

RESPOSTA À INOCULAÇÃO DE FUNGO SOLUBILIZADOR DE FÓSFORO EM MILHO¹

E. NAHAS

Departamento de Microbiologia - FACVJ/UNESP, C.P. 245 - CEP: 14870-000 - Jaboticabal, SP

D. J. FORNASIERI

Departamento de Fítotecnia - FACVJ/UNESP, C.P. 245 - CEP: 14870-000 - Jaboticabal, SP

L. C. ASSIS

Departamento de Microbiologia - FACVJ/UNESP, C.P. 245 - CEP: 14870-000 - Jaboticabal, SP

RESUMO: Este trabalho procurou verificar o efeito da adição de duas fontes de fosfato prontamente disponíveis, superfosfato triplo e fosfato solubilizado obtido por via microbiológica e uma fonte não prontamente disponível, apatita de Araxá, na cultura do milho. Em adição, foi verificado o efeito da inoculação do fungo *Aspergillus niger*, solubilizador de fosfato de rocha e da adição de matéria orgânica. Nos tratamentos em que se usou matéria orgânica, houve um aumento de população microbiana total do solo, mas nenhum efeito foi observado na produção e absorção de fósforo pela cultura do milho. Tanto o superfosfato triplo como a apatita de Araxá permitiram resultados mais favoráveis em termos de produção de massa seca e absorção de fósforo pelo milho em relação ao controle (sem fósforo) e à utilização de fosfato solubilizado. Também não se constatou efeito da inoculação de *A. niger* sobre a solubilização do fosfato de rocha, possivelmente devido à interferência dos microrganismos naturais do solo. O número de microrganismos e a atividade da fosfatase ácida foram menores no solo fertilizado com superfosfato triplo que com apatita de Araxá.

Descritores: solubilização de fosfato de rocha, *Aspergillus niger*, milho

MAIZE RESPONSE TO INOCULATION WITH P-SOLUBILIZING FUNGUS

ABSTRACT: This paper examined the effect of the addition of two sources of readily available phosphate, triple superphosphate and microbiologically solubilized phosphate, and of a not readily available source, Araxá apatite, on maize crop. In addition, the effects of inoculation of *Aspergillus niger*, a fungus that solubilizes rock phosphate, and of the addition of organic matter were examined. When organic matter was used, the total microbial population increased, but no effect was observed on phosphorus production or uptake by the maize crop. Both the triple superphosphate and Araxá apatite enhanced the production of dry matter and phosphorus uptake by maize as compared to the control (no phosphorus) and to microbiologically solubilized phosphate. Also, inoculation of *A. niger* had no effect on rock phosphate solubilization, possibly due to the interference of the natural microorganisms of the soil. The number of microorganisms and acid phosphatase activity were lower in the soil fertilized with triple superphosphate than in the soil fertilized with rock phosphate.

Key Words: rock phosphate solubilization, *Aspergillus niger*, maize

INTRODUÇÃO

A transformação do fosfato insolúvel, mineral ou orgânico, através dos processos de solubilização ou mineralização, é já conhecida há longo tempo (GERRETSEN, 1948). O processo de solubilização ocorre graças à produção de ácidos orgânicos tanto pelas raízes das plantas

(HOFFLAND *et al.*, 1989), mas, principalmente, por microrganismos do solo que atuam diretamente na dissolução do fósforo ou pela ação quelante sobre os cátions liberando fosfatos solúveis (SPERBER, 1958 e CEREZINE *et al.* 1988) além de suas necessidades, que podem ser aproveitados pelas plantas. Contudo, os microrganismos heterotróficos solubilizadores

¹ Trabalho realizado com recursos da FAPESP

dependem de uma fonte de carbono e energia para a realização desse processo (NAHAS *et al.*, 1994b).

Dependendo do tipo de solo, o número de solubilizadores varia 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). Da população total de solubilizadores encontrados no solo, algumas espécies tem revelado maior habilidade na dissolução de fosfatos insolúveis (ARORA & GAUR, 1979). A atividade dos solubilizadores foi comprovada em solo deficiente em fósforo ao qual foi adicionado fosfato de cálcio ou fosfato solúvel, obtendo-se um crescimento igual ou superior com o mineral insolúvel em plantas de *Pinus* graças à inoculação microbiana (RALSTON & McBRIDE, 1976). Resultados significativos também foram obtidos pela inoculação de *Pseudomonas striata* e *Aspergillus awamori* em culturas de gramíneas adicionadas de fosfato de rocha (GAUR *et al.* 1980). O efeito da inoculação de *Penicillium* sp. foi mais efetivo em aumentar a disponibilidade de fósforo que *Aspergillus foetidus* em solo tratado com fosfato de rocha ou superfosfato triplo, havendo, ainda, melhor resposta à inoculação em termos de matéria seca e captação de fósforo quando foi utilizado o fosfato de rocha (SALIH, 1989).

Objetivou-se nesse trabalho comparar o efeito da inoculação de microrganismo solubilizador de fosfato de rocha com a da aplicação de fosfato solúvel sobre a produção e absorção de fósforo pela cultura de milho. Paralelamente, verificou-se o efeito da adição de matéria orgânica nesses sistemas.

MATERIAL E MÉTODOS

Solo - foi utilizado um Latossolo Vermelho-Escuro, classe textural franco argilo arenosa, proveniente da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal - UNESP, com características de baixo conteúdo de fósforo (TABELA 1).

Fosfato de rocha - foi utilizada a apatita de Araxá, que pertence ao grupo das fluorapatitas, apresentando a fórmula $3Ca_3(PO_4)_2 \cdot CaF_2$, baixa solubilidade em água e lenta assimilação.

Inóculo - foi utilizado o fungo *Aspergillus niger* linhagem n° 26. A obtenção dos esporos e a sua padronização foi descrita anteriormente (CEREZINE *et al.* 1988). O fungo foi desenvolvi-

do em tubos de ensaio contendo meio de BDA (batata-dextrose-agar), por 7 dias a 30°C. Após raspagem dos esporos, obteve-se uma suspensão contendo $1,6 \times 10^8$ /ml. Foram aplicados 17ml dessa suspensão por vaso, 14 dias após a semeadura.

TABELA 1 - Características do solo Latossol Vermelho-Escuro*.

Características	Conteúdo
Matéria orgânica	1,9%
P	12µg/ml
K ⁺	0,08 meq/100 cm ³
Ca ²⁺	1,7 meq/100 cm ³
Mg ²⁺	0,5 meq/100 cm ³
H ⁺ + Al ³⁺	2,5 meq/100 cm ³
SB	2,28 meq/100 cm ³
T	4,78 meq/100 cm ³
V	48%
pH em CaCl ₂	5,0

* Análise realizada pelo Laboratório de Fertilidade do Solo-FCAVJ/UNESP

Casa de Vegetação - além da adubação com N, K e Zn, foi aplicado fósforo como fosfato solúvel (superfosfato triplo), fósforo como fosfato de rocha (apatita de Araxá) e fósforo solubilizado previamente por *A. niger*, além do controle (sem fósforo).

As quantidades de nutrientes aplicadas foram as seguintes, por ha: N - 15kg no plantio e 80kg em cobertura, em 2 doses iguais de 40kg, aos 30 e 50 dias após a emergência das plântulas; P₂O₅ - 200kg (superfosfato triplo, apatita de Araxá ou fosfato solubilizado por via microbiológica) ou 100kg (superfosfato triplo); K₂O - 180kg; Zn - 5kg; matéria orgânica (palha de milho moída) - 5t e fosfato solubilizado previamente - 180ml/l de solo. Para obtenção do fosfato solubilizado, vinhaça não esterilizada foi adicionada na base de 5g/l de fluorapatita e inoculada com *A. niger* (NAHAS *et al.* 1990). Após incubação por 9d, o meio de cultura foi filtrado e esterilizado em autoclave. O filtrado apresentou uma concentração de 74,4µg/ml de fosfato.

Todos os fertilizantes e a palha foram adicionados 1 mês antes da semeadura, exceto o fosfato solubilizado que foi aplicado aos 40 dias após a semeadura.

A terra foi acondicionada em vasilhames com 6 litros de capacidade e os ensaios conduzidos em casa de vegetação. O teor de umidade foi de

50% da capacidade de campo, favorável para o crescimento dos microrganismos.

Semeadura - após a aplicação dos adubos, o solo foi mantido por 6 dias para alcançar o equilíbrio hídrico e a seguir foi feita a semeadura utilizando-se 6 sementes/vaso da variedade IAC Maya de milho (*Zea mays* L), adaptada para solos ácidos. Uma semana após a emergência, foi feito o desbaste, deixando-se 2 plantas/vaso. O cultivo foi feito por 70 dias.

Contagem microbiana - para contagem do número total de bactérias, foi utilizado o meio de BUNT & ROVIRA (1955) pH 7,4 e para contagem do número total de fungos, o meio de MARTIN (1950), pH 5,5, acrescido de 70µg/ml de rosa de bengala e 0,1g/l de uma mistura das antibióticos penicilina e estreptomicina. A incubação das culturas foi feita a 30°C por 2 dias (bactérias) ou 3 dias (fungos).

Atividade das fosfatases ácida e alcalina - utilizou-se o procedimento de TABATABAI & BREMNER (1969), exceto que a concentração do substrato foi 30mM e os tampões utilizados foram, respectivamente, acetato 0,1M pH 5,4 e glicina 0,3M pH 9,0. Uma unidade de atividade enzimática correspondeu à quantidade de enzima que produz 1,0µg de p-nitrofenol/min. A atividade específica é dada em µg de p-nitrofenol liberado por hora em 1g de solo.

Análises químicas do solo - o fósforo total foi determinado pelo método de SOMMERS & NELSON (1972) e o fósforo orgânico pelo método de ignição (SAUNDERS & WILLIAMS, 1955). O fósforo disponível, determinado pelo método da resina, e as outras análises basearam-se em RAIJ *et al.* (1987).

Análises nas plantas - Raízes e parte aérea foram secos em estufa com circulação forçada de ar, a temperatura de 60°C, até peso constante. As análises de fósforo basearam-se em SARRUGE & HAAG (1972).

Delineamento experimental e análise estatística - utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado com 4 repetições e 4 réplicas para as contagens microbianas. A comparação entre médias dos tratamentos foi feita pelo teste de Tukey a 5%. A análise estatística baseou-se em PIMENTEL GOMES (1966).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este trabalho demonstrou o efeito da utilização de duas fontes de fosfato prontamente assimiláveis (superfosfato triplo e fosfato solubilizado, obtido previamente pela dissolução da fluorapatita pelo fungo *Aspergillus niger*) e uma fonte constituída por fosfato de rocha (Apatita de Araxá) na cultura do milho. Além do mais, foi verificado o efeito da inoculação de *A. niger* no solo sobre a solubilização da apatita de Araxá e a adição de matéria orgânica na forma de palha de milho, como fonte de carbono.

Os dados apresentados na TABELA 2 resumem os resultados referentes à contagem microbiana de solo cultivado com milho, fertilizado com diferentes fontes de fósforo, na presença e ausência de matéria orgânica. Tanto bactérias como fungos foram favorecidos pela presença de matéria orgânica, porquanto as maiores contagens de microrganismos referiram-se aos tratamentos em que se adicionou palha de milho no solo. Na presença de matéria orgânica, maior número de bactérias foi verificado nos solos adicionados de fosfatos prontamente assimiláveis que naqueles adicionados de fosfato de rocha. O maior número de fungos foi verificado no solo adicionado de fosfato de rocha e inoculado com *A. niger*. Por sinal, este fungo predominou nos tratamentos em que foi inoculado no solo. Na ausência de matéria orgânica, o maior número de microrganismos ocorreu nos solos adicionados de fosfato solubilizado (bactérias) ou na ausência de fósforo (fungos). A adição de superfosfato ao solo desfavoreceu significativamente as contagens de bactérias e fungos, numa proporção menor em que esse fertilizante foi adicionado na metade da dosagem. Os números de microrganismos encontrados se aproximam aos encontrados por NUERNBERG *et al.* (1984) contudo foram bem inferiores aos obtidos por CATTELAN & VIDOR (1990) em podzol vermelho-amarelo. A adição de matéria orgânica favoreceu o crescimento microbiano, mostrando maior número de microrganismos que nos solos não adicionados de palha de milho. Confirmando resultados anteriores (NAHAS & ASSIS, 1991), nos solos adicionados de superfosfato, constatou-se menor número de microrganismos, da mesma forma nos solos inoculados com *A. niger*, houve predominância deste fungo nas contagens dos totais de fungos. A diminuição do número de microrganismos nos solos adubados com superfosfato pode ser uma resposta

à presença de cádmio nesse adubo (WILLIAMS & DAVID, 1976).

TABELA 2 - Bactérias e fungos de solo cultivado com milho e submetido a diversas fontes de fósforo.

Fontes de fósforo	Bactérias (N°x10 ⁶)	Fungos (N°x10 ⁶)
Superfosfato triplo ^a	28,25	26,71
Superfosfatotriplo-MO ^b	45,17	133,69
Superfosfatotriplo 1/2 ^c	36,50	35,92
Superfosfatotriplo 1/2-MO	30,16	73,18
Fosfato de rocha	34,84	45,93
Fosfato de rocha-MO	40,79	99,03
Fosfato de rocha- <i>A.niger</i>	35,04	40,44
Fosfato de rocha- <i>A.niger</i> -MO	42,82	217,94
Fosfato solubilizado	38,95	36,78
Fosfato solubilizado-MO	50,41	100,75
Sem fósforo	37,10	82,87
Sem fósforo-MO	28,65	71,57
Teste F	26,66**	30,81**
CV (%)	1,30	2,64
DMS Tukey (P=0,05)	0,49	0,72

^a - Superfosfato triplo, 200kg P₂O₅/ha

^b - MO, matéria orgânica

^c - Superfosfato triplo 1/2, 100kg P₂O₅/ha

** - Significativo (P < 0,01)

O efeito de diferentes fontes de fertilizantes fosfatados sobre a absorção de fósforo e produção de massa seca pode ser apreciado na TABELA 3. A maior quantidade de fósforo (106,2mg/vaso) foi observada nas plantas cultivadas em solo adicionado de superfosfato triplo. Contudo, essa quantidade não foi diferente da absorvida pelas plantas cultivadas em solo tratado com fosfato de rocha ou superfosfato triplo e matéria orgânica, mas foi significativamente superior aos outros tratamentos. Menor teor de fósforo foi absorvido nas plantas cultivadas na ausência de uma fonte de fósforo ou na presença de fosfato solubilizado. Ainda, menor resposta pode ser constatada nos tratamentos onde foi adicionada palha de milho como fonte de matéria orgânica que aqueles onde não foi adicionada, embora sem diferença estatística. Da mesma forma, não se obteve um efeito diferenciado pela inoculação do fungo *A. niger* no solo adicionado de apatita de Araxá na

produção de massa seca e absorção de fósforo, à semelhança dos resultados obtidos por LEE & BAGYARAJ (1986).

TABELA 3 - Produção de massa seca e absorção de fósforo em milho cultivado em diversas fontes de fósforo.

Fontes de fósforo ¹	Massa seca (g/vaso)	Fósforo (mg P/vaso)
Superfosfato triplo	98,31	106,20
Superfosfato triplo-M	70,81	81,15
Superfosfato triplo-1/2	72,08	74,15
Superfosfato triplo-1/2-MO	71,81	71,44
Fosfato de rocha	89,18	99,70
Fosfato de rocha-MO	84,91	64,46
Fosfato de rocha- <i>A.niger</i>	88,65	74,18
Fosfato de rocha- <i>A.niger</i> -MO	83,97	77,14
Fosfato solubilizado	62,91	44,52
Fosfato solubilizado-MO	48,56	36,52
Sem fósforo	62,49	45,91
Sem fósforo-MO	52,86	45,40
Teste F	7,68**	15,16**
CV (%)	15,21	15,93
DMS Tukey (P=0,05)	27,61	27,10

¹ ver TABELA 2

** - significativo (P < 0,01)

Na TABELA 4, foram reunidos os dados referentes ao fósforo disponível (P disponível), fósforo orgânico (P orgânico) e fósforo total (P total) encontrados no solo logo após a colheita das plantas de milho. Com relação ao P disponível, os maiores valores foram encontrados nos tratamentos adicionados de fosfato de rocha e dentre esses quando se adicionou palha de milho ou se inoculou o solo com o fungo *Aspergillus niger*. Em seguida, vem os resultados da fertilização com superfosfato triplo, que diferiram significativamente do solo adicionado de fosfato de rocha e matéria orgânica e, em último, os tratamentos controle e fosfato solubilizado. Embora não diferindo estatisticamente, pode se constatar que houve influência da adição de matéria orgânica ou de *A. niger* aos solos com fosfato de rocha. Os maiores valores de P orgânico podem ser verificados nos tratamentos com fosfato solubilizado e controle, assim como os menores valores de P total.

A utilização de fosfato solubilizado apresentou, de modo geral, uma resposta

semelhante ao controle (sem adição de P). Esse tipo de resultado foi inesperado por quanto em trabalho anterior (NAHAS & ASSIS, 1991) foram obtidos valores de fosfato disponível semelhantes aos do superfosfato triplo. Da mesma forma, a adição de palha de milho não favoreceu a solubilização e nem o teor de fósforo no solo, provavelmente devido a sua lenta decomposição (MINHONI *et al.*, 1991). Em adição, considerando-se as quantidades absorvidas pelas plantas e a remanescente, aproximadamente 70% do fósforo aplicado foi fixado.

TABELA 4 - Fósforo residual em solo cultivado com milho e fertilizado com diferentes fontes de fosfato.

Fontes de fósforo ¹	P		
	Disponível ($\mu\text{g/ml}$)	Orgânico ($\mu\text{g P/g}$)	Total ($\mu\text{g P/g}$)
Superfosfato triplo	9,00	26,43	235,06
Superfosfato triplo-MO	9,00	33,11	254,20
Superfosfato triplo-1/2	5,00	31,49	222,79
Superfosfato triplo-1/2-MO	5,50	31,27	220,34
Fosfato de rocha	10,50	23,07	227,21
Fosfato de rocha-MO	12,50	23,81	240,46
Fosfato de rocha- <i>A.niger</i>	11,00	24,97	239,97
Fosf. de rocha- <i>A.niger</i> -MO	11,50	19,59	243,90
Fosfato solubilizado	3,22	31,48	213,65
Fosfato solubilizado-MO	3,50	38,41	196,30
Sem fósforo	2,00	35,01	198,74
Sem fósforo-MO	4,25	34,47	198,26
Teste F	32,25**	26,74**	91,43**
CV (%)	17,09	11,11	4,60
DMS Tukey (P=0,05)	3,13	7,71	24,39

¹ ver TABELA 2

** - significativo (P < 0,01)

A TABELA 5 mostra que os resultados da atividade da fosfatase ácida foram bem superiores aos da fosfatase alcalina. A maior atividade foi constatada nos solos adicionados de fosfato de rocha e em seguida nos tratamentos adicionados de matéria orgânica. Confirmando ROJO *et al.* (1990), constatou-se predominância da atividade da fosfatase ácida sobre a fosfatase alcalina, possivelmente devido ao índice de pH ácido do solo utilizado neste trabalho. A maior atividade das fosfatases nos solos adicionados de fosfato de rocha e matéria orgânica pode ser decorrente, respectivamente, da inibição da atividade enzimática em presença de fosfato solúvel (NAHAS

& ASSIS, 1992,) ou do efeito da adição de uma fonte de fosfato orgânico não disponível (NAHAS *et al.* 1982) ou, ainda, do efeito do cádmio proveniente do superfosfato (JUMA & TABATABAI, 1977).

TABELA 5 - Atividade das fosfatases ácida e alcalina em solo cultivado com milho e adubado com diferentes fontes de fósforo.

Fontes de fósforo ¹	Fosfatase ácida ($\mu\text{g PNF}^+ / \text{h} \cdot \text{g solo}$)	Fosfatase alcalina
Superfosfato triplo	231,18	105,41
Superfosfato triplo-MO	284,02	99,74
Superfosfato triplo-1/2	277,06	62,89
Superfosfato triplo-1/2-MO	235,82	93,30
Fosfato de rocha	324,74	148,45
Fosfato de rocha-MO	306,18	36,08
Fosfato de rocha- <i>A.niger</i>	462,11	128,87
Fosf. de rocha- <i>A.niger</i> -MO	291,49	45,62
Fosfato solubilizado	318,81	109,54
Fosfato solubilizado-MO	213,40	97,43
Sem fósforo	320,10	37,11
Sem fósforo-MO	259,79	77,06
Teste F	29,27**	17,31**
CV (%)	11,06	19,55
DMS Tukey (P=0,05)	76,82	41,65

¹ ver TABELA 2

+ - p-nitrofenol

** - significativo (P < 0,01)

Os dados da TABELA 6 mostram que as bactérias sofreram a influência de todos os parâmetros do solo, exceto P disponível enquanto que os fungos foram dependentes dos teores de P orgânico e P total. A atividade da fosfatase ácida foi dependente da população microbiana mas não a fosfatase alcalina. O P disponível não se correlacionou com nenhuma das variáveis analisadas. A atividade da fosfatase ácida foi dependente dos teores de P orgânico e P total. A inclusão de fosfato de rocha em solo cultivado com tomateiro aumentou a população bacteriana solubilizadora de fosfato bicálcico (MACHADO *et al.* 1983). Esse tipo de efeito pode ter ocorrido nos solos fertilizados com apatita de Araxá, não se constatando, portanto, diferença com os solos inoculados com *A. niger*.

TABELA 6 - Correlação entre os parâmetros químicos e biológicos de solo cultivado com milho.

Parâmetros do solo	Bactérias	Fungos	Fosfatase ácida	Fosfatase alcalina
P disponível	-0,06 ^{NS}	0,04 ^{NS}	0,19 ^{NS}	0,08 ^{NS}
P orgânico	0,65 ^{**}	0,46 ^{**}	0,28 [*]	0,08 ^{NS}
P total	0,81 ^{**}	0,62 ^{**}	0,65 ^{**}	0,14 ^{NS}
Fosfatase alcalina	0,08 ^{NS}	-0,25 ^{NS}	0,24 ^{NS}	-
Fosfatase ácida	0,57 ^{**}	0,33 [*]	-	-

^{NS} - Não significativo

^{*} - Significativo (P < 0,05)

^{**} - Significativo (P < 0,01)

CONCLUSÕES

Não foi constatado efeito da inoculação de *A. niger* ou da adubação com matéria orgânica na dissolução de fluorapatita. Tanto superfosfato triplo como fosfato de rocha proporcionaram a mesma produção de massa seca e absorção de fósforo pela cultura de milho, porém, em níveis superiores ao controle. Nos tratamentos em que foi adicionada matéria orgânica houve um aumento do número de bactérias e fungos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARORA, D.; GAUR, A. C. Microbial solubilization of different inorganic phosphates. *Indian Journal Experimental Biology*, New Delhi, v.17, p.1258-1261, 1979.
- BUNT, J.S.; ROVIRA, A.D. Microbiological studies of some subantarctic soils. *Journal of Soil Science*, Oxford, v.6, p.119-128, 1955.
- CATTELAN, A.J.; VIDOR, C. Flutuações na biomassa, atividade e população microbiana do solo, em função de variações ambientais. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v.14, p.133-141, 1990.
- CEREZINE, P.C.; NAHAS, E.; BANZATTO, D.A. Soluble phosphate accumulation by *Aspergillus niger* from fluorapatite. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Berlin, v.29, p.501-505, 1988.
- GAUR, A.C.; MATHUR, R.S.; SADASIVAM, K.V. Effect of organic materials and phosphate-dissolving culture on the yield of wheat and greengram. *Indian Journal Agronomy*, New Delhi, v.5, p.501-503, 1980.
- GERRETSEN, F.C. The influence of microorganisms on the phosphate uptake by the plant. *Plant and Soil*, The Hague, v.1, p.51-81, 1948.
- HOFFLAND, E.; FINDENEGG, G.R.; NELEMANS, J. A. Solubilization of rock phosphate by rape. I. Evaluation of the role of the nutrient uptake pattern. *Plant and Soil*, The Hague, v.113, p.155-160, 1989.
- JUMA, N. G.; TABATABAI, M.A. Effects of trace elements on phosphatase activity in soils. *Soil Science Society America Journal*, Madison, v.41, p.343-346, 1977.
- LEE, A.; BAGYARAJ, D.J. Effect of soil inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and either phosphate rock dissolving bacteria or thiobacilli on dry matter production and uptake of phosphorus by tomato plants. *New Zealand Journal Agricultural Research*, Wellington, v.29, p.525-531, 1986.
- MACHADO, J.O.; PICCIN, C.R.; BARBOSA, J.C.; NAHAS, E. Ação da vinhaça e fosfato natural sobre a população de bactérias solubilizadoras de fosfato bicálcico, habitantes da rizosfera de *Lycopersicon esculentum* (Mill.) cv "Petomech". *Cientifica*, Jaboticabal, v.11, p.63-69, 1983.
- MARTIN, J.P. Use of acid, rose bengal, and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Science*, Baltimore, v.69, p.215-232, 1950.
- MINHONI, M.T.A.; CARDOSO, E.J.B.N.; EIRA, A.F. Efeito de cinco tipos de matéria orgânica na solubilização microbiana de fosfato de rocha. *Revista Brasileira Ciência do Solo*, Campinas, v.15, p.29-35, 1991.
- NAHAS, E.; TERENCEZI, H.F.; ROSSI, A. 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*, Reading, v.128, p.2017-2021, 1982.
- NAHAS, E.; ASSIS, L.C. Efeito da adição ao solo de fosfato solúvel obtido por via microbiológica a partir de fluorapatita. *Revista Latino-americana de Microbiologia*, México, v.33, p.225-229, 1991.
- NAHAS, E.; ASSIS, L.C. Efeito da concentração de fosfato na solubilização de fluorapatita por *Aspergillus niger*. *Revista de Microbiologia*, São Paulo, v.23, p.37-42, 1992.
- NAHAS, E.; BANZATTO, D.A.; ASSIS, L.C. Fluorapatite solubilization by *Aspergillus niger* in vinasse medium. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.22, n.8, p.1097-1101, 1990.

- NAHAS, E.; CENTURION, J.F.; ASSIS, L. C. Efeito das características físicas e químicas dos solos sobre a população microbiana. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v.8, n.1, 1994a (no prelo).
- NAHAS, E.; CENTURION, J.F.; ASSIS, L.C. Microrganismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases de vários solos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v.18, n.1, 1994b (no prelo).
- NUERNBERG, N.J.; VIDOR, C.; STAMMEL, J.G. Efeito de sucessões e tipos de adubação na densidade populacional e atividade microbiana do solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v.8, p.197-203, 1984.
- PIMENTEL GOMES, F. Curso de estatística experimental. Piracicaba: ESALQ, 1966. 404p.
- RAIJ, B. van *et al.* Análise química do solo para fins de fertilidade. Campinas: Fundação Cargill, 1987. 170p.
- RALSTON, D.B.; Mc BRIDE, R.P. Interaction of mineral phosphate-dissolving microbes with red pine seedlings. *Plant and Soil*, The Hague, v.45, p.493-507, 1976.
- ROJO, M.J.; CARCEDO, S.G.; MATEOS, M.P. Distribution and characterization of phosphatase and organic phosphorus in soil fractions. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.22, p.169-174, 1990.
- SALIH, H. M. Availability of phosphorus in a calcareous soil treated with rock phosphate or superphosphate as affected by phosphate-dissolving fungi. *Plant and Soil*, The Hague, v.120, p.181-185, 1989.
- SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. Análises químicas em plantas. Piracicaba: ESALQ, 1972. 56p.
- SAUNDERS, W.M.H.; WILLIAMS, E.G. Observations on the determination of total organic phosphorus in soil. *Journal of the Soil Science*, Oxford, v. 6, p.254-267, 1955.
- SOMMERS, L.E.; NELSON, D.M. Determination of total phosphorus in soils: a rapid perchloric acid digestion procedure. *Soil Science of America Proceedings*, Madison, v.36, p.902-904, 1972.
- SPERBER, J.I. Solution of apatite by soil microorganisms producing organic acids. *Australian Journal of Agricultural Research*, Melbourne, v.9, p.782-787, 1958.
- TABATABAI, M.A.; BREMNER, J.M. Use of p-nitrophenylphosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.1, p.301-307, 1969.
- WILLIAMS, C.H.; DAVID, D.J. The accumulation in soil of cadmium residues from phosphate fertilizers and their effect on the cadmium content of plants. *Soil Science*, Baltimore, v.121, p.86-93, 1976.

Recebido para publicação em 20.01.94

Aceito para publicação de 10.03.94