

# SOLUBILIZAÇÃO DE FOSTATOS POR MICRORGANISMOS NA PRESENÇA DE FONTES DE CARBONO<sup>(1)</sup>

G. N. SILVA FILHO<sup>(2)</sup> & C. VIDOR<sup>(3)</sup>

## RESUMO

O potencial de solubilização de fosfatos por bactérias e fungos cultivados em meio de cultura GEL (Glicose-Extrato de Levedura), suplementado com diferentes formas de fosfatos (cálcio, alumínio e ferro) e fontes de carbono (celulose, amido, sacarose, glicose, frutose e xilose), foi avaliado em laboratório. O crescimento, o diâmetro da área solubilizada e a relação halo/colônia variaram conforme o tipo de microrganismo e a fonte de fósforo e de carbono. Dos 57 isolados utilizados, 56 formaram halo na presença de fosfato de cálcio e cinco apenas na presença de fosfato de alumínio e nenhum foi capaz de solubilizar fosfato de ferro. Contudo, seis isolados cresceram melhor no meio com fosfato de ferro em comparação com o meio testemunha. As maiores colônias e halos foram observados nos isolados de *Rhizopus* e *Aspergillus*, enquanto as maiores relações halo/colônia foram encontradas em *Paecilomyces* e *Penicillium*. Todos os isolados cresceram no meio GEL base (testemunha sem açúcar), mas a solubilização ocorreu apenas na presença de carbono adicionado ao meio, destacando-se xilose, glicose, frutose e sacarose.

**Termos de indexação:** cálcio-fosfato, alumínio-fosfato, ferro-fosfato, bactéria, fungo, celulose, amido, sacarose, glicose, frutose, xilose.

**SUMMARY:** *PHOSPHATE SOLUBILIZATION BY MICROORGANISMS IN THE PRESENCE OF DIFFERENT CARBON SOURCES*

*Phosphate solubilization by bacteria and fungi grown in broth media (glucose-yeast extract/GYE) supplied with phosphate (Ca-P, Al-P and Fe-P) and carbon sources (cellulose, starch, sucrose, glucose, fructose and xylose) was evaluated under laboratory conditions. Growth, halo diameter, colony diameter and halo/colony ratio varied according to the*

---

<sup>(1)</sup> Parte da tese de Doutorado do primeiro autor, apresentada à Faculdade de Agronomia – UFRGS, Porto Alegre (RS). Recebida para publicação em dezembro de 1998 e aprovada em março de 2000.

<sup>(2)</sup> Professor do Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Centro de Ciências Biológicas, UFSC. Bolsista CAPES/PICD. Caixa Postal 476, CEP 88010-970 Florianópolis (SC). E-mail: germano@ccb.ufsc.br

<sup>(3)</sup> Professor do Departamento de Solos, Faculdade de Agronomia, UFRGS. Caixa Postal 776, CEP 90001-970 Porto Alegre (RS).

*microorganisms and phosphate or carbon sources. From 57 isolates, 56 were able to solubilize Ca-P with differing halo diameters, five succeeded to solubilize Al-P at different ranges and none was able to solubilize Fe-P. However, six isolates grew better in media supplied with Fe-P than in basal growth media (GYE). The largest colonies and halos were observed in cultures of Rhizopus and Aspergillus, whereas the largest halo/colony ratios were obtained with cultures of Paecilomyces and Penicillium. All microbial isolates were capable of growing in GYE but solubilization occurred only when a carbon source was added to the media, with better performance in the presence of xylose, glucose, fructose and sucrose.*

*Index terms: calcium-phosphate, aluminum-phosphate, iron-phosphate, bacteria, fungi, cellulose, starch, sucrose, glucose, fructose, xylose.*

## INTRODUÇÃO

O fósforo é um nutriente essencial às plantas, mas, em geral, encontra-se em baixa disponibilidade no solo, sendo necessárias altas dosagens de adubos fosfatados para a obtenção de alta produtividade (Raij, 1991). Essas adubações são realizadas principalmente com fosfatos solúveis em água, atingindo dosagens de fósforo muito superiores às necessidades das culturas, pois a maior parte do adicionado torna-se indisponível às plantas (Rieder, 1986).

Os microrganismos solubilizadores de fosfatos desempenham importante papel na disponibilização de formas inorgânicas de fosfatos (Ca-P, Al-P e Fe-P), considerando o aumento do teor de fósforo na solução, que propicia melhor crescimento e maior rendimento das culturas (Ralston & McBride, 1976; Kucey, 1987; Chabot et al., 1993).

O uso de microrganismos solubilizadores em inoculantes ou o manejo de suas populações no solo constituem alternativas para a melhoria do suprimento de fósforo para as plantas. No entanto, o desenvolvimento dessas tecnologias e de processos que maximizem a solubilização requer melhor conhecimento não só das condições que influem no crescimento, mas também dos mecanismos de solubilização utilizados pelos microrganismos. Poucos trabalhos têm sido realizados para avaliar a capacidade e o potencial de solubilização na presença de diferentes fontes de carbono e fósforo. As informações, em sua maioria, têm sido obtidas com microrganismos isolados de regiões de clima temperado na presença de glicose e fosfato de cálcio. As informações sobre a solubilização de fosfatos de ferro e alumínio são escassas, embora, nas condições tropicais e subtropicais, sejam as formas predominantes de fosfatos (Raij, 1991). Além disso, existem diferenças na capacidade e no potencial de solubilização dos microrganismos. Determinado microrganismo pode solubilizar apenas Ca-P, enquanto outros ainda solubilizam Al-P e Fe-P, devendo-se levar em consideração que os microrganismos podem solubilizar

esses fosfatos em diferentes intensidades (Banik & Dey, 1982; Doyle et al., 1990).

Pesquisas relativas aos efeitos de fontes de carbono na solubilização de fosfatos têm apresentado resultados controversos. Cerezine et al. (1988), trabalhando com *Aspergillus niger*, verificaram que a solubilização ocorria na presença de vários carboidratos, mas a intensidade era maior na presença de frutose. Já Wenzel et al. (1994), utilizando bactérias, verificaram que a solubilização só ocorreu na presença de glicose. Portanto, as condições de realização do trabalho e o tipo de microrganismo utilizado são fatores que influenciam a intensidade de solubilização na presença de determinada fonte de carbono. Considerando essas diferenças de comportamento, desenvolveu-se a presente pesquisa com o objetivo de avaliar a capacidade e o potencial de solubilização de isolados de microrganismos solubilizadores de fosfatos na presença de diferentes tipos de fosfatos e fontes de carbono.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados, inicialmente, 57 isolados (15 bactérias e 42 fungos), pertencentes à coleção de microrganismos solubilizadores de fosfatos do Laboratório de Microbiologia do Solo do Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina, provenientes de amostras de solos de pomares (macieira, pessegueiro ou videira) e florestas (*Pinus* ou *Eucalyptus*) de Santa Catarina e caracterizados morfofisiologicamente por Silva Filho (1998).

O crescimento e a atividade solubilizadora (capacidade e potencial de solubilização) dos isolados foram avaliados em meio glicose-extrato de levedura/GEL (Sylvester-Bradley et al., 1982), modificado, com 0,3% de extrato de levedura, em experimento fatorial em delineamento de blocos completos casualizados com cinco repetições.

Na avaliação das fontes de fósforo, utilizou-se o meio de cultura GEL como testemunha e suplementado com uma das três fontes ( $\text{CaHPO}_4$ ,  $\text{AlPO}_4$  ou  $\text{FePO}_4$ ), na proporção de  $0,89 \text{ g L}^{-1}$  de P. O fosfato de cálcio foi obtido pela adição de 1 mL de uma solução de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  a 5% e 1 mL de uma solução de  $\text{CaCl}_2$  a 10% por 10 mL de meio (Sylvester-Bradley et al., 1982). O de alumínio (fosfato de alumínio básico, p.a., Merck) foi adicionado na forma de suspensão na proporção de  $3,5 \text{ g L}^{-1}$  de meio. O fosfato de ferro (fosfato férrico granulado, p.a., Merck), por se encontrar na forma de grânulos, foi moído e passado em peneira com malha de 0,053 mm. O material peneirado foi utilizado na forma de suspensão na proporção de  $4,33 \text{ g L}^{-1}$ .

Na avaliação do efeito de fontes de carbono, foram utilizados 21 isolados selecionados de acordo com suas características morfofisiológicas (Silva Filho, 1998) e de solubilização na presença de diferentes fosfatos. Eles foram cultivados no meio GEL, no meio GEL sem glicose (testemunha) e no meio GEL em que a glicose foi substituída por uma das seguintes fontes: xilose, frutose, sacarose, amido ou celulose.

O inóculo utilizado foi preparado, adicionando-se 3 mL de água destilada esterilizada a culturas de 72 h de incubação a  $30^\circ\text{C}$ , seguida de agitação manual. Para efetuar a inoculação, utilizou-se um bastão de arame de diâmetro aproximado de 1 mm. Em cada placa, foram colocados sete isolados em pontos equidistantes. Apenas o isolado 306 foi semeado isoladamente, em virtude de seu rápido crescimento. Após 72 h de incubação a  $30^\circ\text{C}$ , foi verificada a presença de área solubilizada (capacidade de solubilizar) e feita a medição do diâmetro dessa área e da colônia. A partir destes dados, foi obtida a relação entre os diâmetros do halo e da colônia, utilizado na avaliação do potencial de solubilização. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Fontes de fósforo

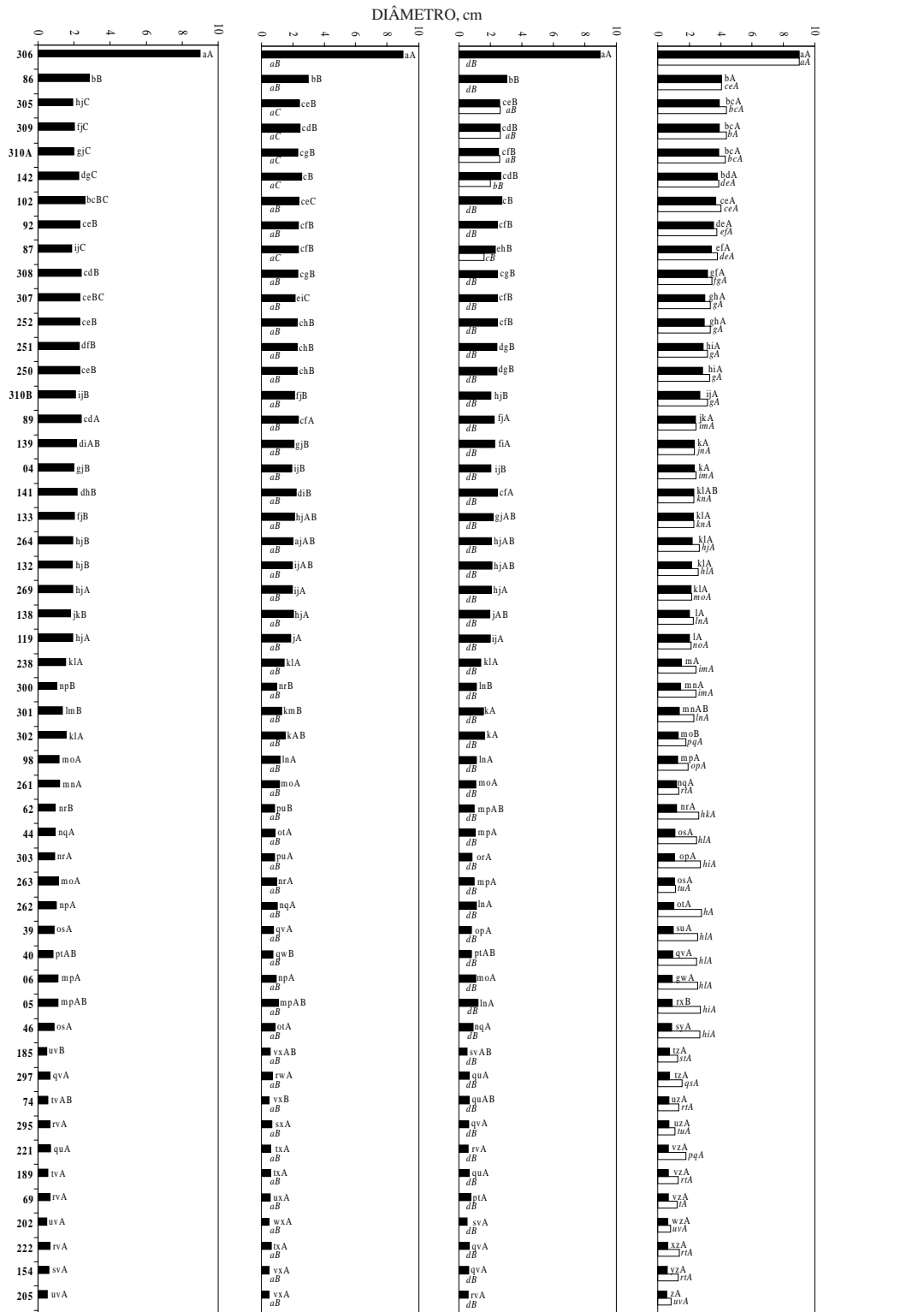
O crescimento dos isolados, a capacidade solubilizadora e o potencial de solubilização variaram conforme o microrganismo e as fontes de fósforo (Figura 1). À exceção do isolado fúngico 293 (*Paecilomyces*), com um diâmetro médio de colônia variando entre 0,22 e 0,46 cm, os demais apresentaram tamanho de colônia superior ao das bactérias. O isolado 306 (*Rhizopus*) foi o que mais cresceu, ocupando toda a placa em menos de 72 h de incubação. As colônias dos isolados do gênero *Aspergillus* foram, de maneira geral, maiores que as de *Penicillium*, com um diâmetro médio variando

de 1,88 a 4,06 contra 0,88 a 2,40 cm. A menor amplitude de variação foi observada nas colônias bacterianas, com os diâmetros ficando entre 0,40 e 0,78 cm.

Vinte e sete isolados tiveram seu crescimento afetado pelas fontes de fósforo. Na presença de fosfato de cálcio, 22 isolados tiveram os diâmetros das colônias aumentado, chegando, em alguns casos (isolados 305, 309 e 310 A), ao dobro dos obtidos no meio GEL (testemunha), enquanto dois isolados apresentaram diâmetros menores. Embora o percentual de redução tenha sido pequeno no isolado 302, no isolado 293 foi superior a 50%. No meio com fosfato de alumínio, sete isolados apresentaram o diâmetro da colônia superior ao da testemunha. Destes, cinco eram pertencentes ao gênero *Aspergillus* (87, 142, 305, 309 e 310 A) e dois ao gênero *Penicillium* (141 e 301). Com o fosfato de ferro, o crescimento foi maior em seis isolados, sendo cinco do gênero *Aspergillus* e um do gênero *Penicillium* (138). Os cinco isolados do gênero *Aspergillus* foram os mesmos que cresceram melhor no fosfato de alumínio.

Nenhum isolado produziu halo no meio com fosfato de ferro, apenas cinco produziram-no na presença de fosfato de alumínio e, com exceção do isolado 148, todos solubilizaram fosfato de cálcio. A baixa incidência de microrganismos solubilizadores de fosfatos de cálcio que solubilizam fosfatos de alumínio ou de ferro também tem sido encontrada por outros autores (Banik & Dey, 1982; Toro et al., 1996). Em alguns casos, os isolados solubilizam somente fosfatos de cálcio (Louw & Webley, 1959; Duff et al., 1963; Wenzel et al., 1994). Todos os isolados da coleção que solubilizaram fosfato de alumínio pertencem ao gênero *Aspergillus*. Isto concorda, em parte, com os trabalhos de Carvalho et al. (1969), Banik & Dey (1982) e Illmer et al. (1995) onde espécimes deste gênero são indicados como solubilizadores de fosfatos de alumínio. Vários outros gêneros (*Pseudomonas*, *Penicillium*, *Erwinia*, *Enterobacter* e *Bacillus*) têm sido apontados como solubilizadores de fosfatos de alumínio e, ou, de ferro (Duff et al., 1963; Carvalho et al., 1969; Banik & Dey, 1982; Illmer et al., 1995; Toro et al., 1996). No entanto, os isolados indicados por Silva Filho (1998), como pertencentes a estes gêneros, não demonstraram tal atividade.

Apesar de não ter sido verificada a formação de halo no meio com fosfato de ferro, seis isolados cresceram melhor nesta fonte (15-30%) do que na testemunha. Isto poderia ser devido ao efeito nutritivo do ferro ou ao fato de estar este crescimento relacionado com o maior suprimento de fósforo obtido pela utilização do fosfato de ferro ou, ainda, a ambos os fatores (Alexander, 1980). No caso do fosfato de alumínio, verificou-se que dois isolados (141 e 301) que tiveram o crescimento máximo nesta fonte não demonstraram a formação de halo. Como o alumínio



ISOLADOS                      TESTEMUNHA                      FOSFATO DE FERRO                      FOSFATO DE ALUMÍNIO                      FOSFATO DE CÁLCIO

■ Colônia  
□ Halo

**Figura 1. Diâmetro da área solubilizada e da colônia de microrganismos solubilizadores de fosfatos em meio glicose extrato levedura com diferentes fontes de fosfato. Letras em estilo normal e *itálico* comparam diâmetro de colônia e da área solubilizada, minúsculas e maiúsculas comparam isolados dentro de fosfato e fosfatos dentro de isolados, respectivamente, pelo teste de Tukey a 5%.**

não é considerado um elemento essencial (Keyser & Munns, 1979), este maior crescimento é supostamente atribuído à utilização do fósforo do fosfato de alumínio.

Além das características intrínsecas dos fosfatos, a baixa incidência de microrganismos que solubilizam fosfatos de alumínio e, ou, de ferro encontrados na literatura e neste trabalho pode ter sua origem nos procedimentos de isolamento. Inicialmente, os isolados são obtidos a partir do crescimento e formação do halo de solubilização, em meio de cultura com fosfato de cálcio. Somente após esse primeiro estágio, é que os isolados são testados nos fosfatos de alumínio e de ferro. Essa ordenação nos procedimentos de isolamento pode levar à maior seletividade de microrganismos capazes de solubilizar fosfato de cálcio em detrimento de fosfato de alumínio e de ferro.

Os isolados diferiram quanto ao potencial de solubilização, tanto entre quanto dentro de cada fosfato. No caso do fosfato de cálcio, o isolado 293 (*Paecilomyces*) apresentou o maior potencial de solubilização com uma relação de 5,07. Com uma relação de cerca de 3 e, portanto, com um potencial de solubilização alto, foram encontrados dois isolados (05 e 46), ambos *Penicillium*. Com um potencial considerado como médio (relação entre 2 e 3), foram encontrados 12 isolados: cinco bactérias (duas *Pseudomonas* e três Enterobacteriaceae) e sete fungos (todos *Penicillium*). Trinta e sete isolados apresentaram uma relação entre 1 e 2, demonstrando baixo potencial de solubilização. Entre estes, estava a quase totalidade dos isolados de *Aspergillus*. Com uma relação em torno de 1 e, portanto, com um potencial muito baixo estavam quatro isolados (dois *Penicillium*, um *Aspergillus* e um *Rhizopus*).

Os resultados parecem indicar certa regularidade entre os isolados do mesmo gênero. De maneira geral, os isolados de *Penicillium* apresentaram potencial superior ou igual aos de *Pseudomonas* que, por sua vez, foram superiores aos de *Bacillus*, e estes aos de *Aspergillus*. Diversos autores fizeram comparações entre as espécies, com vistas em avaliar o potencial de solubilização. Arora & Gaur (1979) e Kucey (1983) encontraram que os fungos são mais ativos do que as bactérias. Percebem-se controvérsias a respeito dos fungos mais citados na literatura (*Penicillium* e *Aspergillus*). Chhonkar & Subba-Rao (1967) observaram que *Penicillium lilacinum* solubiliza mais fosfatos que as espécies de *Aspergillus*, enquanto Agnihotri (1970), Arora & Gaur (1979) e Banik & Dey (1982) constataram que espécies de *Aspergillus* são superiores às de *Penicillium*. Já, entre as bactérias, os trabalhos de Taha et al. (1969), Arora & Gaur (1979) e Nahas (1996) demonstraram que as espécies de *Pseudomonas* são superiores às de *Bacillus*. Para melhor compreensão destes resultados, é necessário avaliar as condições do meio e dos métodos utilizados na determinação da solubilização do fosfato, além da espécie utilizada.

Lapeyrie et al. (1991), por exemplo, trabalhando com *Paxillus involutus*, verificaram que o potencial de solubilização era variável dentro da mesma espécie. As avaliações realizadas em relação ao fósforo solubilizado em meio líquido ou em área solubilizada têm tendência a favorecer as espécies que tenham alta agressividade de crescimento, como as de *Aspergillus* e *Rhizopus*, em detrimento daquelas que têm crescimento limitado, como as bactérias, *Penicillium* e *Paecilomyces*. Desta forma, é recomendável que ambos os procedimentos (diâmetro de halo e relação halo/colônia) sejam utilizados em estudos de seleção de solubilizadores.

Entre os isolados capazes de solubilizar fosfatos de cálcio e alumínio, 305, 309 e 310 A apresentaram potencial semelhante para solubilizar ambas as formas, enquanto 142 e 87 solubilizaram menos no fosfato de alumínio. Em ambas as situações, a relação encontrada foi baixa ou muito baixa, indicando baixo potencial. Resultados semelhantes são encontrados na literatura. Banik & Dey (1982) verificaram que os isolados de *Aspergillus niger* solubilizaram quantidades maiores de fosfato de cálcio do que de alumínio. Já Carvalho et al. (1969) encontraram para o mesmo gênero um resultado inverso; a quantidade solubilizada no fosfato de alumínio foi superior à da apatita. Outros autores também têm encontrado diferenças entre as espécies. Illmer & Schinner (1995), por exemplo, verificaram que *Aspergillus niger* e *Penicillium simplicissimum* são mais eficientes em solubilizar o fosfato de alumínio, enquanto *Pseudomonas* sp e *Penicillium aurantiogriseum* são em fosfato de cálcio.

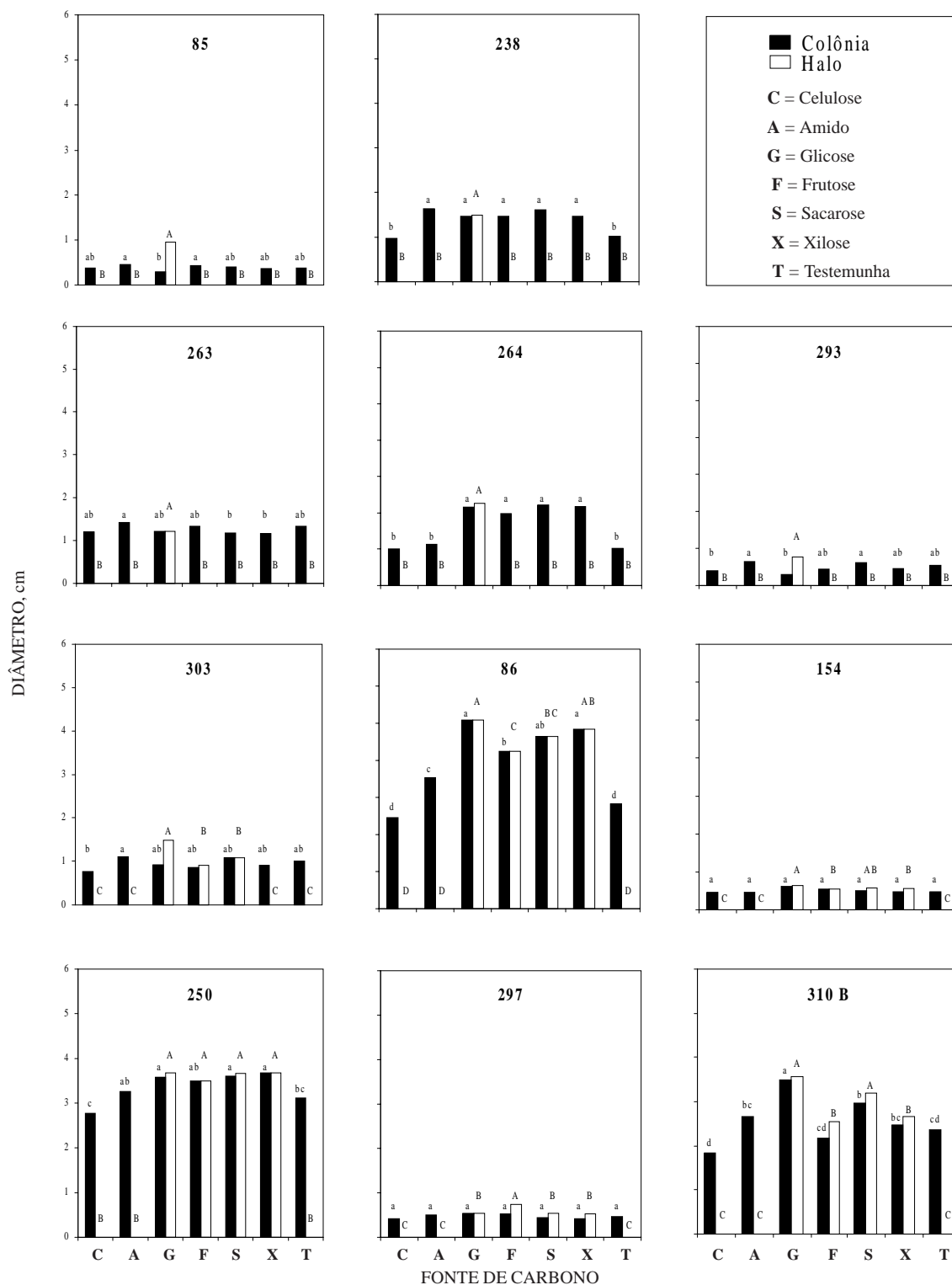
### Fontes de carbono

Todos os 21 isolados testados cresceram nos diversos meios de cultura, no entanto, sete deles (04, 89, 98, 119, 148, 205 e 239) não solubilizaram fosfatos em nenhuma das condições experimentais. Destes, o isolado 148 já havia perdido a capacidade de solubilizar antes de ser utilizado neste experimento. Outros três (04, 89, 119) já haviam apresentado fraca atividade solubilizadora no fosfato de cálcio, com uma relação de cerca de 1, ou seja, no limite da colônia (Figura 1).

Nos demais isolados, a solubilização foi variável, conforme a fonte de carbono adicionada. No tratamento testemunha (meio GEL básico sem carbono adicionado), todos os microrganismos foram incapazes de solubilizar qualquer uma das formas de fosfato (Figuras 2 e 3). Isto significa que a fonte carbonada existente no extrato de levedura possibilitou apenas o crescimento dos microrganismos, não permitindo a produção de substâncias solubilizadoras. Estes resultados foram repetidos quando se adicionou a celulose. A justificativa pode estar no fato de nenhum isolado ter demonstrado capacidade de hidrolisar a celulose. O tempo de 72 h de incubação utilizado no experimento pode ter sido

insuficiente para formação de enzimas que hidrolisam a celulose e, portanto, não permite afirmar que microrganismos solubilizadores de fosfatos na presença de celulose não tenham a

capacidade de solubilizar, uma vez que Banik & Dey (1982) indicam *Bacillus firmus*, *Aspergillus fumigatus* e *A. candidus* como espécies celulolíticas e solubilizadoras de fosfato.



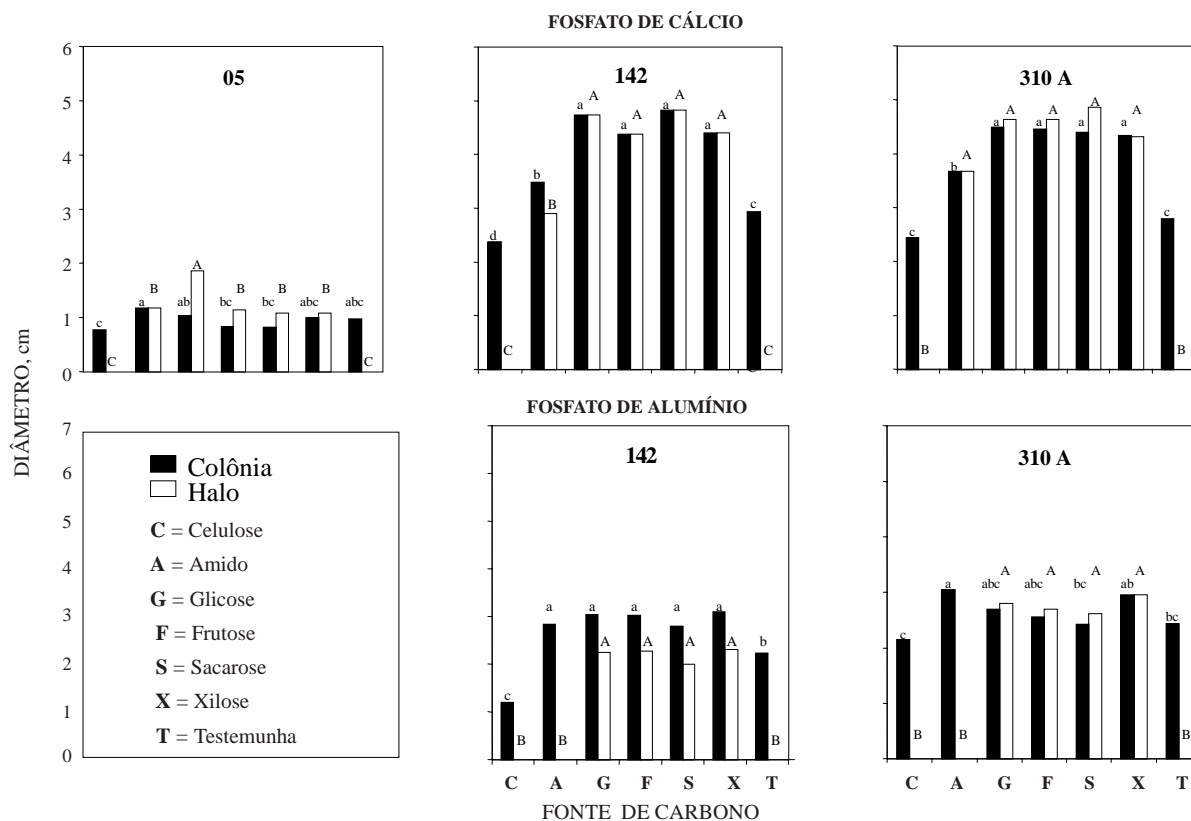
**Figura 2. Efeito de fontes de carbono no crescimento e na capacidade de solubilizar fosfato de cálcio dos isolados 85, 86, 154, 238, 250, 263, 264, 293, 297, 303 e 310 B. Letras minúsculas e maiúsculas comparam em cada isolado o diâmetro de colônia e da área solubilizada, respectivamente, pelo teste de Tukey a 5%.**

Cinco isolados (85, 238, 263, 264 e 293) foram bem restritos quanto à fonte de carbono que pode levar à produção de substâncias solubilizadoras (Figura 2). Eles só solubilizaram fosfato de cálcio quando havia apenas glicose no meio, sendo incapazes de solubilizar outros fosfatos. Resultados semelhantes foram apresentados por Wenzel et al. (1994).

Os demais isolados solubilizaram o fosfato de cálcio, usando outros açúcares além da glicose como fontes de carbono na produção de substâncias solubilizadoras. O isolado 303 solubilizou na presença de glicose, frutose e sacarose, enquanto 85, 154, 250, 297 e 310 B solubilizaram nas quatro fontes de açúcares testados (xilose, glicose, frutose e sacarose). Três isolados (05, 142 e 310 A), além dos açúcares simples, solubilizaram o fosfato de cálcio no meio com amido (Figura 3). Apesar da baixa especificidade quanto à fonte de carbono utilizada na solubilização, estes isolados apresentaram comportamentos distintos. No isolado 142 (Figura 3), verificou-se que não houve diferenças no crescimento e na solubilização conforme os tipos de açúcares e a relação foi de 1. Por outro lado, nos isolados 303, 86, 154, 250, 310 B e 05, o potencial de solubilização expresso em diâmetro do halo ou pela relação halo/

colônia foi maior na presença de glicose; no isolado 154, a relação halo/colônia foi superior na presença de sacarose e xilose; no isolado 297, tanto o halo quanto a relação foram maiores na frutose e, no 310 A, a relação foi maior na sacarose. Tais diferenças foram estatisticamente significativas. Observou-se ainda que as quantidades solubilizadas na presença de amido foram significativamente inferiores às observadas na presença de açúcares (Figura 3).

Além do fosfato de cálcio, os isolados 142 e 310 A (Figura 3) solubilizaram o fosfato de alumínio em meio com os quatro açúcares simples. A falta de solubilização na presença de amido pode ser devida à menor produção da substância solubilizadora como se observou com o fosfato de cálcio. Nos dois isolados, o crescimento e a área solubilizada na presença de açúcares simples foram inferiores no fosfato de alumínio, assim como a relação halo/colônia no isolado 142. No entanto, quando se analisa o comportamento nas fontes carbonadas, verifica-se que ele foi o mesmo do fosfato de cálcio. Isto indica, mais uma vez, que, para o isolado 142, independentemente da fonte, ocorre o mesmo mecanismo; ao contrário do 310 A, em que há indícios de ocorrência de processos distintos.



**Figura 3. Efeito de fontes de carbono no crescimento e na capacidade de solubilizar fosfato de cálcio e alumínio dos isolados 05, 142 e 310 A. Letras minúsculas e maiúscula comparam em cada isolado e fosfato o diâmetro de colônia e da área solubilizada, respectivamente, pelo teste de Tukey a 5%.**

Diferentes comportamentos quanto às fontes de carbono também têm sido encontrados na literatura. Cerezine et al. (1988) obtiveram variações na solubilização e no crescimento de *Aspergillus niger*. O crescimento foi maior em meio com glicose, sacarose e amido. A frutose apresentou valor intermediário e a xilose o menor. A capacidade para solubilizar na presença de amido foi inferior à apresentada pelos açúcares simples. Entre estes, a maior quantidade solubilizada ocorreu na utilização da frutose.

A utilização de determinada fonte carbonada depende da existência de enzimas específicas capazes de desdobrarem, externamente ou internamente, a substância, de mecanismos de transporte e de vias metabólicas para a sua utilização (Pelczar et al., 1980; Bier, 1990; Neidhardt et al., 1990; Griffin, 1994). Diferentes combinações desses sistemas podem levar à produção de substâncias qualitativa e quantitativamente distintas afetando a solubilização.

Diferenças na capacidade e no potencial de solubilização apresentada pelos isolados nas diferentes fontes de fósforo e de carbono mostram que alterações nas condições do meio podem modificar o mecanismo envolvido e, ou, a eficiência do processo de solubilização do fosfato.

## CONCLUSÕES

1. O crescimento, a capacidade e o potencial de solubilização dos microrganismos variaram tanto entre quanto dentro das fontes de fosfatos. Dos 57 isolados testados, nenhum solubilizou fosfato de ferro, cinco solubilizaram fosfato de alumínio e 56 o fosfato de cálcio.

2. As maiores colônias e halos foram observados nos isolados de *Rhizopus* e *Aspergillus* e as maiores relações halo/colônias foram encontradas em *Paecilomyces* e *Penicillium*.

3. A atividade solubilizadora depende da presença de fontes carbonadas no meio GEL, destacando-se as formas simples, particularmente a glicose.

## LITERATURA CITADA

- AGNIHOTRI, V.P. Solubilization of insoluble phosphates by some soil fungi isolated from nursery seedbeds. *Can. J. Microbiol.*, 16:877-880, 1970.
- ALEXANDER, M. *Introducción a la microbiología de suelo*. México, Libros y Editoriales, 1980. 491p.
- ARORA, D. & GAUR, A.C. Microbial solubilization of different inorganic phosphates. *Ind. J. Exp. Biol.*, 17:1258-1261, 1979.
- BANIK, S. & DEY, B.K. Available phosphate content of an Alluvial soil as influenced by inoculation of some isolated phosphate-solubilizing microorganisms. *Plant Soil*, 69:353-364, 1982.
- BIER, O. *Microbiologia e imunologia*. São Paulo, Melhoramentos, 1990. 1234p.
- CARVALHO, P.C.T.; EIRA, A.F. & PELLEGRINO, D. Solubilização quantitativa de fosfatos insolúveis, por algumas espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. *An. ESALQ*, 26:173-185, 1969.
- CEREZINE, P.C.; NAHAS, E. & BANZATTO, D.A. Soluble phosphate accumulation by *Aspergillus niger* from fluorapatite. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 29:501-505, 1988.
- CHABOT, R.; ANTOUN, H. & CESCAS, M.P. Stimulation de la croissance du maïs et de la laitue romaine par des microorganismes dissolvant le phosphore inorganique. *Can. J. Microbiol.*, 39:941-947, 1993.
- CHHONKAR, P.K. & SUBBA RAO, N.S. Phosphate solubilization by fungi associated with legume root nodules. *Can. J. Microbiol.*, 13:749-753, 1967.
- DOYLE, L.M.G.; SCHARF, R. & SILVA FILHO, G.N. Avaliação da população e do potencial de microrganismos solubilizadores de fosfatos de solos cultivados com fruteiras temperadas em Santa Catarina. *Biotemas*, 2:59-76, 1990.
- DUFF, R.B.; WEBLEY, D.M. & SCOTT, R.O. Solubilization of minerals and related materials by 2-ketogluconic acid-producing bacteria. *Soil Sci.*, 95:105-114, 1963.
- GRIFFIN, D.H. *Fungal physiology*. 2.ed. New York, Wiley-Liss, 1994. 458p.
- ILLMER, P. & SCHINNER, F. Solubilization of inorganic calcium phosphates-solubilization mechanisms. *Soil Biol. Biochem.*, 27:257-263, 1995.
- ILLMER, P.; BARBATO, A. & SCHINNER, F. Solubilization of hardly-soluble  $AlPO_4$  with P-solubilizing microorganisms. *Soil Biol. Biochem.*, 27:265-270, 1995.
- KEYSER, H.H. & MUNNS, D.N. Tolerance of rhizobia to acidity, aluminum and phosphate. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 43:519-523, 1979.
- KUCEY, R.M.N. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. *Can. J. Soil Sci.*, 63:671-678, 1983.
- KUCEY, R.M.N. Increased phosphorus uptake by wheat and field beans inoculated with a phosphorus-solubilizing *Penicillium biliji* strain and with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53:2699-2703, 1987.
- LAPEYRIE, F.; RANGER, J. & VAIRELLES, D. Phosphate solubilizing activity of ectomycorrhizal fungi *in vitro*. *Can. J. Bot.*, 69:342-346, 1991.
- LOUW, H.A. & WEBLEY, D.M. A study of soil bacteria dissolving certain mineral phosphate fertilizers and related compounds. *J. Appl. Bact.*, 22:227-233, 1959.
- NAHAS, E. Factors determining rock phosphate solubilization by microorganisms isolated from soil. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 12:567-572, 1996.
- NEIDHARDT, F.C.; INGRAHAM, J.L. & SCHAECHTER, M. *Physiology of the bacterial cell - A molecular approach*. Sunderland, Sinauer Associates, 1990. 507p.
- PELCZAR, M.; REID, R. & CHAN, E.C.S. *Microbiologia*. São Paulo, McGraw-Hill do Brasil., 1980. 566p.
- RAIJ, B. van. *Fertilidade do solo e adubação*. São Paulo, Ceres, 1991. 343p.
- RALSTON, D.B. & Mc BRIDE, R.P. Interaction of mineral phosphate-dissolving microbes with red pine seedlings. *Plant Soil*, 45:493-507, 1976.



- RIEDER, J.H. Destinação racional dos jazimentos fosfáticos nacionais. In: ENCONTRO NACIONAL DE ROCHAS FOSFATADAS, 3., Brasília, 1986. Anais. Brasília, IBRAFOS, 1986. p.139-170.
- SILVA FILHO, G.N. Solubilização de fosfatos pela microbiota do solo. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1998. 140 p. (Tese de Doutorado)
- SYLVESTER-BRADLEY, R.; ASAKAWA, N.; LA TORRACA, S.; MAGALHÃES, F.M.M.; OLIVEIRA, L.A. & PEREIRA, R.M. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfatos na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. Acta Amazon., 12:15-22, 1982.
- TAHA, S.M.; MAHMOUD, S.A.Z.; HALIM EL-DAMATY, A. & ABD EL-HAFEZ, A.M. Activity of phosphate-dissolving bacteria in Egyptian soils. Plant Soil, 31:149-159, 1969.
- TORO, M.; AZCÓN, R. & HERRERA, R. Effects on yield and nutrition of mycorrhizal and nodulated *Pueraria phaseoloides* exerted by P-solubilizing rhizobacteria. Biol. Fertil. Soils, 21:23-29, 1996.
- WENZEL, C.L.; ASHFORD, A.E. & SUMMERELL, B.A. Phosphate-solubilizing bacteria associated with proteoid roots of seedlings of waratah. [*Telopea speciosissima* (Sm.) R. Br.] New Phytol., 128:487-496, 1994.

