

An aerial photograph of a rural landscape. In the center, there is a large, irregularly shaped pond surrounded by lush green cornfields. The fields are planted in neat, curved rows. In the background, there is a small farmstead with several white buildings and a few trees. The overall scene is a typical agricultural setting.

# O Papel dos Microrganismos na Disponibilização e Aquisição de Fósforo pelas Plantas

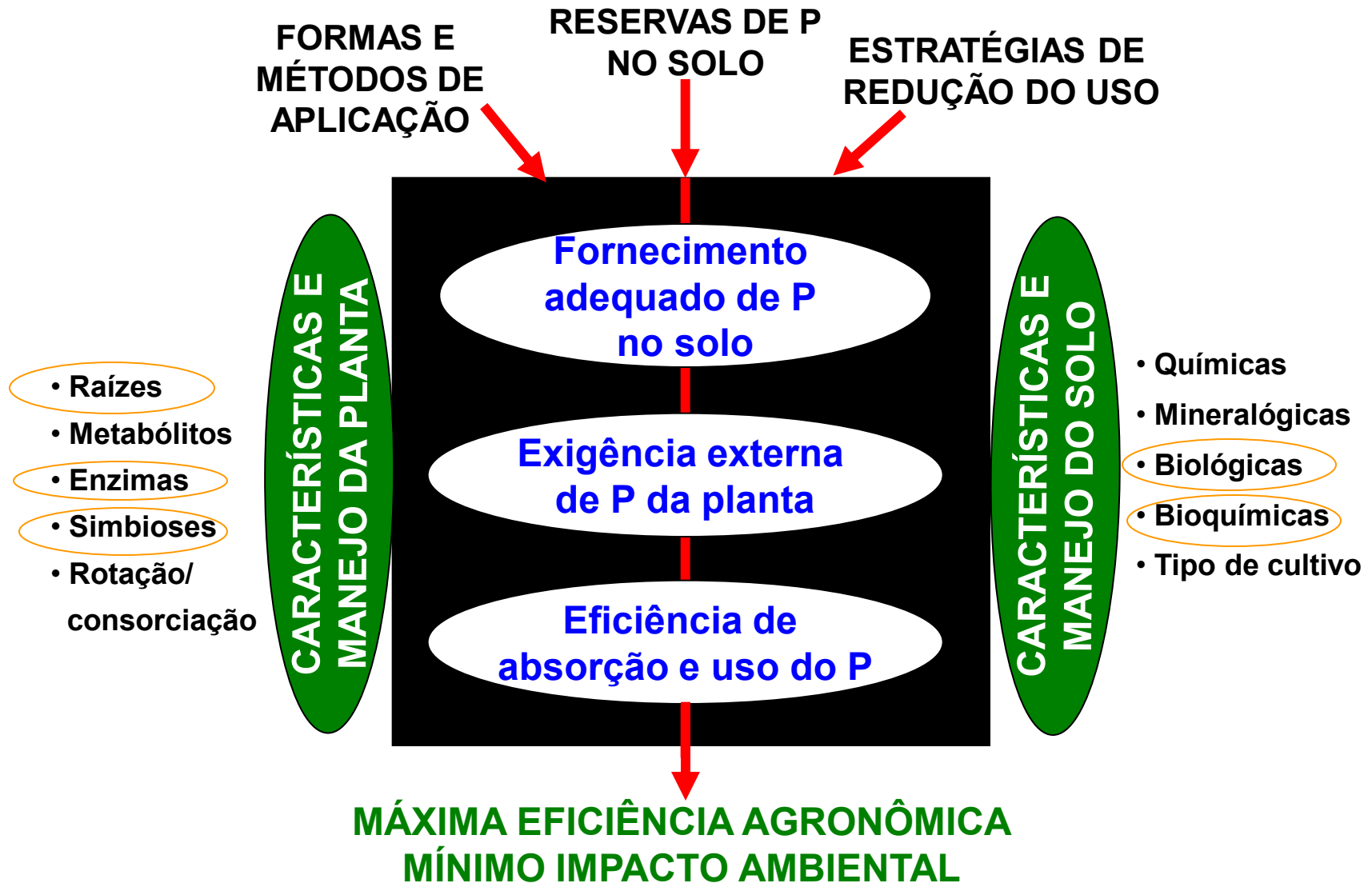
*J.O. Siqueira; A.T. Andrade; V. Faquin*

*Departamento de Ciência do Solo*

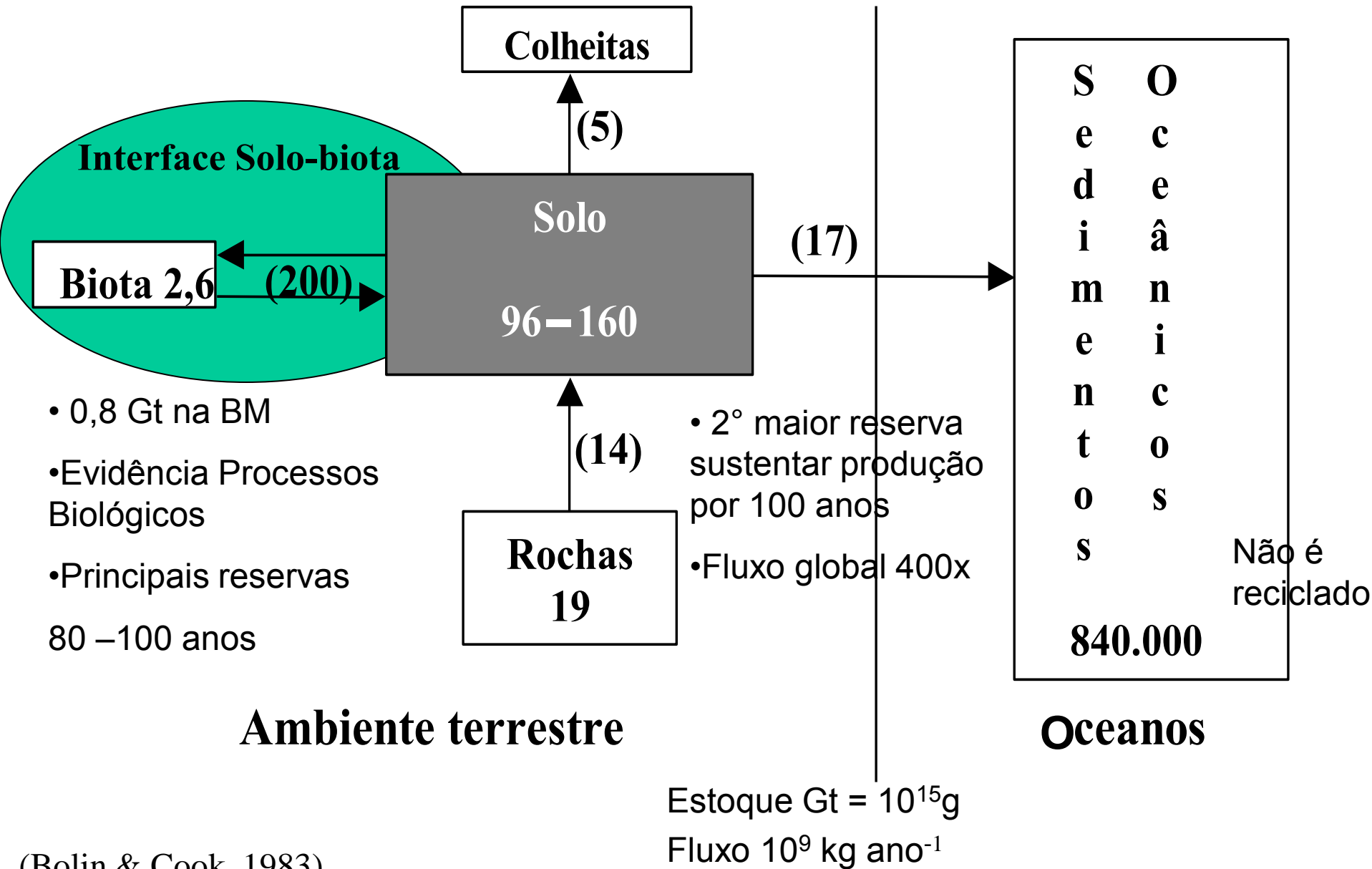


# INTRODUÇÃO

## A RACIONALIZAÇÃO DA ADUBAÇÃO FOSFÁTICA



# Reservatórios e Fluxos de P



# ATIVIDADE MICROBIANA

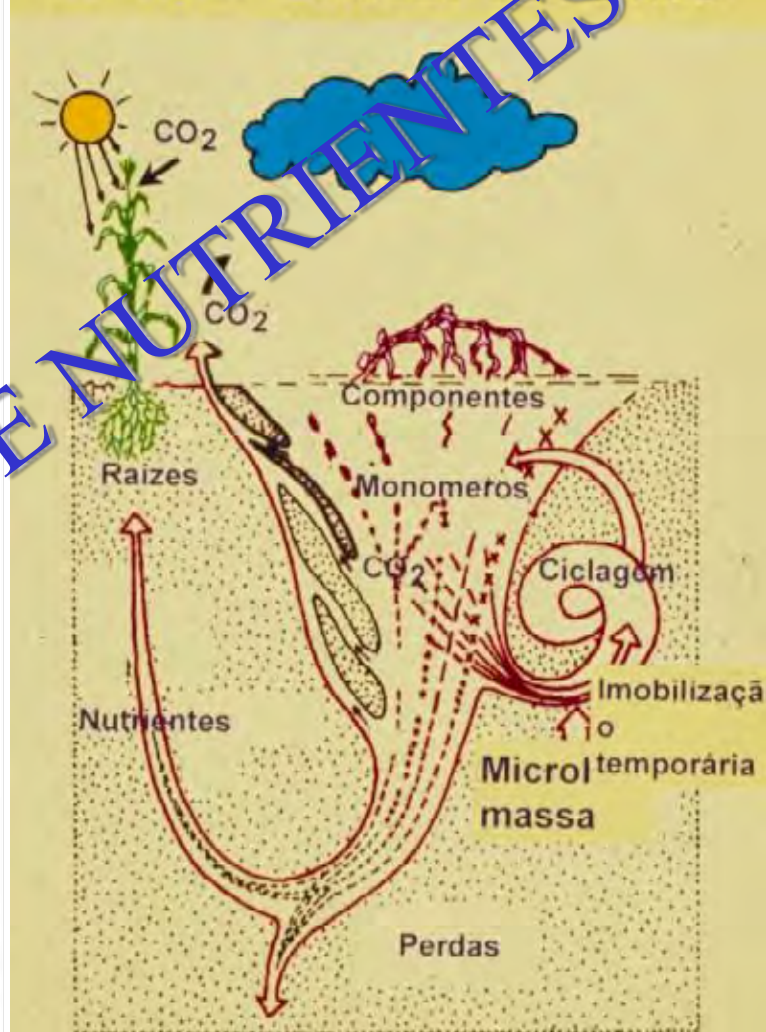
Resíduos orgânicos



HUMUS

CO<sub>2</sub> e nutrientes mineralizados

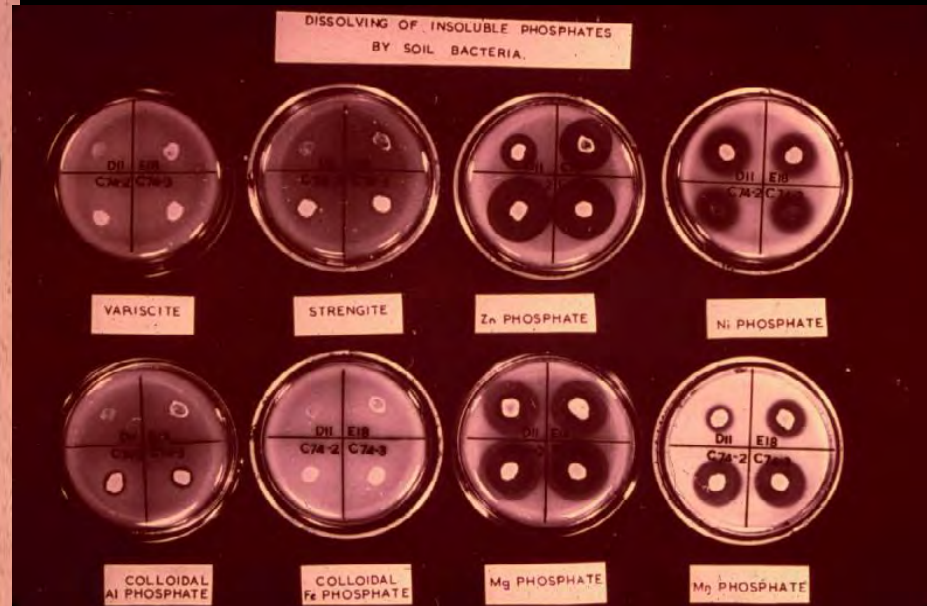
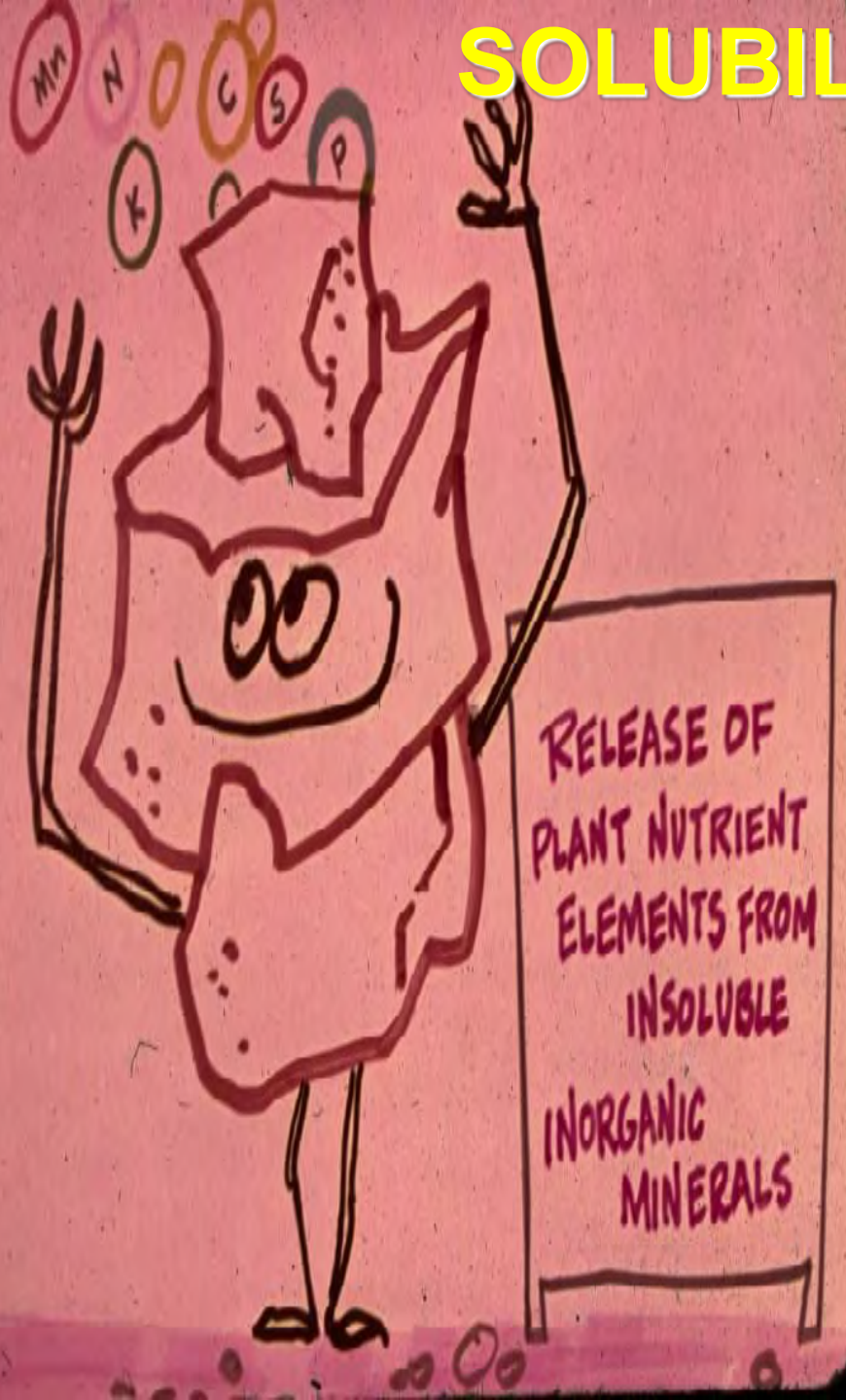
## CICLAGEM EM SOLO CULTIVADO



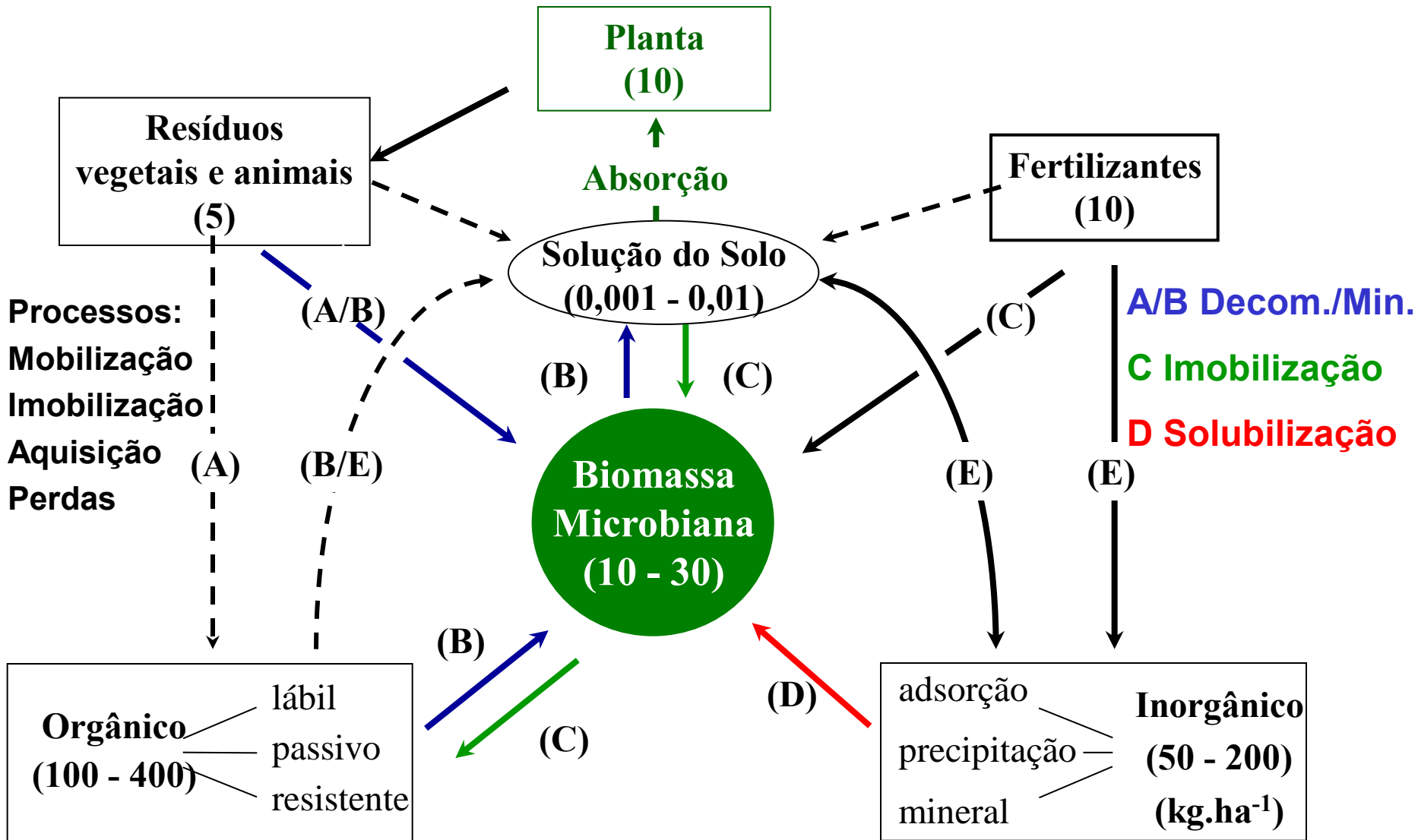
**A VIDA NO PLANETA CESSARIA EM POUCAS DÉCADAS (?)**



# SOLUBILIZAÇÃO



# Transformações e Ciclagem



# P-ORGÂNICO DO SOLO

- ✓ Devido ao alto teor nos microrganismos (2% MS) é o segundo nutriente mais abundante na MOS (400 kg ha<sup>-1</sup>)
- ✓ Alta correlação com C-orgânico do solo
- ✓ 1 a 3% da MOS: 

{	30-50 % P-inositol (Fitatos)
	3-5 % Ác. Nucléicos
	até 5% outros
- ✓ Quantidade Mineralizada: 1 a 10 % por ano, clima Temperado  
10-20 % nos Trópicos



Importância é evidente como reserva no solo porém complicada quanto ao efeito nutricional ...

# Biomassa Microbiana

## ✓ Biomassa microbiana: Reservatório e Catalisador

- 0,8 Gt de P globalmente
- 10 a 100 kg ha<sup>-1</sup> (2 a 5% P<sub>o</sub> total, podendo chegar a 20%)
- Moderadamente lábil e rápida reciclagem
- Fluxo de 2-40 (16) kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> de P
- Recicla 70 vezes mais P que o P da fitomassa

## ⇒ Guerra et al. (1995)

Solo com *B. decumbens* (5 anos): a aplicação de P enriquece a biomassa. O teor de P (BM) passou de 13,7 para 21,6 g kg<sup>-1</sup> biomassa (15 kg ha<sup>-1</sup> de P)



# Mineralização de Fosfatos Orgânicos

---

- **Frações: lábil, passiva ou resistente:**  
moderadamente lábeis são responsáveis por 80-90 % do P-mineralizado.
- **Macromoléculas precisam ser degradadas antes da mineralização pelos heterotróficos do solo:**

## **Hidrólise enzimática**

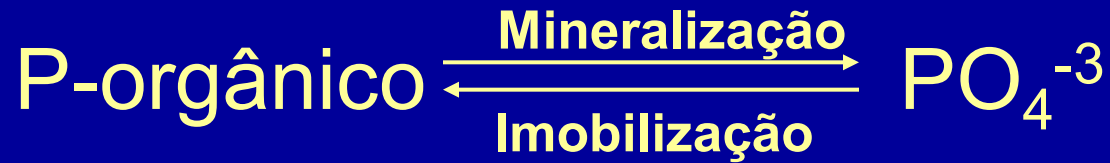
- 1- Fosfatases – Hidrólise de ésteres (MO - fungos, plantas, animais)**
- 2- Nucleases/nucleotidasas – Nucleotídeos e Ac. Nucléicos (MO rizosféricos)**
- 3- Fosfolipases – fosfolipídeos (actinomicetos)**

# Mineralização de Fosfatos Orgânicos

- Fitatos são ótima fonte de P para os microrganismos, mas no solo pode estar indisponível (Adsorção e Precipitação) = Decomposição limitada
- Genes das fitases caracterizados e clonados (animais)
- Fatores que influenciam: disponibilidade P, fonte C e pH
- Fosfatases são reguladas pelo P (Controle genético)
- Falta de P – Controla expressão 400 proteínas em células bacterianas por meio de sistemas reguladores:
  - { PhoB – regula os genes envolvidos na aquisição de P
  - { PhoR – sensor que regula a atividade do PhoB
- Deficiência de P atua no PHO-box (regulador multigênico) que atua na absorção de P (P-ases) – “Biological P mining”



# Imobilização Biológica de Fosfatos



- Relação C:P bactérias do solo 30:1; biomassa solo 15:1; solo virgem 200:1; solo pastagem 100:1; solo cultivado 30-40:1; resíduos de alfafa 26:1; milho 600:1

## - Teor e relação C:P do resíduo em decomposição

- C:P  $\geq$  300 é menos que 2-3 mg kg de MS tendem a imobilizar.

C:P  $\leq$  200 favorece a mineralização líquida

⇒ “ Imobilização é temporária em função da progressão da mineralização”

⇒ “ P-microbiano é a principal fração mineralizável (pode atingir 50% por ano)”

# Imobilização Biológica de Fosfatos

## - Rizosfera (Tinker, 1980)

Bactérias:  $3 \mu\text{g mg raiz}$  e  $3\% \text{ P} = 10^{-7} \text{ mg}^{-1} \text{ raiz}$

Taxa absorção da planta =  $3 \times 10^{-6} \text{ mg raiz dia}^{-1}$

⇒ **P-imobilizado na rizosfera equivale a apenas 3% da absorção diária de P das plantas**

**A razão  $P_{\text{mic}}/P_{\text{org}}$  expressa a labilidade do P orgânico:**

**3% em solos agrícolas**

**14% em pastagens**

**20% em florestas**

**60% Ac. Nucléicos**

**15-25% formas solúveis**

**10% lipídeos**



# Visão Prática da Mineralização do P

-Há evidências científicas da ocorrência e mecanismos no solo

- Menor teor P-orgânico em solos cultivados
- Aumento Pi mediante incubação
- Flutuações sazonais

⇒ “Contribuição quantitativa para a nutrição vegetal é ainda pouco conhecida ... é mais indireta”

⇒ - Difícil tirar conclusões consistentes da importância prática visando manejo previsível da fração orgânica de P no solo

# SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATOS

Fosfatos Insolúveis  $\xrightarrow[\text{Plantas (exsudatos)}]{\text{Solubilização}}$  Pi assimilável  
Microorganismos

- **Descoberta: Século passado (1908) quando Sackett detectou a “Ação solvente” de bactérias do solo**
- **Gerretsen (1948): Eliminação dos MO reduz absorção de P**
- **Sperber (1957): Solubilização é comum dentre os MO do solo e tentou elucidar o mecanismo, sugerindo o envolvimento de ácidos orgânicos:**
  - **Exsudação radicular**
  - **Decomposição da matéria orgânica**
  - **Síntese microbiana**





# Inoculantes bacterianos (Biofertilizadores)

---

- “Fosfobacterinas” (suposta bactéria solubilizadora de P) tornaram-se popular na União Soviética
  - Em 1958 Cooper visitou laboratórios e campo na Rússia

➡ “The general impression ... was one of complete faith in the economic value of bacterial fertilizers” (5g ha<sup>-1</sup>; 10 milhões ha)

➡ • Os benefícios e mecanismos não foram confirmados e os resultados inconsistentes e duvidosos

➡ • O uso dos biofertilizantes microbianos foi considerado um equívoco

# Solubilização de Fosfatos

- Os microrganismos solubilizadores de fosfatos (MSP)
  - ocorrência generalizada (bactérias, fungos):  
*Bacillus, Pseudomonas, Aspergillus*
  - Densidade população é variável (semente > rizosfera > solo)
  - Maior incidência em leguminosas, mas é alta *B. decumbens*
  - Facilidade para solubilização de P-Ca, limitada para P-Al e P-Fe (Problema)
  - Difícil estabelecer relação entre a população de MSP, disponibilidade de P e produção vegetal
  - Genes solubilizadores (mps) conhecidos e clonados



# Ação Solubilizadora de Fungos Isolados

Fonte P	Solubilizadores (total de 18)	Principais solubilizadores (% P solubilizado)
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	78 %	<i>A. niger</i> (88%), <i>Fusarium</i> (80%), <i>Mortierella</i> (78%), <i>Sclerotium</i> (70%)
Fluorapatia	61 %	<i>A. niger</i> (80%), <i>Cylindrocladium</i> (77%), <i>Sclerotium</i> (77%), <i>Penicillium</i> (65%), <i>Verticillium</i> (65%), <i>Trichoderma</i> (20%)
Hidroxiapatita	61 %	<i>A. niger</i> ( 59%), <i>Sclerotium</i> (50%), <i>Cylindrocladium</i> (21%), <i>Mortierella</i> (25%)

# Solubilizadores de Fosfatos

- Nahas et al. (RBCS, 1984): solos de SP

-125 isolados bacterianos: 16,4 % solubilizadores, 21,0 % P-ase ácida, 20,3 % P-ase alcalina

14 isolados com alta capacidade

-156 isolados fúngicos: 30,2 % solubilizadores, 65,5 % P-ase ácida, 26,0 % P-ase alcalina

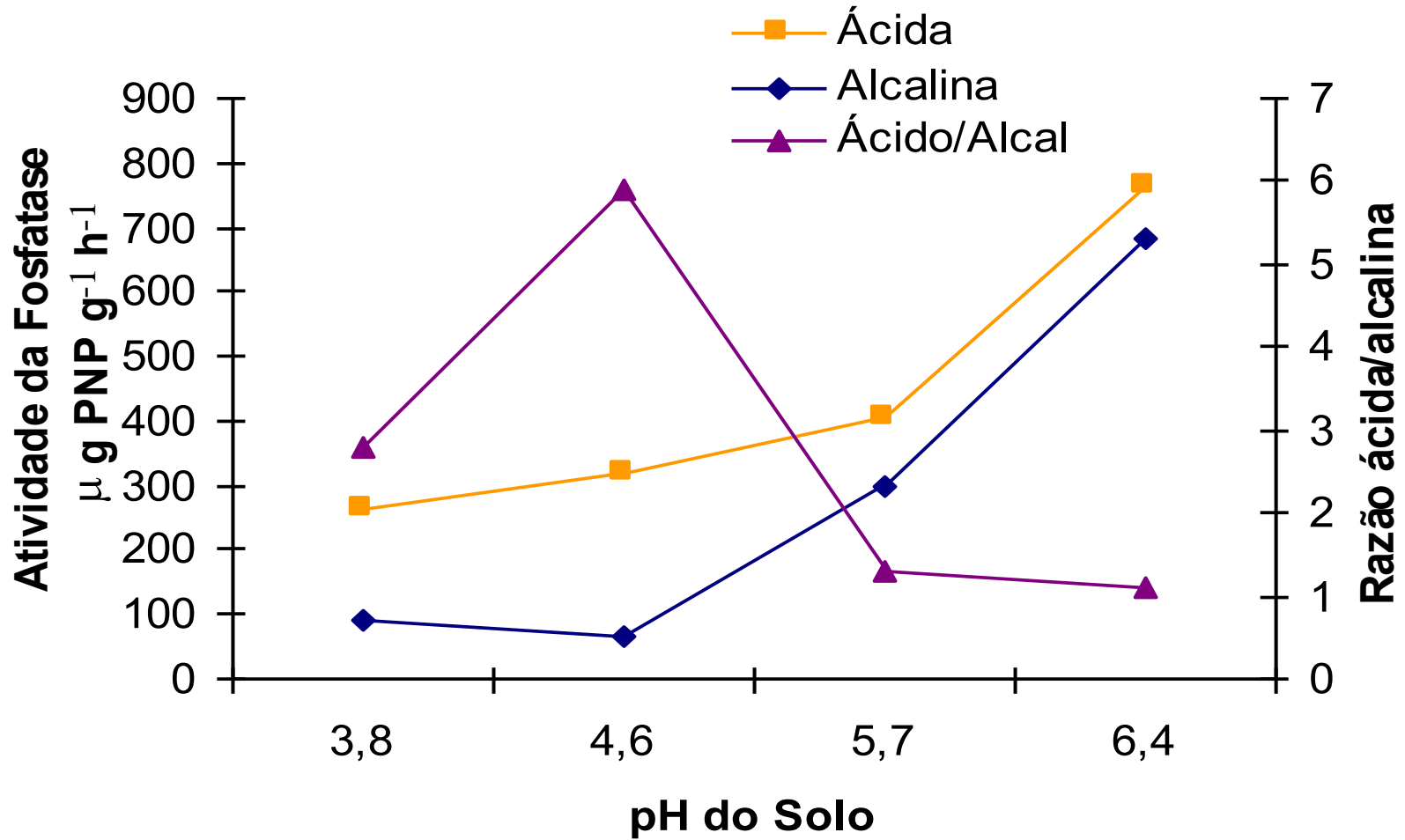
10 isolados com alta capacidade

**Freitas et al (1979, BFS)**

- 111 isolados bacterianos rizosfera várias culturas (34 tipo bacilos e 17 pseudomonas), 32 % capazes solubilizar fosfato.

- Os melhores isolados foram usados em inoculação houve aumento de produção da canola, mas a solubilização de P não foi o principal mecanismo.

# Fosfatases em 13 solos diferentes em SP



**Correlação positiva com pH, MOS e contagens de fungos e bactérias**

# Mecanismos de Solubilização

- a) Formação de  $\text{CO}_2$ , ácidos orgânicos e produção de compostos quelantes/complexantes
- b) Redução enzimática de metais (ex. Fe)
- c) Produção de ácidos inorgânicos ( $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4^*$ )
- d) Presença transportadores de alta afinidade

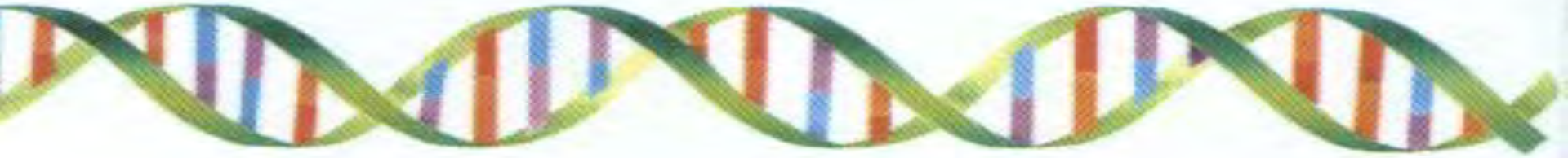
---

\* Biosuper: mistura rocha e S (5:1), descoberto em 1916 (Lipman) – uso muito limitado (pastagens)

**Leguminosas nodulíferas: acidificam e solubilizam**



# Futuro desenvolvimento (Engenharia Genética)

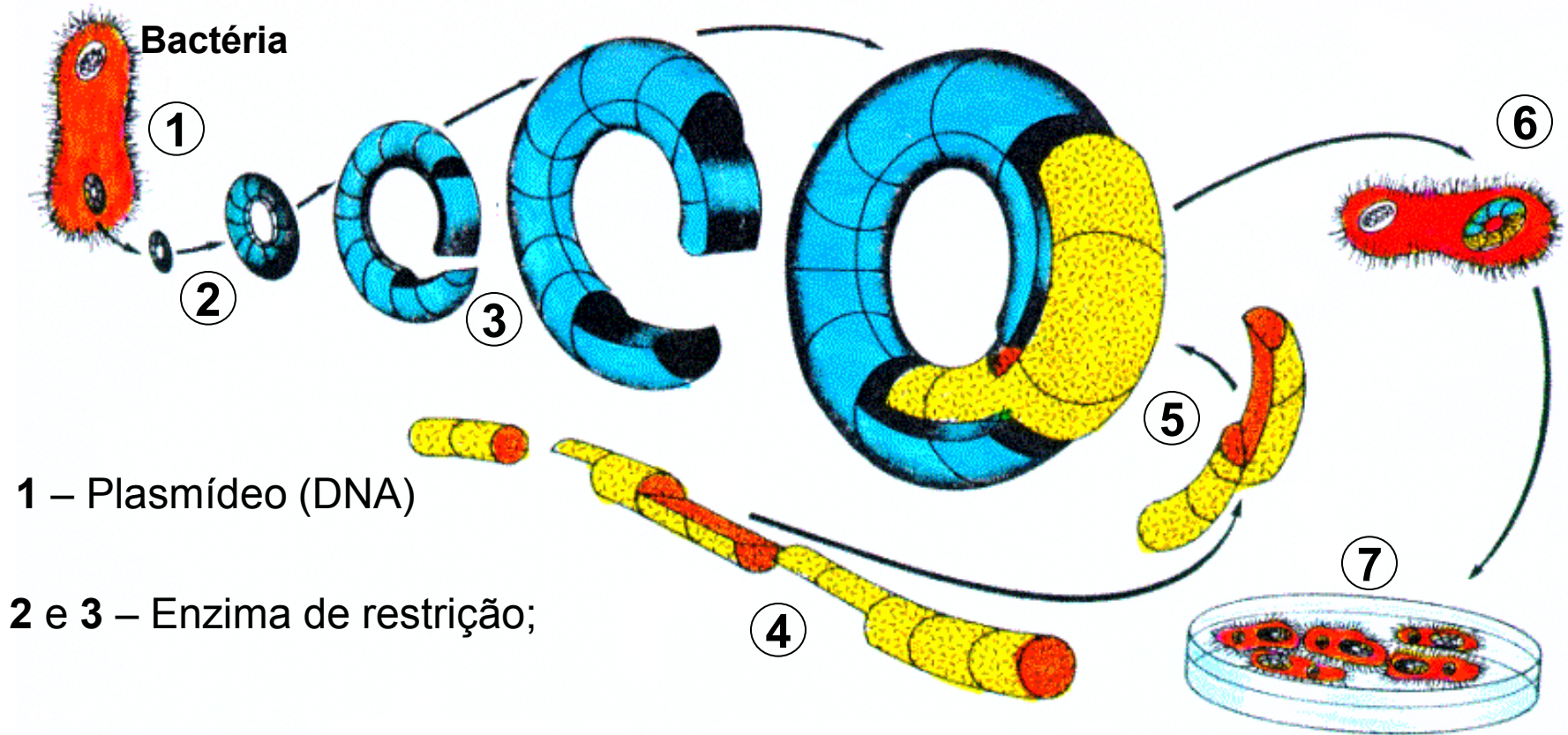


- Clonagem de genes mps (Biossegurança)
- Genes com ações indiretas na solubilização
  - Citrato sintase (Ác. Cítrico)
  - GDH-glicose DH (Ác. Glucônico)
  - Síntese ACC (Etileno-sobrevivência)
  - Transportadores (Maior extração)
  - Genes fitases (P-orgânico)
- Mendel Biotech Inst.: *CBF genes* - características multigênicas para crescimento em condições de deficiência nutricional

**“OGMs já foram obtidos mas aplicação não avaliada”**

# MICROORGANISMO GENETICAMENTE MODIFICADO

Dorozynsky (R. Ceres, 30, 1984)



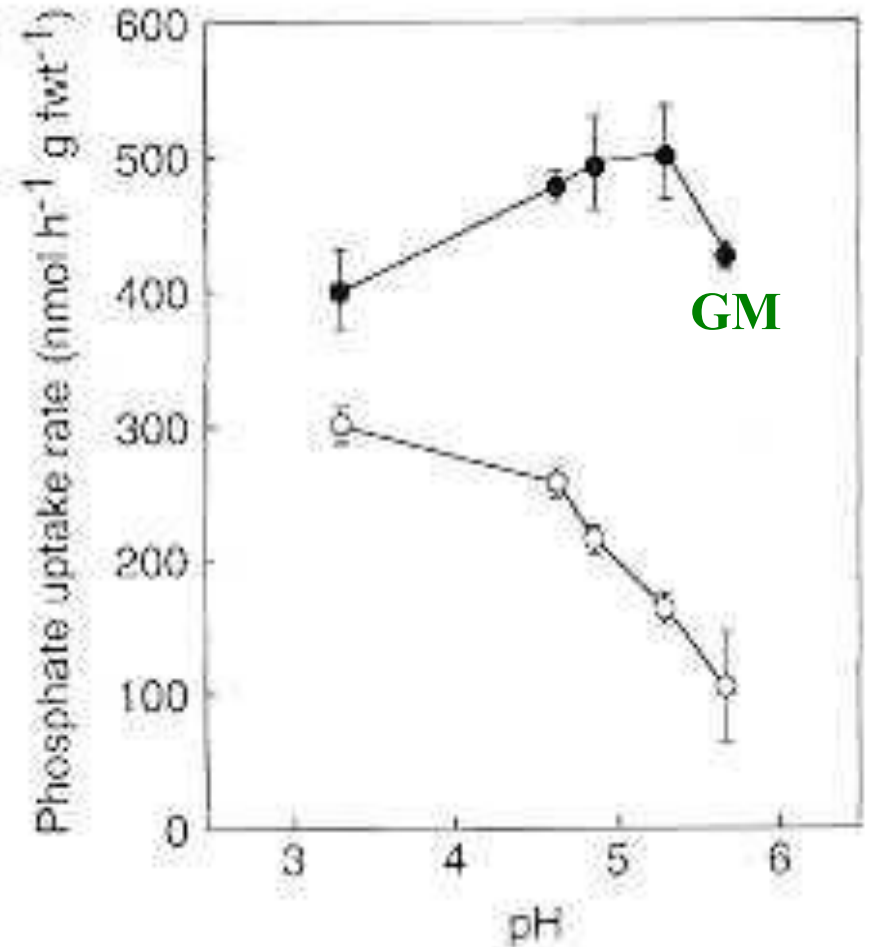
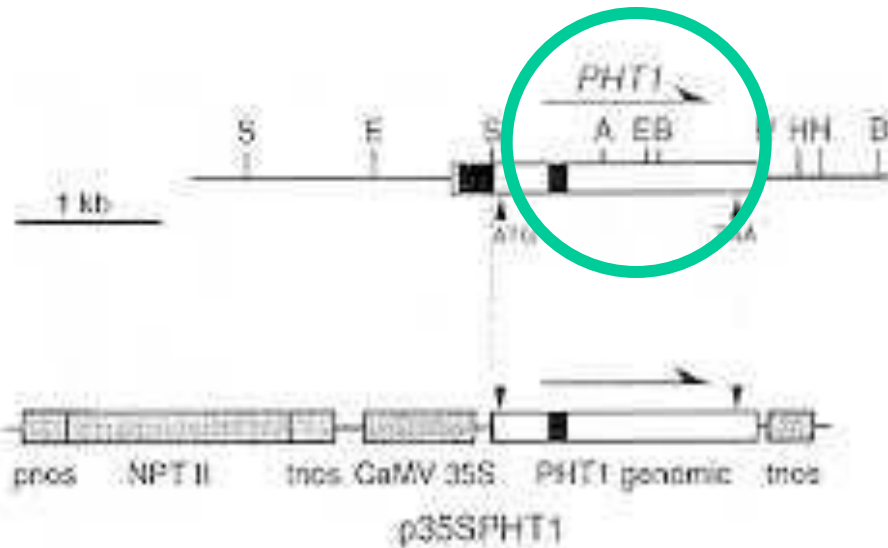
1 – Plasmídeo (DNA)

2 e 3 – Enzima de restrição;

4 e 5 - Gene isolado de outro organismo é introduzido;

6 e 7 – O plasmídeo é introduzido em outra bactéria que é cultivada.

# Plant Transformation Enhances P Uptake



# Visão Prática Sobre os MSP

- Manejo da população indígena

Limitado por conhecimento (diversidade, competência e ecologia) para estabelecer práticas de manejo.

⇒ **MANTER VEGETAÇÃO (rizosfera)**

- Inoculantes microbianos

Resultados inconsistentes e não conclusivos

- Sobrevivência e colonização (competição)

- Compatibilidade com solo e cultura

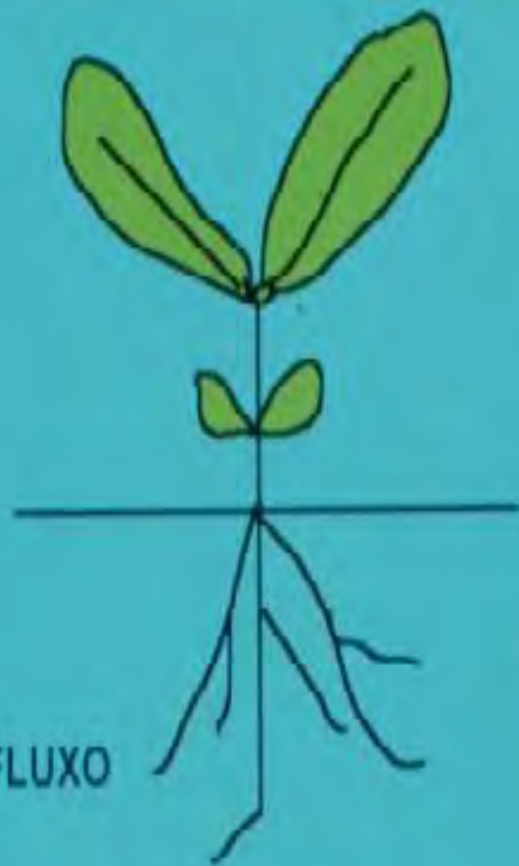
- Condições para expressar competência (ação solubilizadora)

Ex. solubilizador para P-Ca é comum, mas as formas predominantes: P-Fe, P-Al

⇒ **Tem potencial, mas falta P&D**



# MICROORGANISMOS NA NUTRIÇÃO VEGETAL



## ABSORÇÃO

- ✓ CAPACIDADE
- ✓ CINÉTICA E INFLUXO
- ✓ QUÍMICA

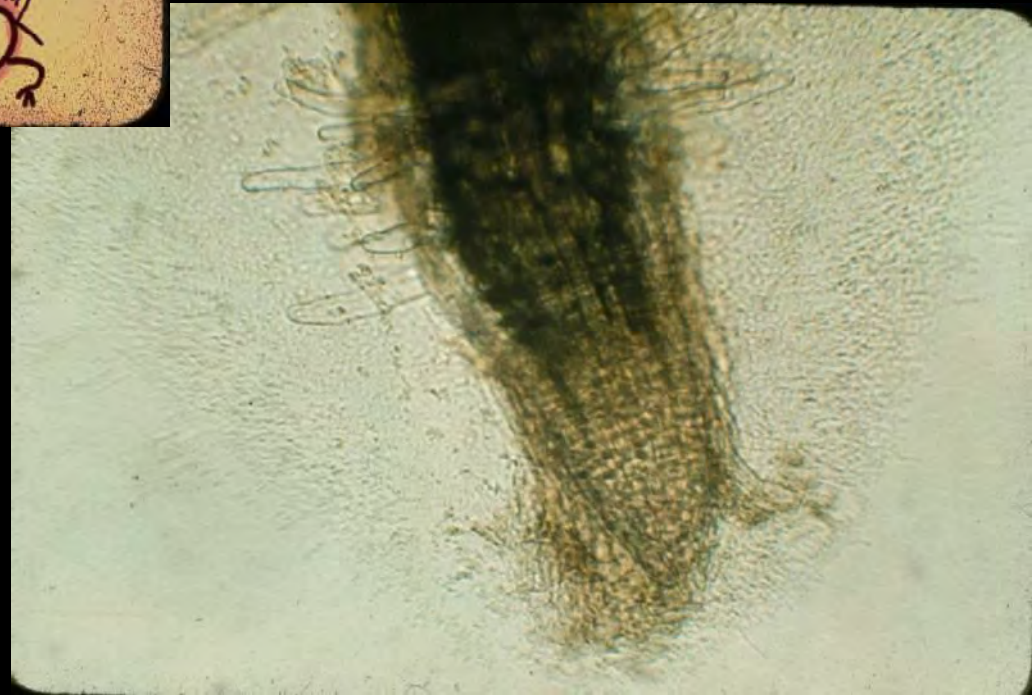
## DISPONIBILIDADE

- ✓ MINERALIZAÇÃO
- ✓ SOLUBILIZAÇÃO
- ✓ IMOBILIZAÇÃO
- ✓ TRANSFORMAÇÃO

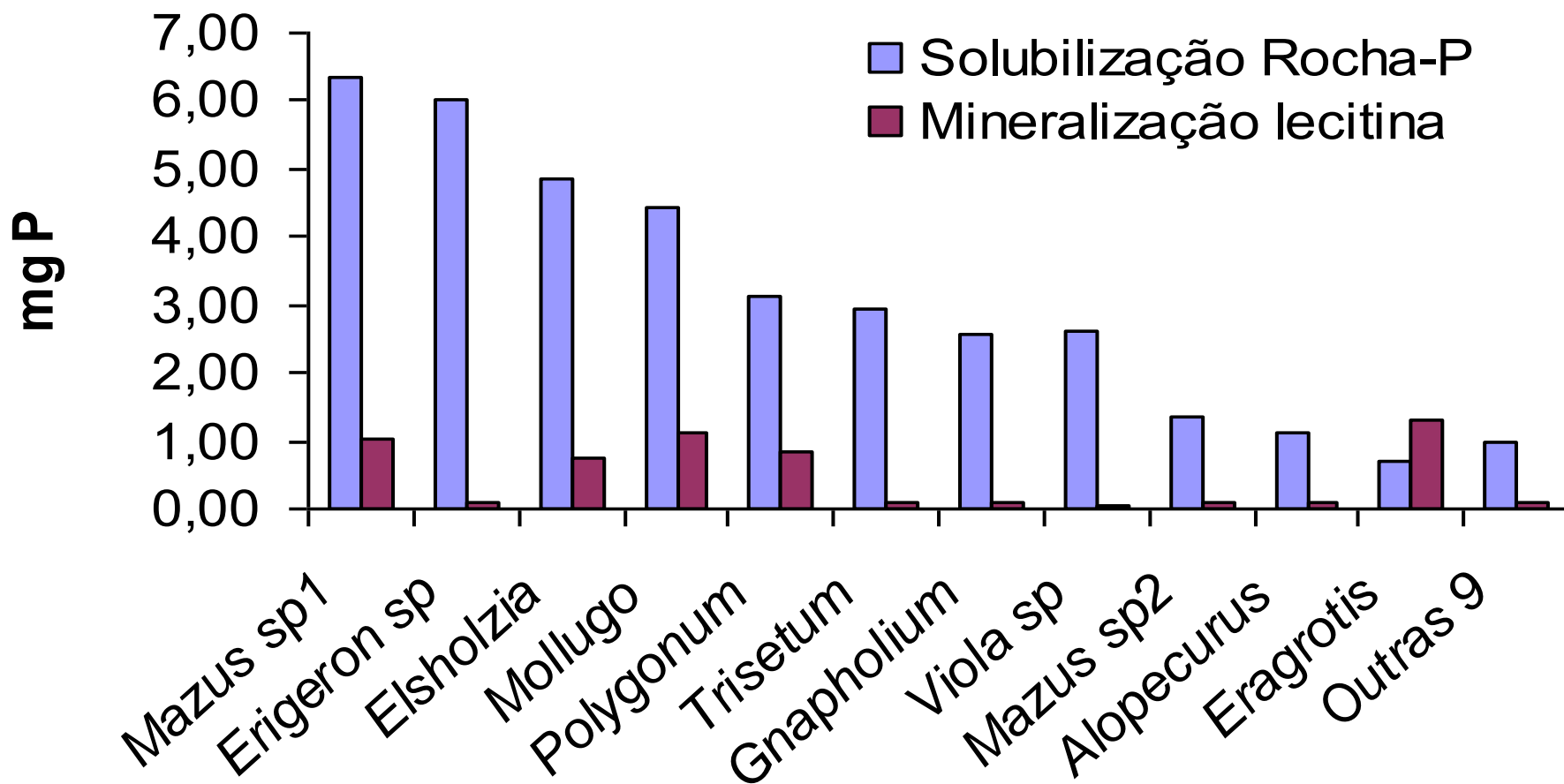
## AQUISIÇÃO

- ✓ MAIOR EXPLORAÇÃO (TEMPORAL E ESPACIAL)
- ✓ FORMAS NÃO DISPONÍVEIS COMO N ATMOSFÉRICO

# RIZOSFERA: O paraíso dos microrganismos



## Transformações do P na Rizosfera de Plantas Invasoras



MANEJO AGROECOLÓGICO...

# AQUISIÇÃO DE FÓSFORO

“É regulada pelo estado de P no solo e na planta”

- Quando o suprimento P é limitado às plantas:
  - Produzem mais raízes (alterações)
  - Aumentam a absorção\* (regulon)
  - Retransloca Pi das folhas mais velhas
  - Usam Pi armazenado no vacúolo
  - Estimulam a micorrização\* (Isoflavonóides nos exsudatos)

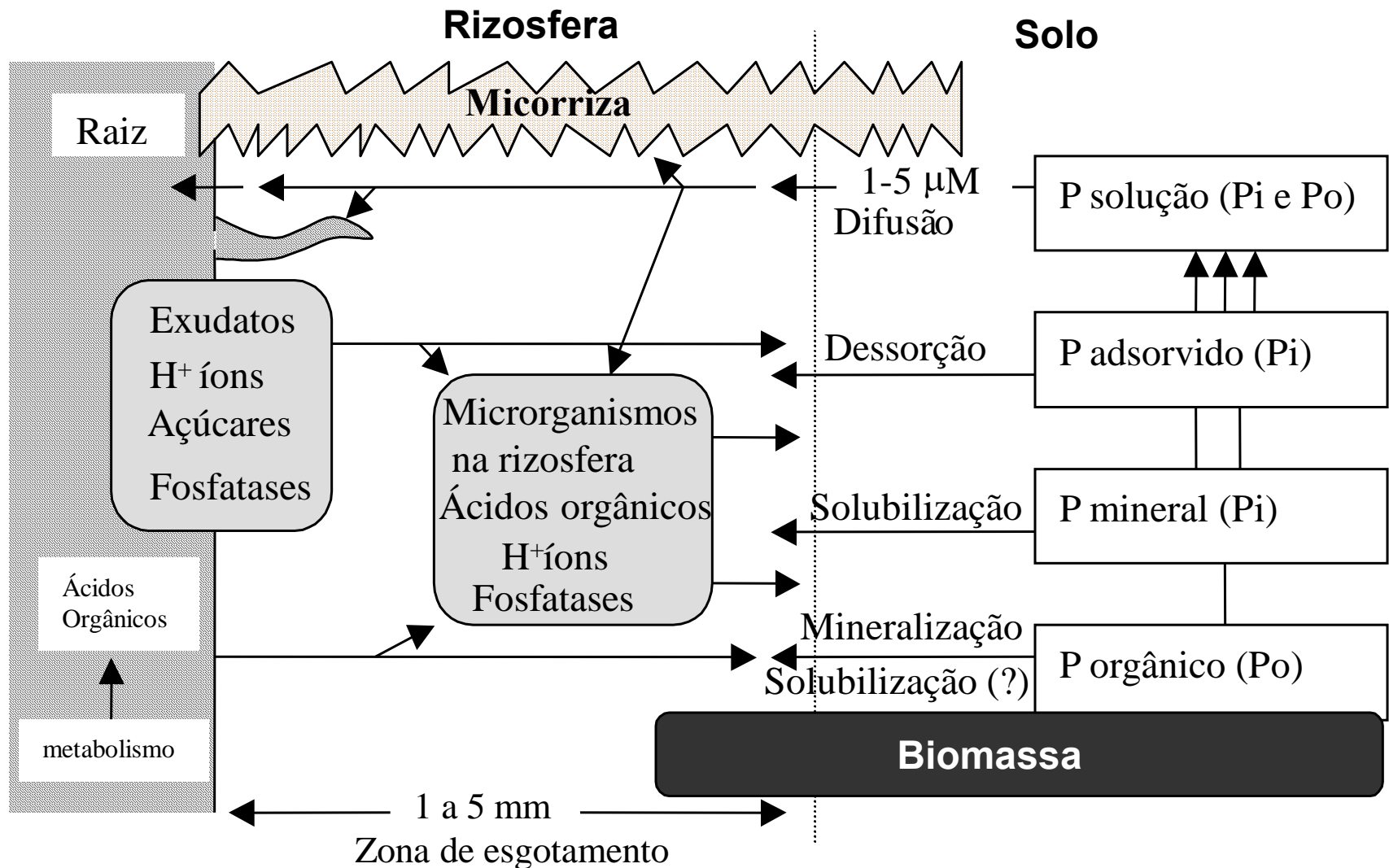
---

⇒ \* Maior absorção de P

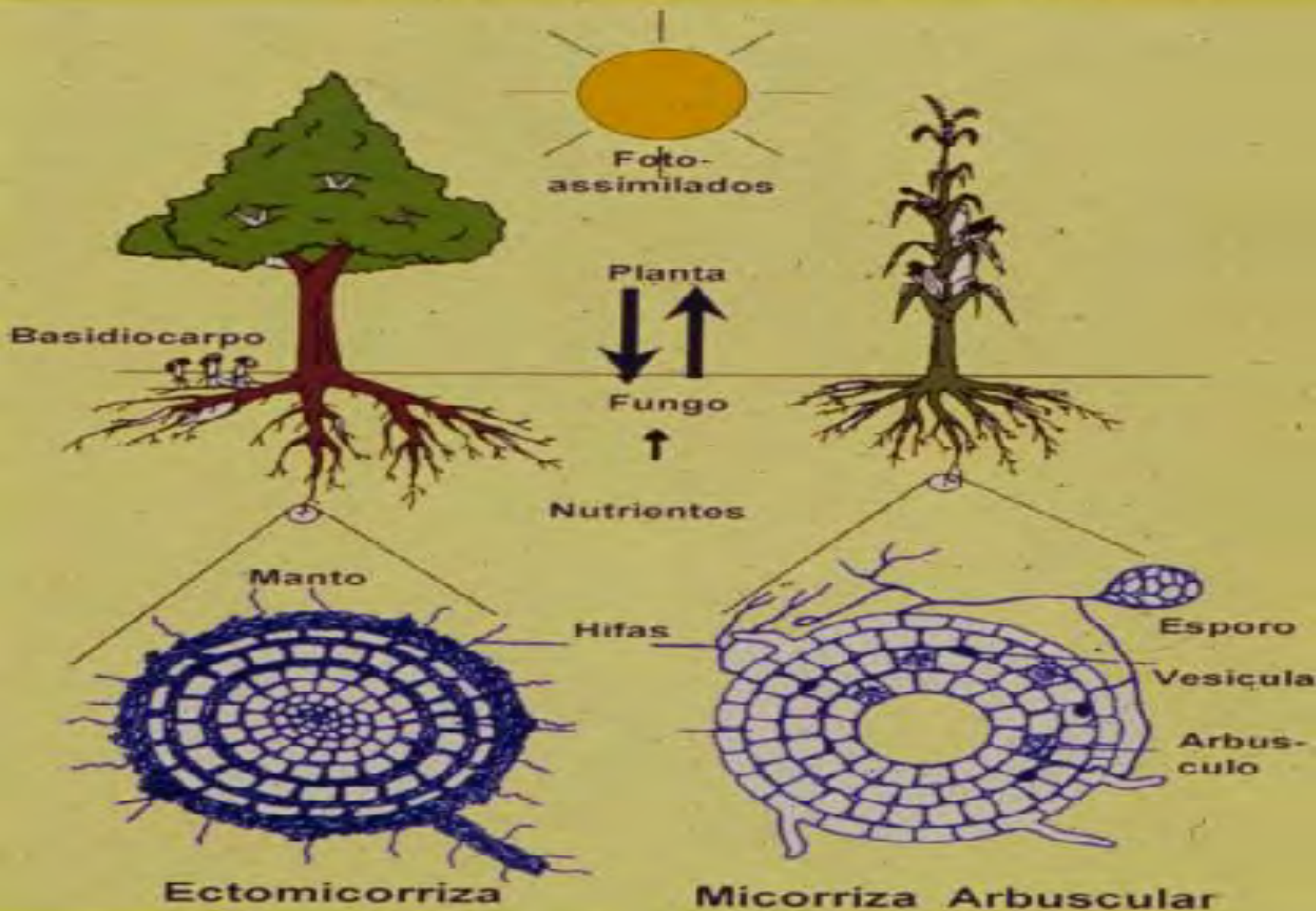
- maior exploração (raízes, ramificações, pelos radiculares, superfície de absorção)
- maior absorção (transportadores, cinética)
- maior mobilização (solubilização e mineralização)
- relação tróficas com microrganismos (micorrizas)



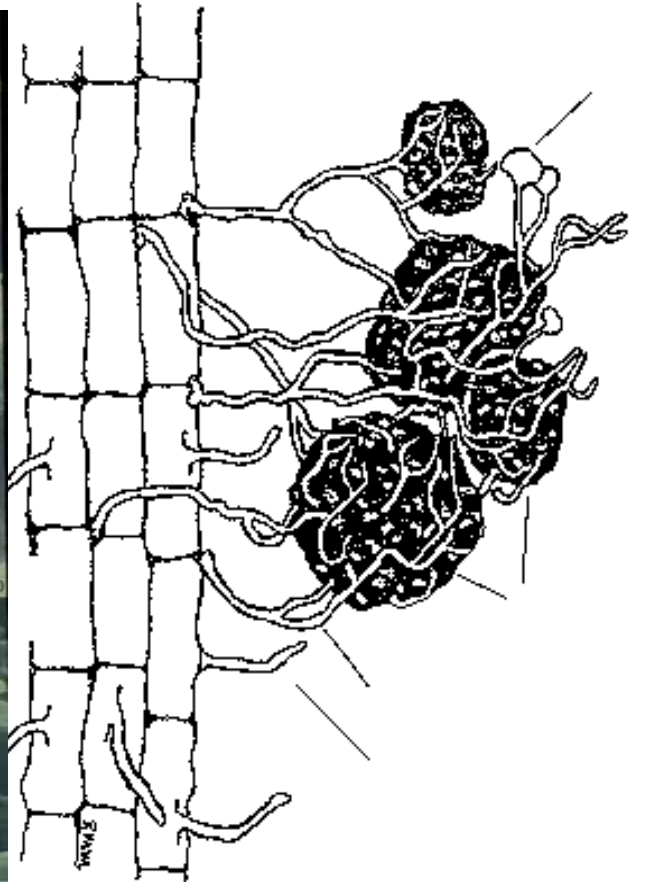
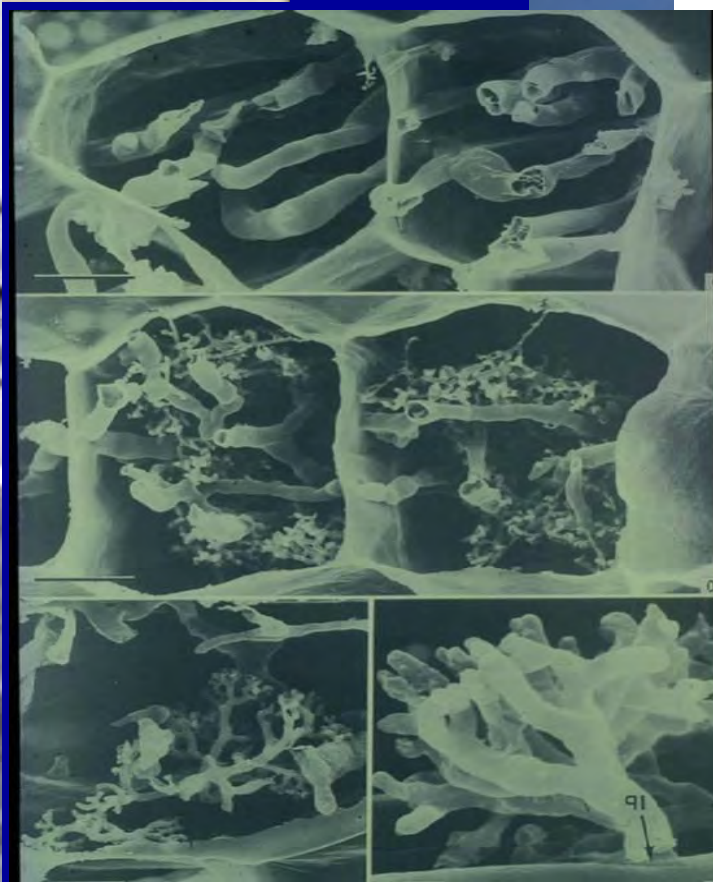
# Processos que influenciam a disponibilidade de P na rizosfera



# SIMBIOSE MICORRIZICA







# OS PAPÉIS DAS MICORRIZAS

## "BOM ENTENDIMENTO DA ESTRUTURA E FUNÇÃO"

### BIOREGULADORA

- Substâncias crescimento
- Relação água-planta
- Alterações bioquímicas e fisiológicas

### BIOCONTROLADORA

- Biocontrole
- Redução de danos
- Estresses abióticos
- Agregação do solo

### BIOFERTILIZANTE

- Absorção e utilização de nutrientes
- Nodulação e FBN
- Amenização de efeitos adversos
- Nutrição balanceada
- Disponibilidade de nutrientes

### APLICAÇÃO:

- Reduzir agroquímicos
- Amenizar estresses
- Facilitar re-vegetação e reflorestamento







# Mecanismos dos Benefícios Nutricionais

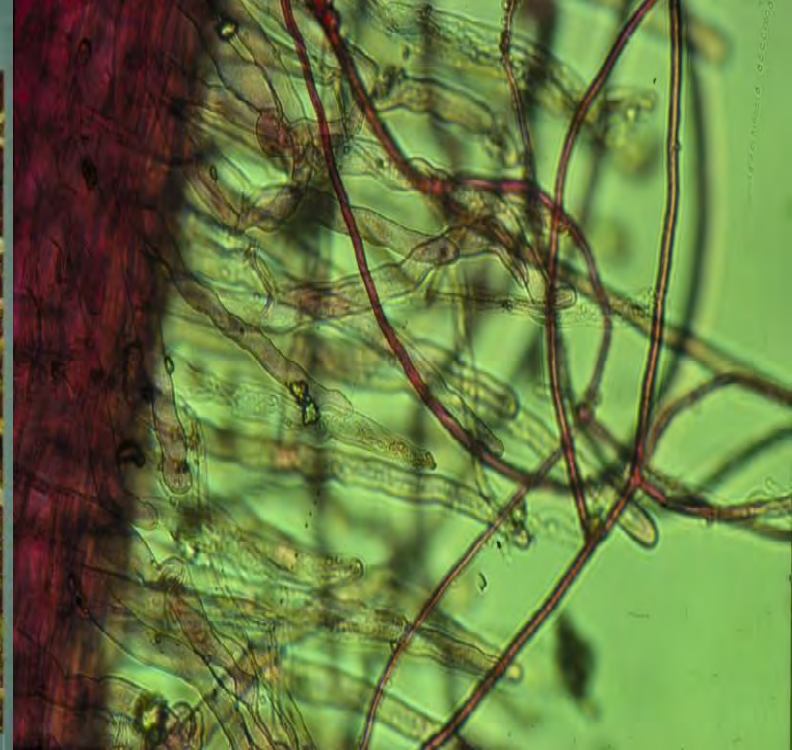
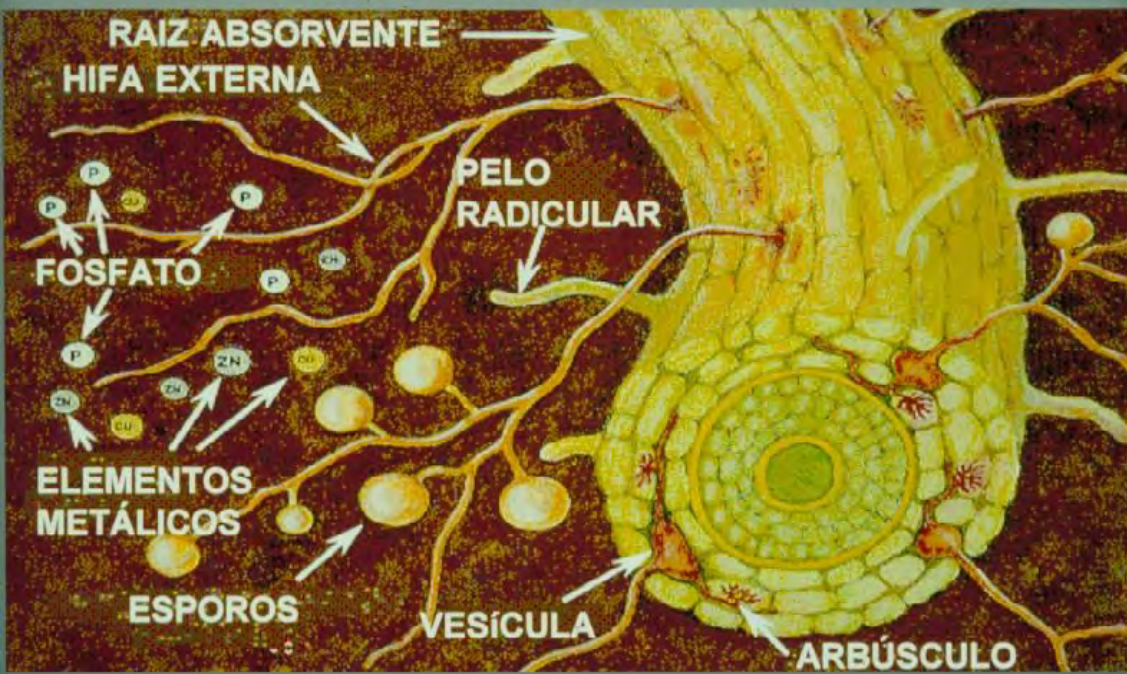
---

- **Maior superfície de absorção e exploração do solo (Físico)**
- **Maior capacidade de absorção e assimilação (Fisiológico)**
- **Absorção de formas não disponíveis no solo**
- **Alteração microbiológica na rizosfera**
- **Amenização de estresses que reduzem absorção**
  - **Déficit hídrico, metais, herbicidas, patógenos, temperatura, etc.**





# MICORRIZA ARBUSCULAR



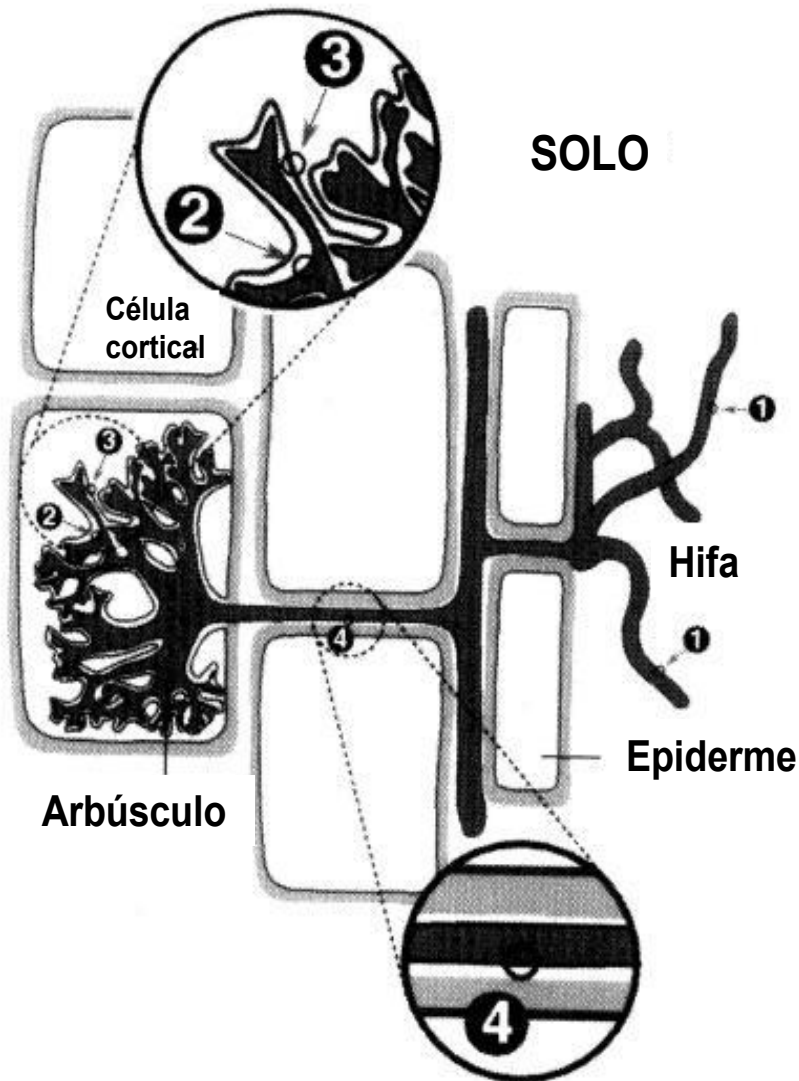
## O MICELIO EXTERNO DAS MAS

- ◆ Na rizosfera: 30 a 592 cm/cm de raiz
- ◆ No solo: 1 a 54 m/g de solo
- ◆ Taxa de crescimento: 823 vezes maior que as raízes
- ◆ Atividade: 2 a 96 % de hifas ativas
- ◆ Aumento de superfície: até 1800 %
- ◆ Influxo de P: 3 a 5x maior em plantas Micorrizadas  
80, 60, 25 % do P, Cu, N-Zn absorvido
- ◆ Fluxo de água: 2x maior em plantas Micorrizadas
- ◆ Agregação: relação direta com hifa

É MAIS EFICIENTE INVESTIR EM HIFAS (Evolução)



# Absorção e Transferência de Fósforo



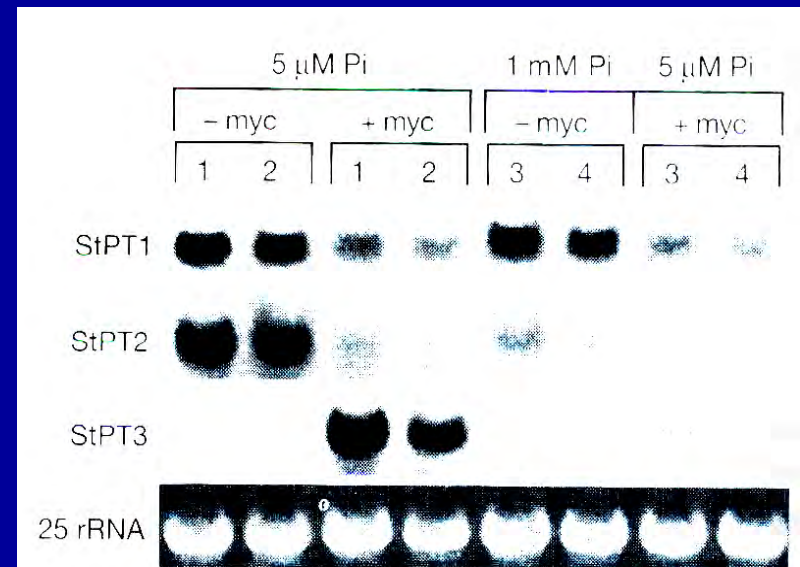
Transportadores:

*MtPT4* – abs. P nos arbúsculos

*StPT3* – células com arbúsculos  
transportador específico (ATPases-H<sup>+</sup>)

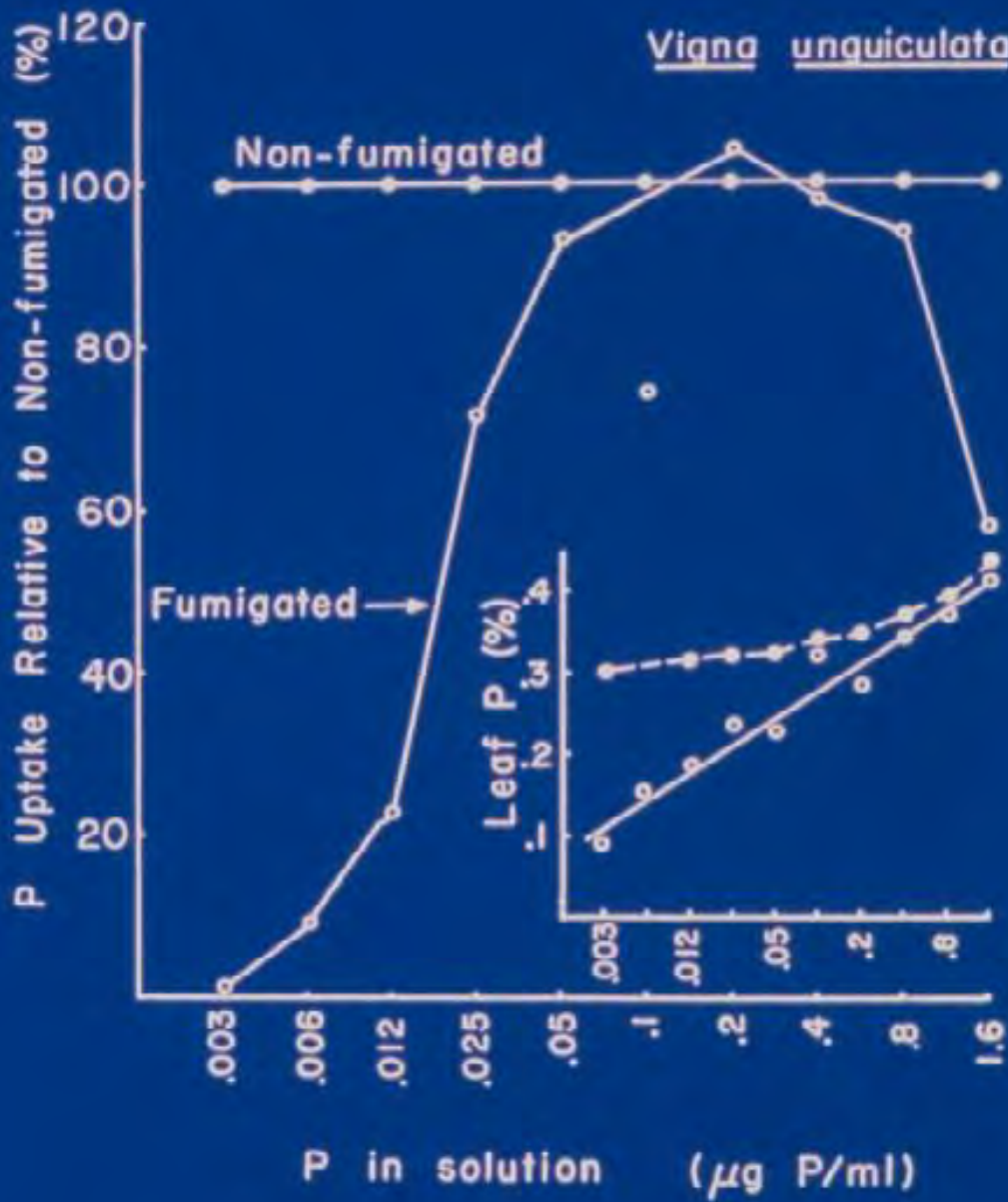
*GvPT* – absorção pela hifa (expresso em baixo P)

*OsPT11* (arroz) – induzidos nas MAs, mas não por fitopatógenos. Abs ↑ 3x levedura

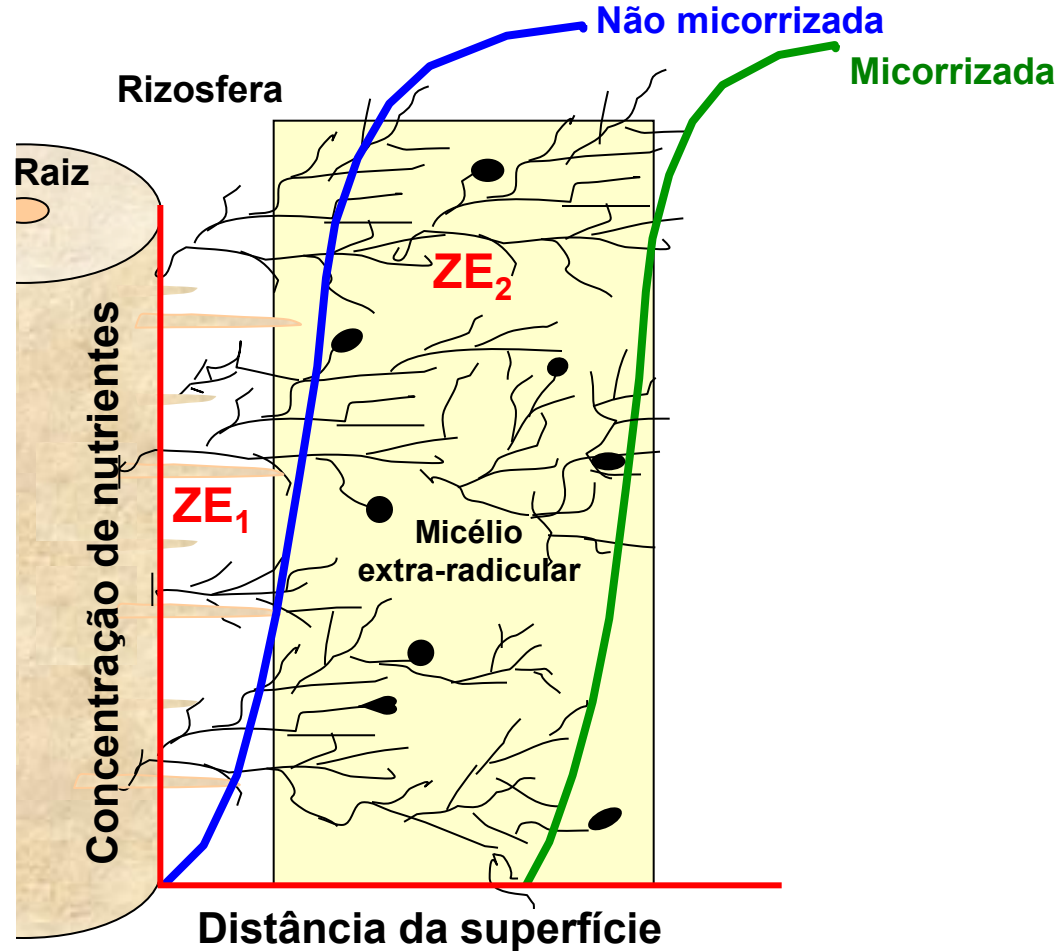




*Vigna unguiculata*



# MICORRIZA AUMENTA EXPLORAÇÃO DO SOLO AMPLIANDO A ZONA DE ESGOTAMENTO



Exemplo com milho, Kunish et al (1989) Fumigação do solo:  
Reduziu absorção do P em 60%, produtividade do milho reduziu 79 %  
convencional e 91% PD sem aplicação de P, mas em apenas 15% em  
solo com P (78 kg ha<sup>-1</sup>)

# MECHANISM OF PHOSPHATE UPTAKE

$$\text{Influx} = I_{\text{max}} \frac{C}{K_m + C} \quad (\text{Eq. I})$$

**C** is dependent upon  $\Delta C$ ;

$$\Delta C = \frac{P_{\text{soln}} - P_{\text{root}}}{\Delta x} \quad (\text{Eq. II})$$

To increase Influx:

- 1 - Increase  $P_{\text{soln}} \Rightarrow$  Fertilizer (\$)
- 2 - Reduce  $\Delta x \Rightarrow$  Root growth or VAM
- 3 - Reduce  $K_m \Rightarrow$  VAM can do (?)



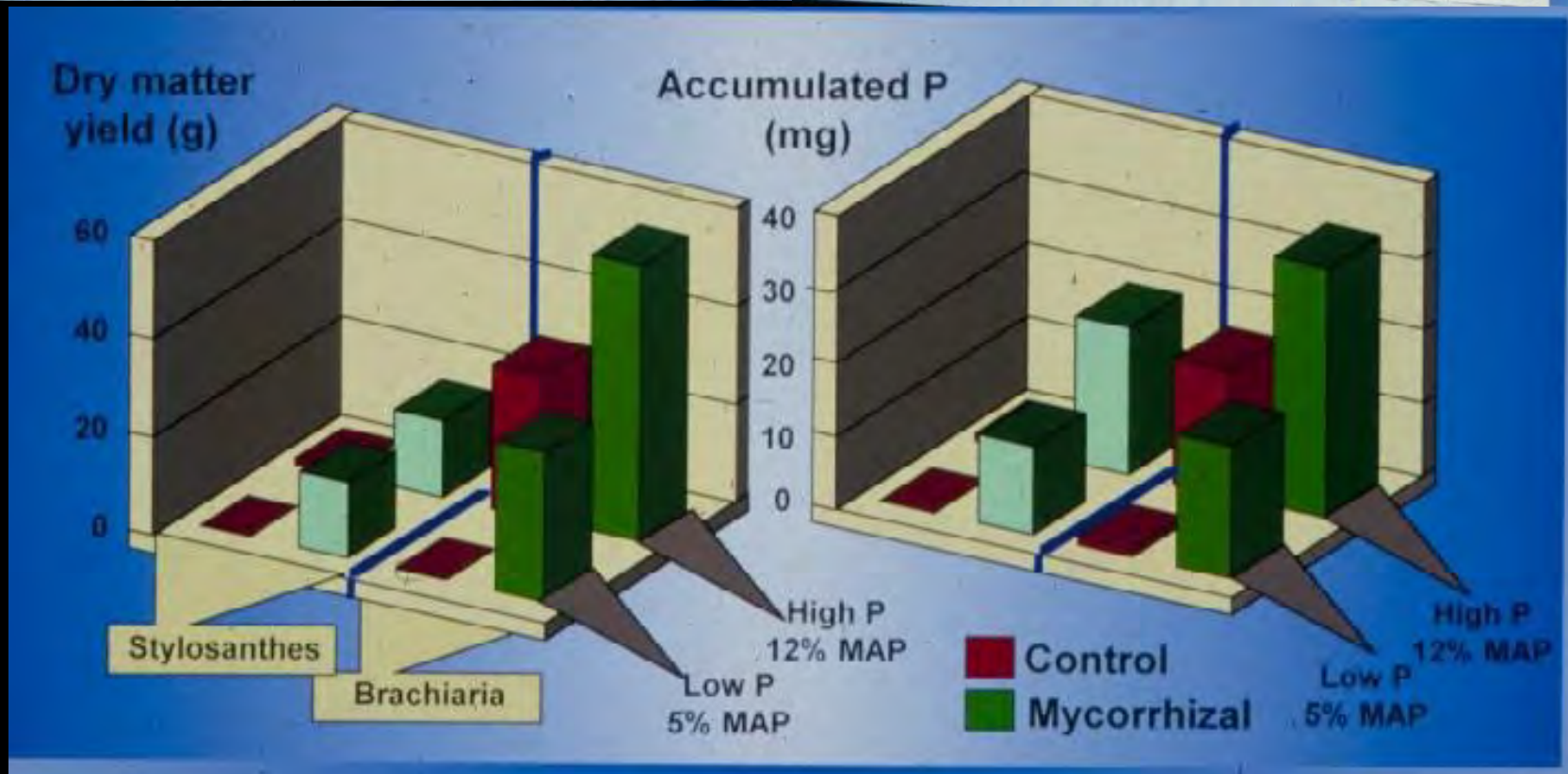
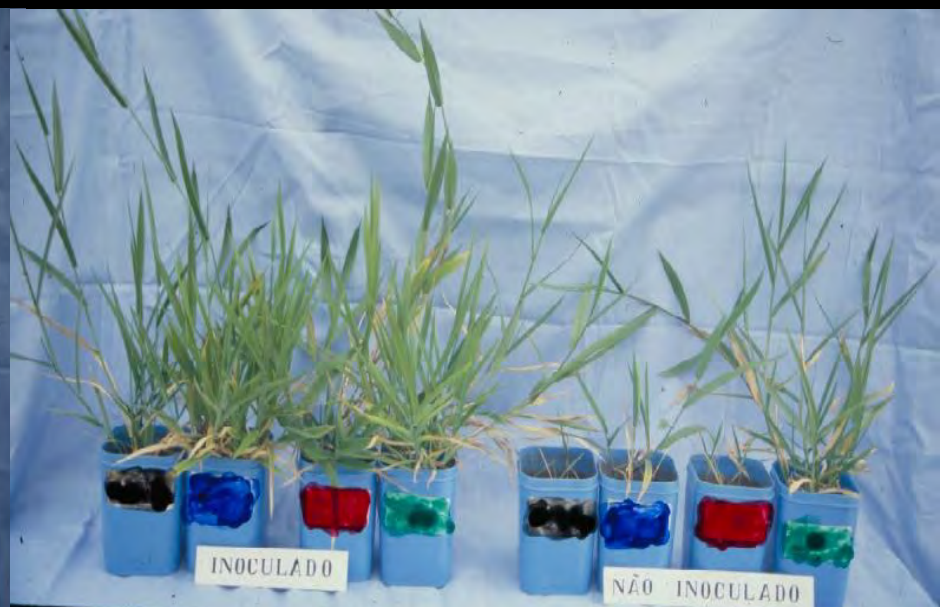
# MAAs na Aquisição de P

O'keefe & Sylvia (1991) baseado em modelos de absorção:

- Diâmetro das hifas  $8 \mu\text{m}$  (até  $20 \text{ m g}^{-1}$  solo taxa extensão 823 x maior que as raízes) e raízes  $250 \mu\text{m}$ : O aumento de área de superfície pode atingir 1800%
- Cada 1% de aumento na área superfície pode aumentar em 150% o influxo de P na planta

• As MAAs contribui com até 80% da absorção de P das raízes

• A inativação do micélio extra-radicular (biocidas) reduz drasticamente o influxo de P

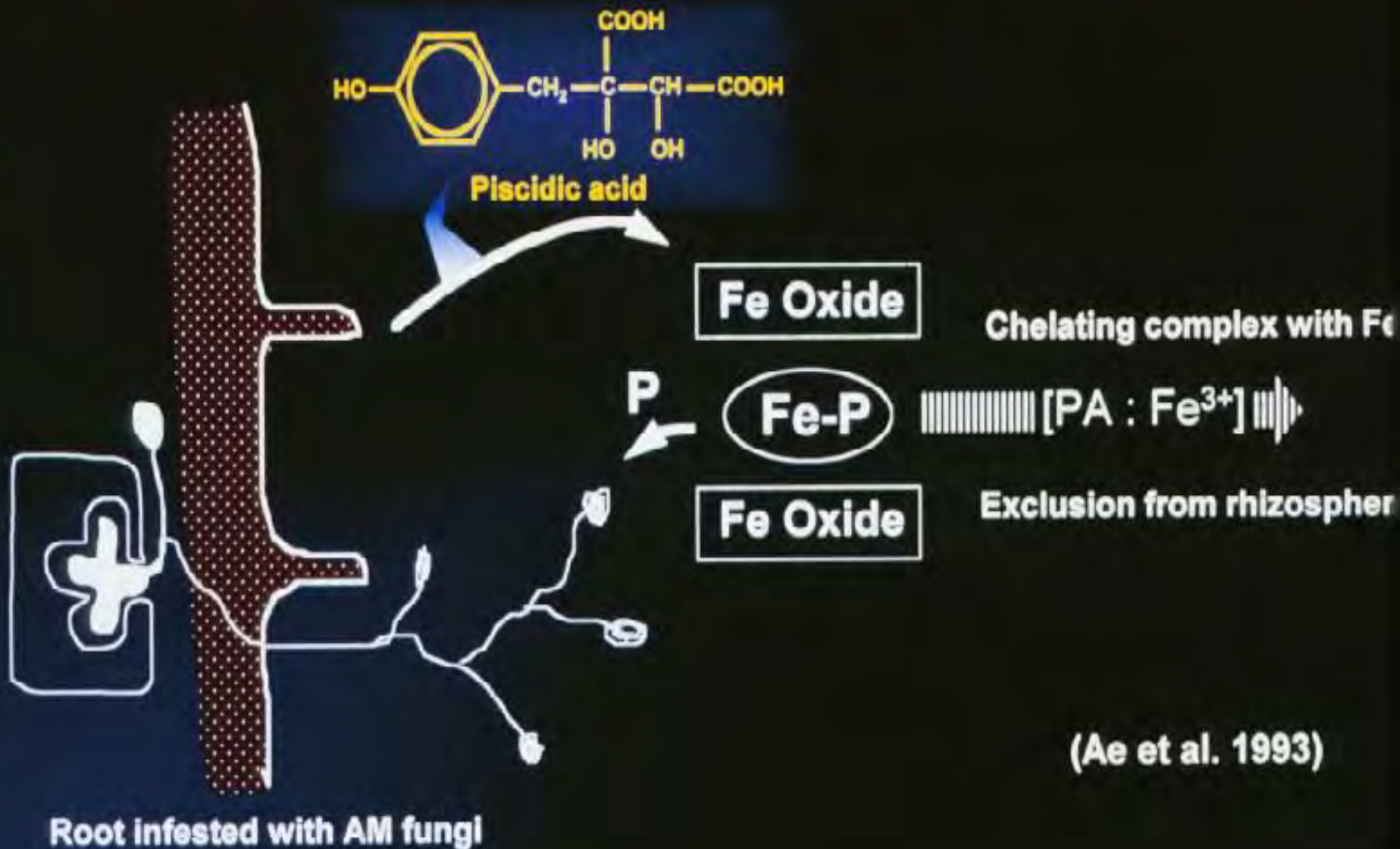




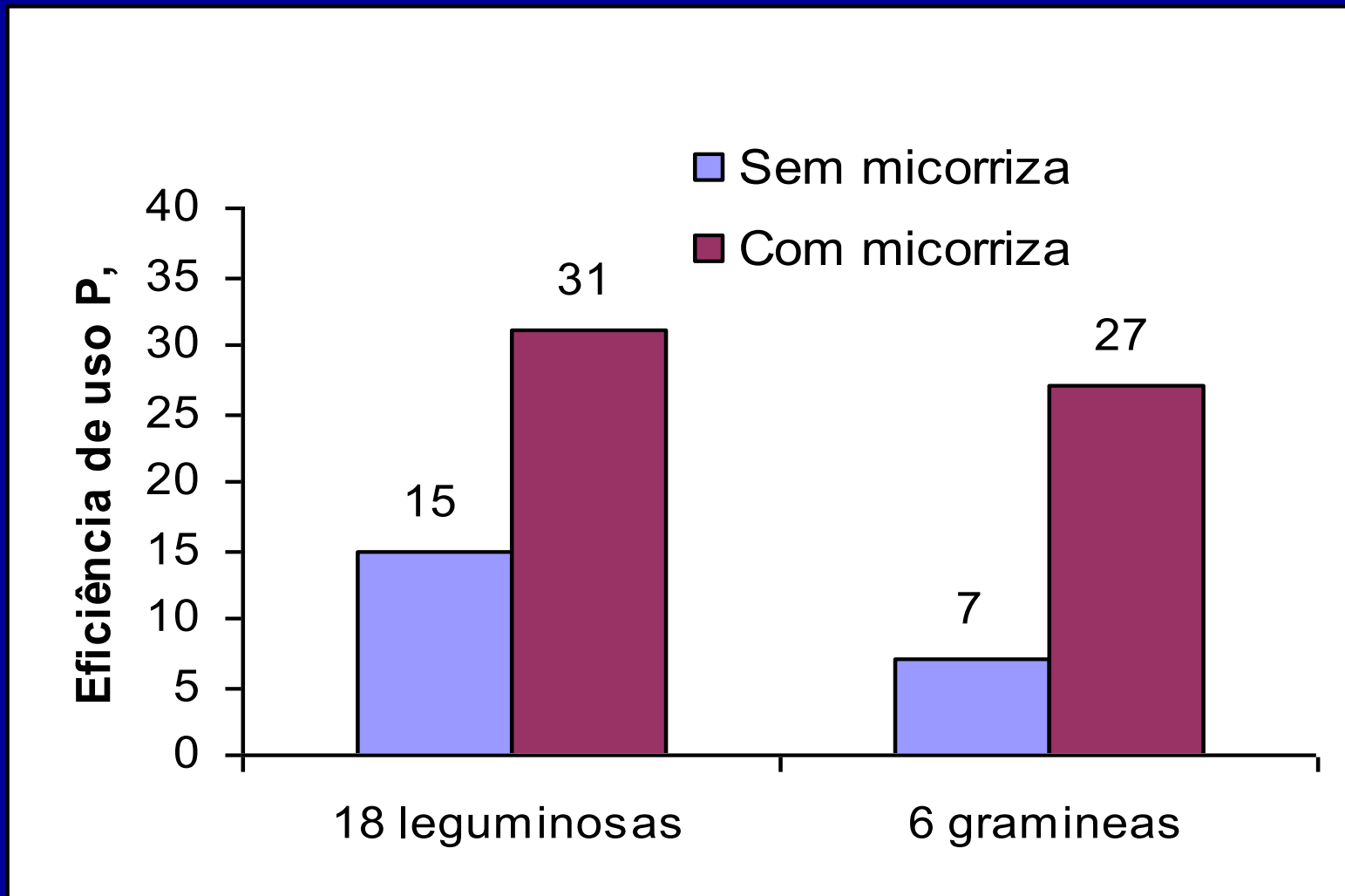
# Utilização de Formas Pouco Disponíveis (insolúveis)

- Murdoch (1967): A mobilização do P de rocha atingiu 60% do P absorvido pelo milho
- Possíveis mecanismos de mobilização:
  - Ácidos orgânicos solubilizadores
  - Alteração na dinâmica das formas
  - Absorção seletiva de P pelas hifas
  - Elevação nos teores de CO<sub>2</sub> na rizosfera
  - Produção de quelantes/complexantes (Sideróforos)
  - Favorecimento mineralizadores e solubilizadores

# Mycorrhiza effect on P-uptake (Pigeonpea)



# Micorriza Aumenta Eficiência de Uso do P



# Micorriza reduz requerimento externo de P

Cultura	80% CM		Efeito Micorriza	Efeito equivalente
	Cont.	MIC		
	P, mg L <sup>-1</sup>		%	P, mg.kg <sup>-1</sup> solo
<b>Brachiaria</b>	<b>0,090</b>	<b>0,015</b>	<b>84</b>	<b>70</b>
<b>Milho</b>	<b>0,220</b>	<b>0,130</b>	<b>41</b>	<b>75</b>
<b>Soja</b>	<b>0,300</b>	<b>0,125</b>	<b>59</b>	<b>150</b>
<b>Cafeeiro</b>	<b>0,625</b>	<b>0,300</b>	<b>52</b>	<b>210</b>
<b>Estilosantes</b>	<b>0,900</b>	<b>0,300</b>	<b>67</b>	<b>400</b>

(Siqueira,1987)

# MA: Grande Potencial Tecnológico (Aplicação)

- Inoculação: viável para culturas transplantadas  
Inviável para culturas anuais a campo
- Manejo da população Indígena:
  - Rotação culturas (multiplicadoras x não hospedeiras)
  - Cultivo mínimo mantém elevada infectividade do solo
  - Cultivo intensivo reduz micorrização – “Cultura viciada” (declínio das culturas)
- Estimulantes da micorrização  
Isoflavonóides (Formononetina – Myconate)  $100 \text{ g.ha}^{-1}$   
(aumentou milho 28% ou 37 sacas). Efeito semelhante em várias culturas



# YIELD OR GROWTH INCREASE (FIELD)

## CROPS OVER CONTROL

Forest species	167 - 8000%
Coffee seedlings	50 - 600%
Fruit crops	50 - 250%
Horticultural crops	5 - 120%
Forage crops	10 - 200%
Grain legumes	10 - 110%
Cereal crops	18 - 290%

Source: Siqueira and Franco, 1988

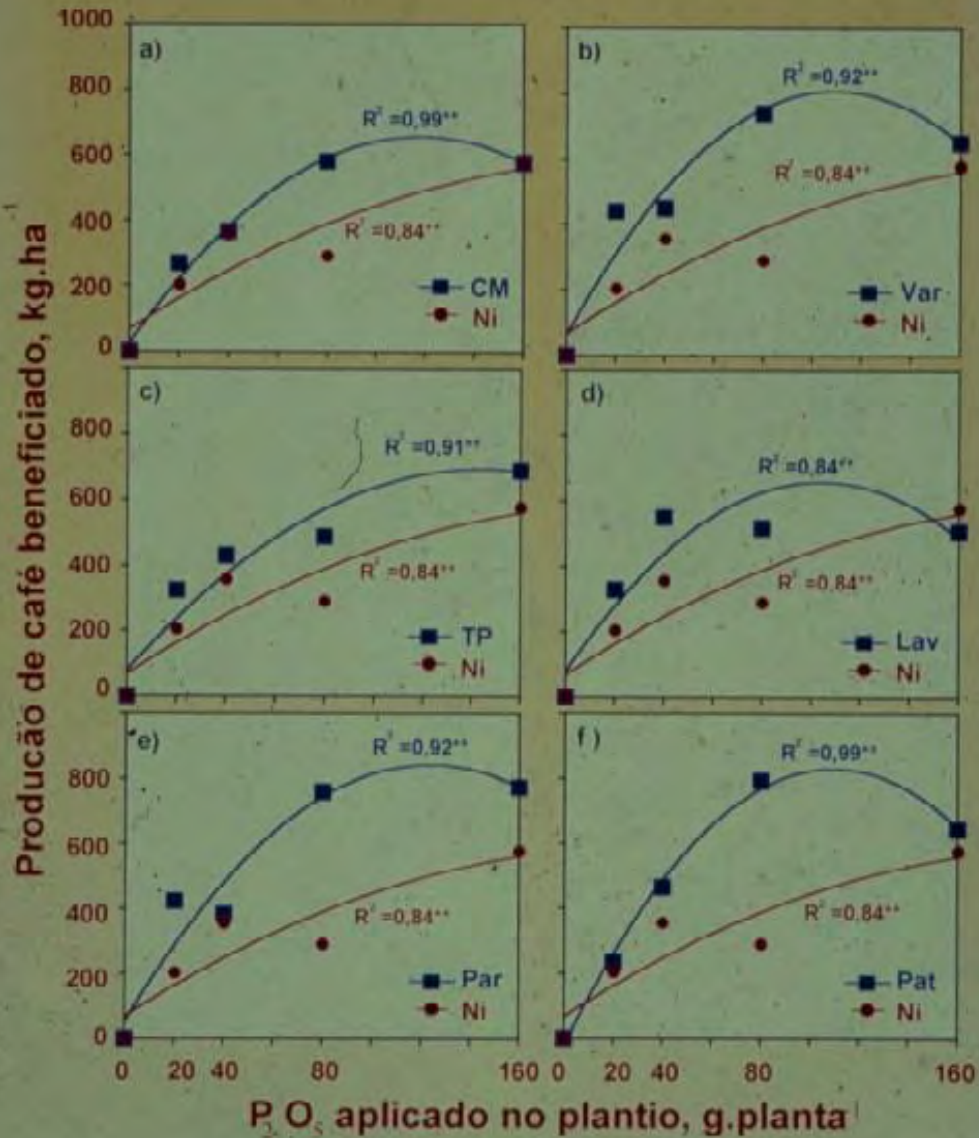
# Inoculação com FMAs Aumenta Produção

Cultura/adubação	Ni	Inoculada	Aumento
		t.ha <sup>-1</sup>	
<b>Mandioca - sem P</b>	<b>9,800</b>	<b>9,300</b>	<b>0%</b>
<b>- 100 kg ST</b>	<b>11,6</b>	<b>17,6</b>	<b>51 %</b>
<b>100 kg rocha</b>	<b>11,7</b>	<b>19,2</b>	<b>64 %</b>
		Kg. ha <sup>-1</sup>	
<b>Feijoeiro – 100 kg P</b>	<b>620</b>	<b>539</b>	<b>0</b>
<b>(Grãos) - P + Calc.</b>	<b>908</b>	<b>1.112</b>	<b>22 %</b>
		Kg frutos/ planta	
<b>Maracujá, frutas</b>	<b>15,4</b>	<b>23,3</b>	<b>51%</b>
<b>Café</b>			
<b>(vários exp. 5 anos)</b>	<b>3.992</b>	<b>6.057</b>	<b>52%</b>

Howeler et al., (1987); Siqueira et al., (1998); Colozzi Filho & Carvalho (1991)









# **Aplicação no Cafeeiro** (Siqueira et al., 1993, RBCS; 1998, Mycorrhiza)

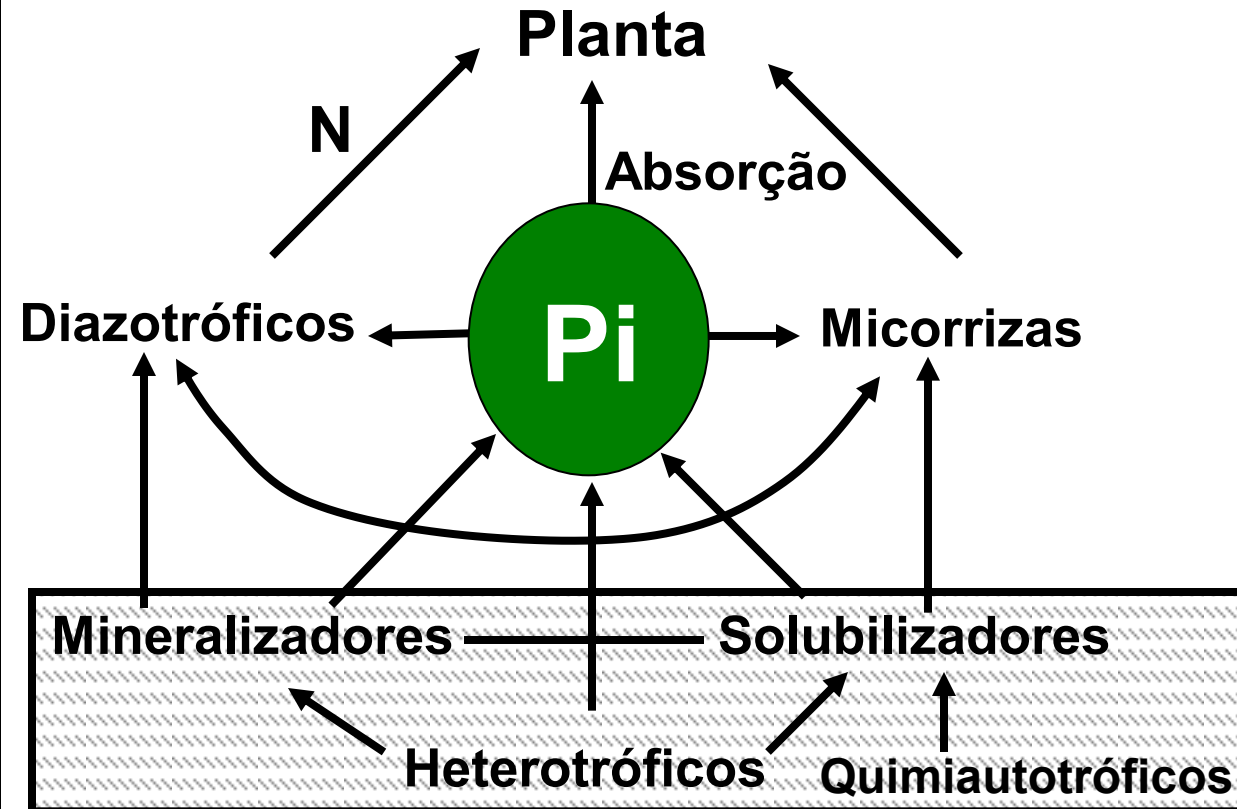
---

- **Formação mais rápida das mudas**
- **Maior sobrevivência no campo**
- **Melhor desenvolvimento vegetativo**
- **Maior produção nos primeiros anos (50%)**
  - **Efeito equivalente 250 kg ha<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>**
  - **Elevado sinergismo com adubação**
- **Benefícios tornam-se inconsistentes ou desaparecem com o tempo**
  - **Colonização pelos fungos indígenas**
  - **Aumenta massa/eficiência de raízes**
  - **Redução requerimento P**

---

**“ Empregada em larga escala na Colômbia Gira Agroindustrial”  
(Popayan-Cauca)**

# Sinergia dos Processos biológicos do P



**Aquisição**

**Disponibilização**

**Reservas no solo  
(Inorgânico – orgânico)**

# CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Microrganismos e seus processos são partes integrantes do ciclo do P, garantindo o fluxo desse elemento na biosfera (solo-planta):
  - Mineralização (Estoque orgânico); Solubilização (Estoque inorgânico); Aquisição (P-disponível)
- Contradição (funcional)
  - Processos biológicos do ciclo do P são diversos, abundantes e intensos (mobilização) e o solo é o segundo maior reservatório de P do planeta: **“Porque o crescimento é tão limitado por esse elemento?”**
    - Há necessidade de avanços científicos: Fatores reguladores, Interações, Processos tecnológicos (limitados e problemáticos)

# CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Maximizar o aproveitamento do P “in situ” de modo a manter a produtividade, enquanto reduz a necessidade de aplicação de P.
- “Conhecimento e Aplicação Ainda Separados”

## Estoque de Conhecimento

- Processos
- Organismos
- Mecanismos
- Quantidade
- Formas de P (ciclo aberto)

## Avanços Científicos



## Pouca aplicação prática

- Deficiência generalizada
- Baixo aproveitamento P
- Reservas finitas
- Impacto ambiental
- Tecnologia e manejo

Visão holística e estratégica  
Programas focados de P&D  
Investimentos em C&T