional diversity and P solubilization from rock phosphate after inoculation with native or allochthonous arbuscular mycorrhizal fungi. *Forest Ecology and Management* 241: 200-208.
- Papagianni, M., Frank, W., Matthey, M. 2005. Fate and role of ammonium ions during fermentation of citric acid by *Aspergillus niger*. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 7178-7186.
- Pereira, J.B., Faria, C.M.B. 1998. Sorção de fósforo em alguns solos do semi-árido do nordeste brasileiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 33: 1179-1184.
- Pereira, G.E., Guerra, C.C., Manfroí, L. 2009. Vitivinicultura e enologia. In: Soares, J.M., Leão, P.C.S. (eds.) *A vitivinicultura no semiárido brasileiro*. Petrolina, Embrapa Semi-Árido, pp. 679-723.
- Peres, L.E.P. 2009. Nutrição mineral de plantas. Disponível em: <<http://docentes.esalq.usp.br/lazaropp/FisioVegGradBio/NutricaoMineral.PDF>>. Acesso em: 26 abril 2010.
- Pitt, J.I. 1988. *A laboratory guide to common Penicillium species*. North Ryde, CSIRO Division of Food Processing.
- Pradhan, N., Sukla, L.B. 2005. Solubilization of inorganic phosphates by fungi isolated from agriculture soil. *African Journal of Biotechnology* 5: 850-854.
- Prado, R.M. 2009. Manual de nutrição de plantas forrageiras. Disponível em: <http://www.nutricaoodeplantas.agr.br/site/downloads/nutricaoforrageira_A5.pdf>. Acesso em: 27 abril 2010.
- Raghu, K., MacRae, I.C. 1966. Occurrence of phosphate dissolving microorganisms in the rhizosphere of Rice plants and in submerged soils. *Journal of Applied Bacteriology* 29: 582-586.
- Raij, B. 2003. Fósforo no solo e interação com outros elementos. Disponível em: <[http://www.ipni.org.br/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/7759ddc6878ca7eb83256d05004c6dd1/\\$FILE/Jornal102.pdf](http://www.ipni.org.br/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/7759ddc6878ca7eb83256d05004c6dd1/$FILE/Jornal102.pdf)>. Acesso em: 08 agosto 2010.
- Rajan, S.S.S., Watkinson, J.H., Sinclair, A.G. 1996. Phosphate rocks for direct application to soils. *Advances in Agronomy* 57: 77-159.
- Ralston, D.B., Mc Bride, R.P. 1976. Interaction of mineral phosphate-dissolving microbes with red pine seedlings. *Plant and Soil* 45: 493-507.
- Ramos, A., Callao, V. 1967. El empleo de la solubilizacion de fosfato en placa como tecnica diferencial bacteriana. *Microbiologia Espanola* 20: 1-12.
- Ramos, A., Callao, V., Carvalho, P.C.T. 1968. La solubilizacion de fosfatos por hongos del suelo. *Microbiologia Espanola* 21: 23-37.
- Reddy, M.S., Kumar, S., Babita, K. 2002. Biosolubilization of poorly soluble rock phosphates by *Aspergillus tubingensis* and *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology* 84: 187-189.
- Reyes, I., Bernier, L., Simard, R., Tanguay, P.H., Antoun, H. 1999. Characteristics of phosphate solubilization by an isolate of a tropical *Penicillium rugulosum* and two UV-induced mutants. *FEMS Microbiology Ecology* 28: 291-295.
- Richardson, A.E. 2001. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Australian Journal of Plant Physiology* 28: 897-906.
- Rodríguez, H., Fraga, R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances* 17: 319-339.

- Rooyen, M., Valentine, A., Archer, E. 2004. Arbuscular mycorrhizal colonisation modifies the water relations of young transplanted grapevines (*Vitis*). *South African Journal of Enology and Viticulture* 25: 37-42.
- Rousk, J., Brookes, P.C., Baath, E. 2009. Contrasting soil pH effects on fungal and bacterial growth suggest functional redundancy in carbon mineralization. *Applied and Environmental Microbiology* 75: 1589-1596.
- Rudresh, D.L., Shivaprakash, M.K., Prasad, R.D. 2005. Tricalcium phosphate solubilizing abilities of *Trichoderma* spp. in relation to P uptake and growth and yield parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Canadian Journal of Microbiology* 51: 217-222.
- Saber, W.I.A., Ghanem, K.M., El-Hersh, M.S. 2009. Rock phosphate solubilization by two isolates of *Aspergillus niger* and *Penicillium* sp. and their promotion to mung bean plants. *Research Journal of Microbiology* 4: 235-250.
- Sahu, S.N., Jana, B.B. 2000. Enhancement of the fertilizer value of rock phosphate engineered through phosphate solubilizing bacteria. *Ecological Engineering* 15: 27-39.
- Samson, R.A., Frisvad, J.C. 2004. *Penicillium* subgenus *Penicillium*: new taxonomic schemes and mycotoxins and other extrolites. *Studies in Mycology* 49: 1-174.
- Santos, H.G., Jacomine, P.K.T., Anjos, L.H.C., Oliveira, V.A., Oliveira, J.B., Coelho, M.R., Lumberras, J.F., Cunha, T.J.F. 2006. *Sistema brasileiro de classificação de solos*. Rio de Janeiro, Embrapa Solos.
- Santos, A.B., Rabelo, R.R. 2008. Informações técnicas para a cultura do arroz irrigado no Estado do Tocantins. Santo Antônio de Goiás, Embrapa Arroz e Feijão.
- Santos, A.O., Rolim, G.S., Hernades, J.L., Pedro-Jr, M.J. 2009. A maturação fisiológica da videira vinífera em São Paulo. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/Tecnologias/Maturacao%20vitis/matura%C3%A7%C3%A3o%20vitis.pdf>>. Acesso em: 07 agosto 2010.
- Sharma, K., Dak, G., Agrawal, A., Bhatnagar, M., Sharma, R. 2007. Effect of phosphate solubilizing bactéria on the germination of *Cicer arietinum* seeds and seedling growth. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology* 1: 61-63.
- Sharpley, A.N. 1995. Soil phosphorus dynamics: agronomic and environmental impacts. *Ecological Engineering* 5: 261-279.
- Silva, G.A., Siqueira, J.O., Stürmer, S.L. 2009. Eficiência de fungos micorrízicos arbusculares isolados de solos sob diferentes sistemas de uso na região do Alto Solimões na Amazônia. *Acta Amazônica* 39: 477-488.
- Silva, P.C.G., Correia, R.C. 2004. Cultivo da videira. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/CultivodaVideira/socioeconomia.htm>>. Acesso em: 26 abril 2010.
- Silva, P.C.G., Correia, R.C., Soares, J.M. 2009. Histórico e importância socioeconômica. In: Soares, J.M., Leão, P.C.S. (eds.) *A vitivinicultura no semiárido brasileiro*. Petrolina, Embrapa Semi-Árido, pp. 21-33.
- Silva Filho, G.N., Narloch, C., Scharf, R. 2002. Solubilização de fosfatos naturais por microrganismos isolados de cultivos de *Pinus* e *Eucalyptus* de Santa Catarina. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37: 847-854.
- Silva Filho, G.N., Vidor, C. 2000. Solubilização de fosfatos por microrganismos na presença de fontes de carbono. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 24: 311-329.
- Silva Filho, G.N., Vidor, C. 2001. Atividade de microrganismos solubilizadores de fosfatos na presença de nitrogênio, ferro, cálcio e potássio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 36: 1495-1508.
- Silveira, A.P.D., Freitas, S.S. 2007. *Microbiota do solo e qualidade ambiental*. Campinas, Instituto Agrônomo.

- Singh, H., Reddy, M.S. 2011. Effect of inoculation with phosphate solubilizing fungus on growth and nutrient uptake of wheat and maize plants fertilized with rock phosphate in alkaline soils. *European Journal of Soil Biology* 47: 30-34.
- Singh, S.M., Yadav, L.S., Singh, S.K., Singh, P., Singh, P.N., Ravindra, R. 2011. Phosphate solubilizing ability of two Arctic *Aspergillus niger* strains. *Polar Research* 30: 72-83.
- Siqueira, J.O., Andrade, A.T., Faquin, V. 2003. O papel dos microrganismos na disponibilidade de fósforo da rizosfera para as plantas. Disponível em: <[http://www.ipni.org.br/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/7759ddc6878ca7eb83256d05004c6dd1/\\$FILE/Jornal102.pdf](http://www.ipni.org.br/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/7759ddc6878ca7eb83256d05004c6dd1/$FILE/Jornal102.pdf)>. Acesso em: 08 agosto 2010.
- Siqueira, J.O., Lambais, M.R., Stürmer, S.L. 2002. Fungos micorrízicos arbusculares: origem e características dos fungos Glomaleanos. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento* 25: 12-21.
- Smith, S.E., Read, D. 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. Boston, Academic Press.
- Soares, M.M., Carvalho Júnior, L.C. 2009. Breve diagnóstico da produção de uva e vinho. Disponível em: <<http://www.apec.unesc.net/III%20EEC/Rural/Artigo%2034.doc>>. Acesso em: 02 abril 2010.
- Son, H.J., Park, G.T., Cha, M.S., Heo, M.S. 2006. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel salt and pH-tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere. *Bioresource Technology* 97: 204-210.
- Souchie, E.L., Abboud, A.C.S. 2007. Solubilização de fosfato por microrganismos rizosféricos de genótipos de Guandu cultivados em diferentes classes de solo. *Ciências Agrárias* 28: 11-18.
- Souchie, E.L., Abboud, A.C.S., Caproni, A.L. 2007. Solubilização de fosfato *in vitro* por microrganismos rizosféricos de Guandu. *Biosciencie Journal* 23: 53-60.
- Souchie, E.L., Azcón, R., Barea, J.M., Saggin-Júnior, O.J., Silva, E.M.R. 2005. Solubilização de fosfatos em meios sólido e líquido por bactérias e fungos do solo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 40: 1149-1152.
- Souchie, E.L., Azcón, R., Barea, J.M., Saggin-Júnior, O.J., Silva, E.M.R. 2006. Phosphate solubilization and synergism between P-solubilizing and arbuscular mycorrhizal fungi. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41: 1405-1411.
- Souza, A.M., Moura, A.F.C., Britto, W.S.F. 2008. Insumos agrícolas utilizados na cultura da uva no Vale do São Francisco. Disponível em: <http://www.facape.br/gepagro/publicacoes/artigos/artigo_02.pdf>. Acesso em: 26 abril 2010.
- Souza, J.L. 2008. Cultivo orgânico de frutas e hortaliças. Disponível em: <http://200.137.78.15/Mini-cursos/2_Cultivo_organico/mini_curso.pdf>. Acesso em: 26 abril 2010.
- Sperber, J.I. 1958a. Solution of apatite by soil microorganisms producing organic acids. *Australian Journal of Agricultural Research* 9: 782-787.
- Sperber, J.I. 1958b. The incidence of apatite solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. *Australian Journal of Agricultural Research* 9: 778-781.
- Stamford, N.P., Moura, P.M., Lira Júnior, M.A., Santos, C., Duenhas, L.H., Gava, C. 2009. Chemical attributes of an Argisolo of the Vale do São Francisco after melon growth with phosphate and potash rocks biofertilizers. *Horticultura Brasileira* 27: 447- 452.
- Stamford, N.P., Santos, P.R., Moura, A.M.M.F., Santos, C.E.R.S., Freitas, A.D.S. 2003. Biofertilizers with natural phosphate, sulphur and *Acidithiobacillus* in a soil with low available-P. *Scientia Agricola* 60: 767-773.
- Statsoft Inc, 1997. *Statistica for Windows*. Statsoft Inc, Tulsa.
- Subba Rao, N.S., Bajpai, P.D. 1965. Fungi on the surface of legume root nodules and phosphate solubilizations. *Experientia* 21: 386-387.

- Sundara Rao, W.V.B., Sinha, M.K. 1963. Phosphate dissolving micro-organisms in the soil and rhizosphere. *Indian Journal of Agricultural Science* 33: 272-278.
- Surange, S. 1985. Comparative phosphate solubilizing capacity of some soil fungi. *Current Science* 33: 1134-1135.
- Sylvester-Bradley, R., Asakawa, N., La Torraca, S., Magalhães, F.M.M., Oliveira, L.A., Pereira, R.M. 1982. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfatos na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. *Acta Amazônica* 12: 15-22.
- Tedesco, M.J., Gianello, C., Bissani, C.A., Bohnen, H., Volkweiss, S.J. 1995. *Análises de solo, plantas e outros materiais*, 2 ed. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Tonietto, J. 2009. Regiões de produção. In: Guerra, C.C., Mandelli, F., Tonietto, J., Zanús, M.C., Camargo, U.A. (eds.) *Conhecendo o essencial sobre uvas e vinhos*. Bento Gonçalves, Embrapa Uva e Vinho, pp. 9-16.
- Tonietto, J., Falcade, I. 2003. Regiões Vitivinícolas Brasileiras. In: Kuhn, G.B. (ed.) *Uva para processamento: produção*. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica, p. 10-14.
- Thomas, G.U., Shantaram, M.V., Saraswathy, N. 1985. Occurrence and activity of phosphate-solubilizing fungi from coconut plantation soils. *Plant and Soil* 87: 357-364.
- Tuovinen, O.H., Hiltunen, P., Vuorinen, A. 1983. Solubilization of phosphate, uranium, and iron from apatite and uranium containing rock samples in synthetic and microbiologically produced acid lach solutions. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology* 17: 327-333.
- Vassilev, N., Baca, M.T., Vassileva, M., Franco, I., Azcon, R. 1995. Rock phosphate solubilization by *Aspergillus niger* grown on sugar-beet waste medium. *Applied Microbiology and Biotechnology* 44: 546-549.
- Vassilev, N., Franco, I., Vassileva, M., Azcon, R. 1996. Improved plant growth with rock phosphate solubilized by *Aspergillus niger* grown on sugarbeet waste. *Bioresource Technology* 55: 237-241.
- Vassilev, N., Vassileva, M. 2003. Biotechnological solubilization of rock phosphate on media containing agro-industrial wastes. *Applied Microbiology and Biotechnology* 61: 435-440.
- Vassilev, N., Medina, A., Azcón, R., Vassileva, M. 2006. Microbial solubilization of rock phosphate on media containing agro-industrial wastes and effect of the resulting products on plant growth and P uptake. *Plant and Soil* 287: 77-84.
- Vassilev, N., Vassileva, M., Bravo, V., Fernández-Serrano, M., Nikolaeva, I. 2007. Simultaneous phytase production and rock phosphate solubilization by *Aspergillus niger* grown on dry olive wastes. *Industrial Crops and Products* 26: 332-336.
- Vassileva, M., Vassilev, N., Azcon, R. 1998. Rock phosphate solubilization by *Aspergillus niger* on olive cake-based medium and its further application in a soil-plant system. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 14: 281-284.
- Vazquez, P., Holguin, G., Puente, M.E., Lopez-Cortes, A., Bashan, Y. 2000. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. *Biology and Fertility of Soils* 30: 460-468.
- Velázquez, E., Rodríguez-Barrueco, C. 2002. *First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization*. Disponível em: http://books.google.com.br/books?id=q4cwUnnpnKIC&pg=PA107&lpg=PA107&dq=Vel%C3%A1zquez+%26+Rodr%C3%ADguez-Barrueco,+2002&source=bl&ots=MkRU_Phim4&sig=uQ7cXIAOd6HiXDW8teLegCEjzkg&hl=pt-BR&ei=ApXnTrvZJ6Xy2QX-sNmyCQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&sqi=2&ved=0CCEQ6AEwAA#v=onepage&q=Vel%C3%A1zquez%20%26%20Rodr%C3%ADguez-Barrueco%2C%202002&f=false. Acesso em: 13 dezembro 2011.

- Venkateswarlu, B., Rao, A.V., Raina, P. 1984. Evaluation of phosphorus solubilization by microorganisms isolated from arid-isols. *Journal of the Indian Society of Soil Science* 32: 273-277.
- Vitti, G.C., Wit, A., Fernandes, B.E.P. 2003. Eficiência agronômica de termofosfatos e fosfatos alternativos. Disponível em: <[http://www.ipni.org.br/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/7759ddc6878ca7eb83256d05004c6dd1/\\$FILE/Jornal102.pdf](http://www.ipni.org.br/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/7759ddc6878ca7eb83256d05004c6dd1/$FILE/Jornal102.pdf)>. Acesso em: 08 agosto 2010.
- Vyas, P., Rahi, P., Chauhan, A., Gulati, A. 2007. Phosphate solubilization potential and stress tolerance of *Eupenicillium parvum* from tea soil. *Mycological Research* 111: 931-938.
- Wahid, O.A., Mehana, T.A. 2000. Impact of phosphate-solubilizing fungi on the yield and phosphorus-uptake by wheat and faba bean plants. *Microbiological research* 155: 221-227.
- Wakelin, S.A., Warren, R.A., Harvey, P.R., Ryder, M.H. 2004. Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. closely associated with wheat roots. *Biology and Fertility of Soils* 40: 36-43.
- Wani, P.V., More, B.B., Patil, P.L. 1979. Physiological studies on the activity of phosphorus solubilizing micro-organisms. *Indian Journal of Microbiology* 19: 23-25.
- Weber, O.B., Souza, C.C.M.S., Gondin, D.M.F., Oliveira, F.N.S., Crissóstomo, L.A., Caproni, A.L., Saggin Júnior, O. 2004. Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada em mudas de cajueiro-anão-precoce. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 39: 477-483.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In; Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J. (eds.) *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. New York, Academic Press Inc, pp. 315-322.
- Whitelaw, M.A. 2000. Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. *Advances in Agronomy* 69: 99-151.
- Xiao, C.Q., Chi, R.A., Huang, X.H., Zhang, W.X., Qiu, G.Z., Wang, D.Z. 2008. Optimization for rock phosphate solubilization by phosphate-solubilizing fungi isolated from phosphate mines. *Ecological Engineering* 33: 187-193.
- Yadav, R.S., Tarafdar, J.C. 2003. Phytase and phosphatase producing fungi in arid and semi-arid soils and their efficiency in hydrolyzing different organic P compounds. *Soil Biology and Biochemistry* 35: 1-7.
- Yadav, J., Verma, J.P., Tiwari, K.N. 2011. Plant growth promoting activities of fungi and their effect on chickpea plant growth. *Asian Journal of Biological Sciences* 4: 291-299.
- Young, C.C. 1990. Effects of phosphorus-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of tree species in subtropical-tropical soils. *Soil Science and Plant Nutrition* 36: 225-231.
- Zayed, G., Abdel-Motaal, H. 2005. Bio-production of compost with low pH and high soluble phosphorus from sugar cane bagasse enriched with rock phosphate. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 21: 747-752.
- Zhu, H.J., Sun, L.F., Zhang, Y.F., Zhang, X.L., Qiao, J.J. 2012. Conversion of spent mushroom substrate to biofertilizer using a stress-tolerant phosphate-solubilizing *Pichia farinose* FL7. *Bioresource Technology* 111: 410-416.
- Zhu, P.M., Yang, X.M., Xu, Y.C., Ouyang, H., Shen, Q.R. 2007. High effective phosphate-solubilizing bacteria: their isolation and promoting effect on corn seedling growth. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao* 18: 107-112.

APÊNDICE

Quadro 1. Quantidades de N, P e K recomendadas para adubação de plantio e de crescimento de videira para produção de uvas de mesa e de vinho.

Fase	N kg ha ⁻¹	UVAS DE MESA							
		P no solo, mg dm ⁻³				K no solo, cmol _c dm ⁻³			
		Solo arenoso				> 0,16 0,16-0,30 0,31-0,45 >0,45			
		< 11	11-20	21-40	>40				
		Solo argiloso				K x 100/CTC			
		< 6	6-10	11-20	>20	<5	5-10	11-15	>15
		-----kg ha ⁻¹ de P ₂ O ₅ -----				-----kg ha ⁻¹ de K ₂ O-----			
Plantio	-	160	120	80	40	30	-	-	-
Crescimento	260	-	-	-	-	160	120	80	40

Fase		UVAS DE VINHO							
		P no solo, mg dm ⁻³				K no solo, cmol _c dm ⁻³			
		Solo arenoso				> 0,08 0,08-0,15 0,16-0,21 >0,21			
		< 11	11-20	21-40	>40				
		Solo argiloso				K x 100/CTC			
		< 6	6-10	11-20	>20	<3	3-6	7-9	>9
		-----kg ha ⁻¹ de P ₂ O ₅ -----				-----kg ha ⁻¹ de K ₂ O-----			
Plantio	-	120	90	60	30	-	-	-	-
Crescimento	60-90	-	-	-	-	90	60	30	-

Fonte: Albuquerque et al. (2009).

Quadro 2. Fungos solubilizadores de fosfato, fontes de P avaliadas, outros micro-organismos associados e benefícios promovidos pela solubilização.

Fungos solubilizadores de P	Fontes de fósforo	Outros micro-organismos associados	Benefícios	Referência
ANAMORFOS				
<i>Aspergillus</i> sp.	Fitina Glicerofosfato Fosfato de alumínio (16 % P_2O_5) Apatita de Araxá (14 % P_2O_5) Fosfato tricálcico		Solubilização das fontes de fosfato	Yadav & Tarafdar, 2003 Souchie et al., 2006, 2007 Souchie & Abboud, 2007 Gupta et al., 2010b
<i>Aspergillus aculeatus</i> Iizuka	Fosfatos de rocha 26,4 % P_2O_5 33 % P_2O_5 36,7 % P_2O_5		Solubilização das fontes de fosfato	Narsian & Patel, 2000
<i>Aspergillus awamori</i> Nakaz.	Fosfato de rocha (23-32 % P_2O_5) Fosfato tricálcico	<i>Glomus intraradices</i> N.C. Schenck & G.S. Sm.+ <i>Pseudomonas</i> sp.	Maior produção de grãos de trigo (<i>Triticum aestivum</i> L.) com alta concentração de P Incremento de 7-12 % na altura e parte aérea, três vezes mais no número de sementes e aumento de duas vezes no peso dos grãos de plantas de grão de bico (<i>Cicer arietinum</i> L. cv. GPF2)	Babana & Antoun, 2006 Mittal et al., 2008
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresen.	Fosfato de cálcio Fosfato de alumínio Fosfato de ferro Fosfato de rocha (Israel) Hidroxiapatita		Solubilização das fontes de fosfato	Chang & Yang, 2009
<i>Aspergillus niger</i> Tiegh.	Fosfatos de rocha 32,9 % P_2O_5 33,2 % P_2O_5 33,3 % P_2O_5 34,1 % P_2O_5 40 % P_2O_5		Solubilização das fontes de rocha	Reddy et al., 2002 Ahuja et al., 2007 Singh et al., 2011 Yadav et al., 2011

<i>A. niger</i>	Fosfato de rocha	12,8 % P ₂ O ₅		Solubilização das fontes de rocha	Vassilev et al., 2007
	Fosfato de alumínio				Lv et al., 2008
	Fosfato de cálcio				
	Fosfato de ferro				
	Fosfato de rocha	7,97 % P ₂ O ₅		Solubilização das fontes de fosfato;	Saber et al., 2009
	Fosfato tricálcico			Aumento de P solúvel na rizosfera de	
	Fosfato de alumínio			<i>Vigna radiata</i> (L.) R. Wilczek	
	Fitato de sódio				
	Fosfato de ferro				
	Fosfato de rocha	15,4 % P ₂ O ₅	<i>Glomus constrictum</i> Trappe + <i>Penicillium citrinum</i>	Maior teor de P e crescimento em plantas de trigo	Omar, 1998
	Fosfato de rocha		<i>Glomus deserticola</i> Trappe, Bloss & J.A. Menge	Maior crescimento de <i>Trifolium repens</i> L.	Valissev et al., 1996
	Esterco		<i>Trichoderma viride</i>	Aumento na absorção de P pelas plantas de feijão caupi (<i>Vigna</i> <i>unguiculata</i> (L.) Walp.)	Zayed & Abdel-Motaal, 2005
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	Fosfato de alumínio			Solubilização das fontes de fosfato	Oliveira et al., 2008
	Fitato de sódio				
	Lecitina de soja				
<i>Aspergillus tubingensis</i> Mosseray	Fosfatos de rocha	32,9 % P ₂ O ₅		Solubilização das fontes de fosfato	Reddy et al., 2002
		33,2 % P ₂ O ₅			Ahuja et al., 2007
		33,3 % P ₂ O ₅			
		34,1 % P ₂ O ₅			
		40 % P ₂ O ₅			
		34,1 % P ₂ O ₅			Achal et al., 2007
<i>Paecilomyces</i> <i>marquandii</i> (Massee) S. Hughes	Fosfatos de rocha	32,9 % P ₂ O ₅		Solubilização das fontes de fosfato	Ahuja et al., 2007
		33,2 % P ₂ O ₅			Reddy et al., 2002
		33,3 % P ₂ O ₅			
		34,1 % P ₂ O ₅			
		40 % P ₂ O ₅			
<i>Penicillium</i> sp.	Fitina			Solubilização das fontes de fosfato	Yadav & Tarafdar, 2003
	Glicerofosfato				
	Fosfato de alumínio (16 % P ₂ O ₅)			Solubilização das fontes de fosfato	Souchie et al., 2006, 2007
	Apatita de Araxá (14 % P ₂ O ₅)				Souchie & Abboud, 2007

<i>Penicillium</i> sp.	Fosfato de rocha (7,97 % P ₂ O ₅) Fosfato tricálcico Fosfato de alumínio Fosfato de ferro Fitato de sódio	Solubilização das fontes de fosfato; Aumento de P solúvel nas rizosferas de <i>Vigna radiata</i> (L.) R. Wilczek	Saber et al., 2009
<i>Penicillium citrinum</i> Thom	Fosfato de alumínio Fitato de sódio Lecitina de soja	Solubilização das fontes de fosfato	Oliveira et al., 2008
<i>Penicillium expansum</i> Link	Fosfato de rocha (8,35 % P ₂ O ₅)	Solubilização das fontes de fosfato	Xiao et al., 2008
<i>Penicillium oxalicum</i> Currie & Thom	Fosfato de rocha (31,5 % P ₂ O ₅)	Aumento do rendimento de trigo e milho, respectivamente, em 42 e 82 % em comparação ao controle	Singh & Reddy, 2011
<i>Trichoderma</i> sp.	Fosfato tricálcico	Aumento do peso seco da parte aérea (22-33 %) e da raiz (35-60 %) de plantas de grão de bico	Kapri & Tewari, 2010
<i>Trichoderma viride</i> Pers.	Fosfato de rocha	Solubilização das fontes de fosfato	Zayed & Abdel-Motaal, 2005
ZYGOMYCOTA			
<i>Absidia</i> sp.	Fosfato tricálcico	Solubilização das fontes de fosfato	Nenwani et al., 2010
ASCOMYCOTA			
<i>Emmericella</i> sp.	Fitina Glicerofosfato	Solubilização das fontes de fosfato	Yadav & Tarafdar, 2003
<i>Eupenicillium parvum</i> (Raper & Fennell) Stolk & D.B. Scott	Fosfato tricálcico Fosfatos de rocha	Solubilização das fontes de fosfato	Vyas et al., 2007
	Estados Unidos da América; Índia		
<i>Talaromyces rotundus</i> (Raper & Fennell) C.R. Benj.	Fosfato de alumínio Fitato de sódio Lecitina de soja	Solubilização das fontes de fosfato	Oliveira et al., 2008

ANEXO

Ecological Engineering 42 (2012) 85–89



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Ecological Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ecoleng

Short communication

Solubilization of phosphates *in vitro* by *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp.Flavia Paiva Coutinho^{a,*}, Wagner Pereira Felix^b, Adriana Mayumi Yano-Melo^b^a Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Micologia, Rua Nelson Chaves s/n, CEP 50670-420, Recife, PE, Brazil^b Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus de Ciências Agrárias, Colegiado de Zootecnia, Rodovia BR 407, Km 12 Lote 453, Projeto de Irrigação Nilo Coelho C1, CEP 56300-990, Petrolina, PE, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 28 August 2011

Received in revised form 18 January 2012

Accepted 1 February 2012

Keywords:

Filamentous fungi

P-solubilizing

Single superphosphate

Mono-ammonium phosphate

Biomass

ABSTRACT

Phosphorus (P) is one of the most important nutrients for plant development and in most Brazilian soils the content of this element is low and relatively available to plants. Phosphate-solubilizing microorganisms play an important role in supplying P to plants, because of their ability to provide insoluble phosphates, added or existing in the soil, by the processes of acidification, chelation and ion-exchange reactions. The objective of this study was to evaluate the capacity and potential of ten fungal isolates in solubilizing simple superphosphate (SSP) and mono-ammonium phosphate (MAP) *in vitro*, in four periods (1st, 4th, 7th and 10th days after inoculation). It was found that 90% of these isolates showed potential for solubilization of SSP and MAP on the seventh day of evaluation, with average values of 23% and 22% higher than control, respectively, with a reduction thereafter. This reduction can be attributed to the increase in fungal biomass, which results in enhanced uptake of soluble phosphate for growth. All isolates, except for the PSF 94, solubilized the two sources of phosphate on the 7th day, but the isolated PSF 28 in MAP, and PSF 220 in SSP, stood out from others by having the highest values of soluble P (84 and 56 $\mu\text{g ml}^{-1}$, respectively). This is the first reported solubilization of single superphosphate and mono-ammonium phosphate *in vitro* by the *Aspergillus* and *Penicillium* species, demonstrating that these fungi can serve as phosphate-solubilizing these P sources, contributing to a better use of the SSP and MAP and reducing the cost of agricultural inputs and the impact caused by excess phosphorus.

© 2012 Published by Elsevier B.V.