

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

BERNARDO AMORIM DA SILVA

**AQUISIÇÃO DE FÓSFORO POR EUCALIPTO INOCULADO COM
*Aspergillus niger***

VIÇOSA – MINAS GERAIS

2020

BERNARDO AMORIM DA SILVA

**AQUISIÇÃO DE FÓSFORO POR EUCALIPTO INOCULADO COM
*Aspergillus niger***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Leonardus Vergütz

Coorientadores: Ivo Ribeiro da Silva

Maurício Dutra Costa

VIÇOSA – MINAS GERAIS

2020

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa

T

S586a
2020
Silva, Bernardo Amorim da, 1994-
Aquisição de fósforo por eucalipto inoculado com
Aspergillus niger / Bernardo Amorim da Silva. – Viçosa, MG,
2020.
35 f. : il. ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Leonardus Vergütz.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.31-33.

1. Eucalipto - Nutrição. 2. Rizosfera. 3. Plantas - Efeito do
fósforo. 4. Solos - Teor de fósforo. 5. Solos - Absorção.

I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Solos.

Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas.

II. Título.

CDD 22. ed. 631.8

BERNARDO AMORIM DA SILVA

**AQUISIÇÃO DE FÓSFORO POR EUCALIPTO INOCULADO COM
*Aspergillus niger***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 10 de junho de 2020.

Assentimento:



Bernardo Amorim da Silva

Autor



Leonardus Vergütz

Orientador

Dedico este trabalho: Aos meus pais, irmãos e demais familiares, amigos e colegas de trabalho.

“Se quer ir rápido, vá sozinho. Se quer ir longe, vá acompanhado” Provérbio Africano

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001

RESUMO

SILVA, Bernardo Amorim, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2020. **Aquisição de fósforo por eucalipto inoculado com *Aspergillus niger***. Orientador: Leonardus Vergütz. Coorientadores: Ivo Ribeiro da Silva e Maurício Dutra Costa.

O fósforo (P) é o nutriente mais limitante para a produção vegetal em solos tropicais. Nesse sentido, as plantas podem desenvolver estratégias diretas e indiretas, por meio de interações sinérgicas com os microrganismos do solo, para contornar a baixa disponibilidade de P. Compreender esses mecanismos é imprescindível para propor técnicas de manejo que visem à melhoria da eficiência de uso de P pelas plantas. Desta forma, o principal objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos dos níveis de suprimento de P e da inoculação de *Aspergillus niger* sobre a aquisição deste nutriente, crescimento e a produção de matéria seca de mudas de eucalipto. Para isso, foi realizado um experimento em casa de vegetação. Como unidades experimentais, foram utilizados vasos preenchidos com um Latossolo de textura franco-argilo-arenosa nos quais foram alocados anéis de PVC (2,5 x 5 cm de altura e diâmetro, respectivamente) contendo um Latossolo de textura muito argilosa. Os anéis foram vedados com membrana de nylon com poro de 5 µm de modo que o acesso ao solo do interior do anel pela planta ocorreria exclusivamente via exsudatos. O experimento foi conduzido em um esquema fatorial 2×2×2+2 com 4 repetições. Os tratamentos foram: i) níveis de suprimento de P (15 e 30 mg kg⁻¹ de P aplicados fora dos anéis); ii) inoculação do fungo (-As e +As); e iii) ausência/presença da planta (-E e +E). Além disso, foram instalados dois tratamentos adicionais com a presença de 15 mg kg⁻¹ de P fora dos anéis e 1000 mg kg⁻¹ de P dentro dos anéis sem e com a inoculação do fungo. Ao final do experimento foram determinados a massa de matéria seca de raízes, parte aérea e o teor total de P na planta. Os solos dos anéis foram seccionados em três distâncias paralelas ao plano de raízes (0 – 3; 3 – 6 e 6 – 9 mm). Foram determinados o pH e o conteúdo total de P no solo. A menor dose de P (15 mg kg⁻¹) limitou o desenvolvimento das plantas e, provavelmente, o acesso das raízes ao P

do anel. Na dose 30 mg kg^{-1} de P, a inoculação do fungo reduziu significativamente a produção de biomassa e o crescimento das mudas de eucalipto. É provável que tenha ocorrido competição por P entre planta e fungo na rizosfera. Além disso, as plantas não aumentaram a razão raiz/ parte como estratégia de aquisição de P. Nos tratamentos+P houve a tendência de o pH e conteúdo total de P serem maiores na camada de 0-3 mm em relação à camada de 6-9 mm. Provavelmente, o maior pH e conteúdo de P em solução do solo externo aos anéis afetou a camada de 0-3 mm dos anéis. Em suma, a inoculação de *Aspergillus niger* reduziu a aquisição de P, o crescimento e a produção de matéria seca por mudas de eucalipto no nível de suprimento externo de P de 30 mg kg^{-1} .

Palavras-chave: *Aspergillus niger*. Raízes de eucalipto. Adsorção de P. P total no solo.

ABSTRACT

SILVA, Bernardo Amorim, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2020. **Phosphorus acquisition by eucalyptus inoculated with *Aspergillus niger***. Adviser: Leonardus Vergütz. Co-advisers: Ivo Ribeiro da Silva and Maurício Dutra Costa.

Phosphorus (P) is the most limiting nutrient for plant production in tropical soils. In this sense, plants can develop direct and indirect strategies, through synergistic interactions with soil microorganisms, to overcome low availability of P. Understanding these mechanisms is essential to propose management techniques to improve the efficiency of use of P for plants. Thus, the main objective of this work was to evaluate the effects of P supply levels and *Aspergillus niger* inoculation on the acquisition of this nutrient, growth and dry matter production by eucalyptus seedlings. For this, an experiment was carried out in a greenhouse. As experimental units, we used pots filled with a sandy loam-clay soil, in which 8 PVC rings (2.5 x 5 cm in height and diameter) containing a clayey soil were allocated. These rings were sealed with a 5 µm pore nylon membrane so that access to the soil by the plant would occur exclusively via exudates. The experiment was conducted in a 2 × 2 × 2 + 2 factorial scheme with 4 replicates. The treatments were: i) P supply levels (15 and 30 mg kg⁻¹ of P applied outside the rings); ii) inoculation of the fungus (-As and + As); and iii) absence / presence of the plant (-E and + E). Two additional treatments were set up with and without inoculation of the fungus and received 15 mg kg⁻¹ of P in the external soil (outside the rings) and 1000 mg kg⁻¹ of P inside the rings. At the end of the experiment, we determined roots and shoot dry matter yield and their total P content. The soil within the rings was sectioned at three distances parallel to the root plane (0 - 3; 3 - 6 and 6 - 9 mm). Subsequently, soil pH and total P content in each section were determined. The lowest dose of P (15 mg kg⁻¹) limited the development of the plants and, probably, the access of the roots to the P inside of the ring. At the dose of 30 mg kg⁻¹ of P, inoculation of the fungus significantly reduced the production of biomass and the growth of eucalyptus seedlings. It is likely that there was competition for P between

plant and fungus in the rhizosphere. In addition, the plants did not increase the root / shoot ratio as a P acquisition strategy. In the +P treatments there was a tendency for the pH and total P content to be higher in the 0-3 mm layer compared to the 6-9 mm layer. Probably, the higher pH and the P content in solution of the soil outside the rings affected a 0-3 mm layer of the rings. In short, inoculation of *Aspergillus Niger* reduces the acquisition of P, growth and production of dry matter by eucalyptus seedlings at the level of external P supply of 30 mg kg⁻¹.

Keywords: *Aspergillus niger*. Eucalyptus roots. P adsorption. Total P in soil.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. MATERIAL E MÉTODOS	12
2.1. Instalação do experimento.....	12
2.2. Análises de solo	17
2.2.1. Teor total de P	17
2.2.2. pH em água	18
2.3. Crescimento e teor de P na planta.....	18
2.4. Análises estatísticas	19
3. RESULTADOS	19
3.1. Crescimento da planta	19
3.2. Matéria seca de raiz e parte aérea.....	21
3.3. Conteúdo de fósforo na raiz e parte aérea	23
3.4. Eficiência de translocação e utilização	24
3.5. pH do solo	25
3.6. Conteúdo de fósforo no solo dos anéis	26
4. DISCUSSÃO	27
4.1. Desenvolvimento do eucalipto	27
4.2. pH e conteúdo de P no solo	29
5. CONCLUSÕES	31
6. REFERÊNCIAS	31
MATERIAL SUPLEMENTAR	34

1. INTRODUÇÃO

O fósforo é o nutriente mais limitante para a produção vegetal em solos tropicais. Isso se deve à elevada afinidade das formas orgânicas, principalmente hexafosfato de inositol (NZIGUHEBA E BÜNEMANN, 2005), e inorgânicas (H_2PO_4^- e HPO_4^{2-}) pelos oxihidróxidos de Fe e Al. Nesses solos intensamente intemperizados, a disponibilidade de P é controlada por diversos processos físico-químicos. O principal processo, denominado quimissorção, ocorre pela formação de complexos de esfera interna por meio da troca de ligantes entre o ânion fosfato e a superfície dos óxidos. Essa primeira fase, normalmente mais rápida, é seguida de uma etapa mais lenta em que há a formação de nova ligação covalente e, conseqüentemente, formação do P não-lábil (NOVAIS et al., 2007). Com o tempo de contato pode ocorrer ainda difusão do P para o interior dos oxihidróxidos (BARROW, 1985), o que também reduz a disponibilidade de P para as plantas. Além disso, o P pode precipitar com formas iônicas de Fe, Al e Ca na solução ou na superfície dos oxihidróxidos e formar compostos de baixa solubilidade. Esses processos são generalizadamente denominados sorção devido à impossibilidade de diferenciá-los com uso de isotermas, principal método pelo qual se determina o “desaparecimento” de P em solução.

Conforme descrito acima, os solos tropicais apresentam forte “caráter dreno de P” em detrimento do “dreno planta” (NOVAIS et al., 2007). Dessa forma, as plantas podem utilizar estratégias diretas para a conversão de P não-lábil em P lábil. Compreender esses mecanismos é imprescindível para propor técnicas de manejo que visem à melhoria da eficiência de uso de P pelas plantas. A produção de raízes e conseqüente aumento da razão raiz/parte aérea é uma possível estratégia direta das plantas para aumentar o volume de solo explorado. Elas também exsudam compostos que podem promover a dessorção de P de fontes “pouco disponíveis”. A liberação de ácidos orgânicos, por exemplo, pode aumentar a disponibilidade de P na rizosfera (LAMBERS et al., 2015; LU et al., 2012) por meio da competição com os íons fosfato por sítios de adsorção. Ou ainda pela solubilização dos oxihidróxidos (IYAMUREMYE E DICK, 1996), o que reduz a superfície de adsorção. Contudo, alguns autores verificaram que a exsudação de ácidos

orgânicos não implica necessariamente maior aquisição de P pelas plantas (PANDEY et al., 2014; WANG et al., 2016). Por outro lado, as plantas podem liberar enzimas fosfatases que hidrolisam as formas orgânicas de P e liberam P inorgânico (LAMBERS et al., 2008; WANG et al., 2016). Vale ressaltar, entretanto, que na maioria dos estudos em que se avalia a atividade enzimática no solo não é possível determinar se elas são provenientes de plantas ou microrganismos que colonizam a rizosfera.

Além das estratégias diretas, as plantas podem também utilizar estratégias indiretas na aquisição de P, principalmente por meio de interações com a microbiota do solo. As plantas liberam diversos metabólitos primários e secundários na rizosfera (DAM E BOUWMEESTER, 2016) e criam relações simbióticas com os microrganismos (BADRI et al., 2009). Dessa forma, as plantas aumentariam a translocação de fotoassimilados para a rizosfera onde atuam os microrganismos que converteriam P não-lábil em P lábil (JARAMILLO et al., 2015). Andrino et al., (2019) observaram que na presença de fontes de baixa disponibilidade de P as plantas tendem a translocar mais fotoassimilados para os fungos na rizosfera. Neste estudo, o acesso às fontes de P foi limitado pela presença de membranas e, portanto, restrito a fungos micorrízicos. Assim, os autores verificaram que os microrganismos podem incrementar a aquisição de P pelas plantas. Neste contexto, faz-se necessário compreender a influência dos níveis de P no solo sobre as estratégias (diretas e indiretas) de aquisição de P por plantas.

Em estudos conduzidos in vitro, alguns autores observaram que isolados fúngicos de solo, com destaque para *Aspergillus niger*, apresentam elevada capacidade de solubilizar formas precipitadas de P (MASSENSINI et al. 2015; MENDES et al., 2014; NAHAS, 1996; SILVA FILHO et al., 2002). De acordo com MENDES et al.(2014) o mecanismo chave pelo qual esses fungos solubilizam P é pela liberação de ácidos orgânicos, principalmente o ácido oxálico. Entretanto, a presença de microrganismos competidores na rizosfera, bem como uma possível limitação nutricional, pode reduzir o potencial do *Aspergillus niger* em solubilizar fosfatos. Portanto, os efeitos da interação *Aspergillus niger* – planta sobre o aumento da liberação e aquisição de P pelas plantas são desconhecidos.

As estratégias de aquisição de P supracitadas são extremamente importantes em cultivos de eucalipto. É importante ressaltar que no Brasil as florestas de eucalipto normalmente estão implantadas em solos pobres e com alta capacidade de adsorver P. Aliado a isso, é comum a aplicação de doses mais baixas de P em relação aos cultivos anuais (GONÇALVES et al., 2008). Entretanto, têm-se verificado que essas plantas são altamente eficientes em absorver e retranslocar P (FIFE et al., 2008; SAUR et al., 2000) uma vez que o eucalipto absorve quantidades de P superiores àquelas preditas como disponíveis pelos extratores químicos. Isso sugere que essas plantas sejam eficientes em absorver formas de P pouco disponíveis.

Diante do exposto, informações que elucidam os mecanismos diretos e, indiretos de aquisição de P pelo eucalipto ainda são incipientes e escassos demandando maiores estudos. Assim, nosso estudo foi norteado pelas seguintes hipóteses: i) a inoculação de *Aspergillus niger* aumenta a aquisição de P, o crescimento e a produção de matéria seca pelo eucalipto, independentemente dos níveis deste nutriente; ii) a redução do suprimento de P aumenta a razão raiz/parte aérea do eucalipto.

O principal objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos dos níveis de suprimento de P e da inoculação de *Aspergillus niger* sobre a aquisição deste nutriente, crescimento e a produção de matéria seca de mudas de eucalipto.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Instalação do experimento

O trabalho foi realizado no Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa em Viçosa-MG, Brasil. O experimento foi conduzido em um sistema de vasos adaptado de SHAHZAD et al. (2015) composto de um vaso retangular com capacidade de 4,5 dm³, preenchido com Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd1) de textura franco-argilo-arenosa. Em cada vaso, foram inseridos horizontalmente oito anéis de PVC (2,5 x 5 cm de altura e diâmetro, respectivamente), sendo dispostos dois em cada lado do vaso (Figura suplementar 1). Cada cilindro foi preenchido com 50 g de solo

Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico muito argiloso (LVAd2) e em seguida vedados com membrana de nylon com poro de 5 μm (Figura 1). Com isso, esperava-se limitar o acesso pela planta ao solo no interior dos cilindros exclusivamente por meio de exsudatos radiculares, sem que suas raízes conseguissem penetrar os anéis durante o experimento.

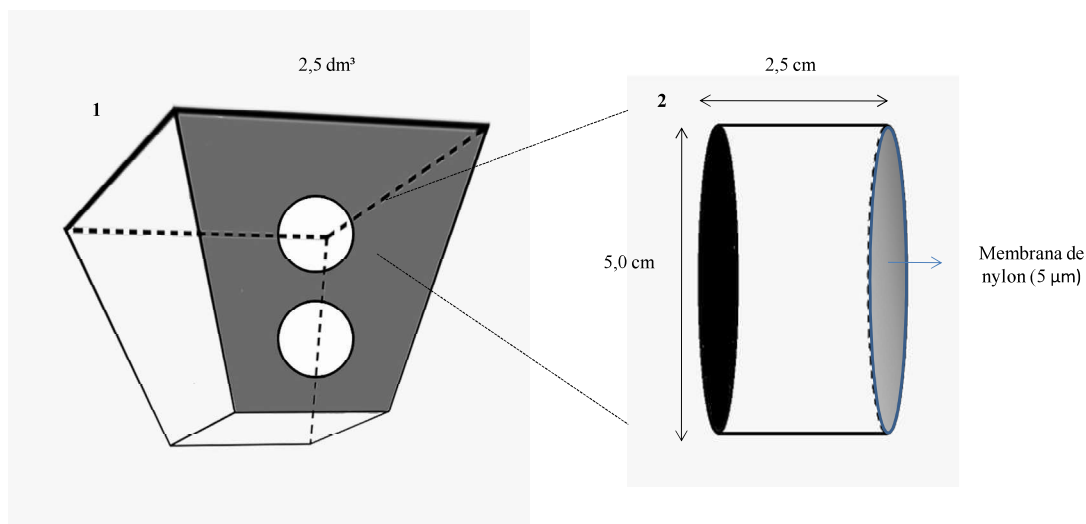


Figura 1. Representação esquemática dos vasos. Disposição dos anéis em um dos lados do vaso (1) e dimensões dos anéis vedados com membranas de nylon (5 μm) (2).

O solo (LVAd2) utilizado para o preenchimento dos anéis possuía textura muito argilosa e foi coletado no município de Viçosa-MG, Brasil. Para caracterização, subamostras do LVAd2 foram secas ao ar e peneiradas em malha de 2 mm (TFSA). Posteriormente foram determinados os teores de P extraídos por Mehlich-1 (HCl 0,05 mol L^{-1} e H_2SO_4 0,0125 mol L^{-1}) e por H_2SO_4 (9 mol L^{-1}) conforme EMBRAPA (1997); e a capacidade máxima de adsorção de P (CMAP) (Tabela1).

Tabela 1. Caracterização do solo alocado no interior dos anéis

	P (Mehlich -1)		P (H_2SO_4)		CMAP	pH
	Teor (mg dm^{-3})	Conteúdo (mg)	Teor (mg kg^{-1})	Conteúdo (mg)		
LVAd2	15	6	315	126	2500	4,7

Teores disponível (Mehlich-1) e total (H_2SO_4) de P e conteúdo de P no solo dos 8 anéis de cada vaso. Mehlich-1: (HCl $0,05 \text{ molL}^{-1}$ e H_2SO_4 $0,0125 \text{ molL}^{-1}$); (H_2SO_4 : 50% vv^{-1}); CMAP: capacidade máxima de adsorção de fosfato. LVAd1: Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (Franco-argilo-arenoso); LVAd2: Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (Muito argiloso).

O experimento foi constituído de um esquema fatorial $(2 \times 2 \times 2) + 2$, no qual ausência e presença de plantas de eucalipto (-E e +E); ausência e presença do fungo *Aspergillus niger* (-As e +As) e dois níveis de suprimento de P no solo exterior aos anéis (15 e 30 mg kg^{-1} de P representados por -P e +P, respectivamente), os quais correspondem a um conteúdo de 67,5 e 135 mg de P por vaso, respectivamente. Adicionalmente, foram incluídos dois tratamentos controle utilizando-se o solo exterior aos anéis que recebeu 15 mg kg^{-1} de P (-P), nos quais o solo do interior dos anéis recebeu 1000 mg kg^{-1} de P (-P+1000), sem e com inoculação do fungo *Aspergillus niger* (-P-As+1000 e -P+As+1000, respectivamente). Nesses tratamentos controle foram utilizados apenas 4 anéis de solo dentro de cada vaso, totalizando 200 mg de P dentro dos 4 anéis, visando atingir um conteúdo final de P que fosse equivalente ao tratamento que recebeu a dose de 30 mg kg^{-1} de P (+P) no solo do exterior dos anéis (Figura 2). O experimento foi desenvolvido em um delineamento em blocos casualizados com quatro repetições.

As doses de P (KH_2PO_4) aplicadas no volume total do solo externo aos anéis (LVAd1) foram adicionadas por ocasião da instalação do experimento. O solo inserido nos anéis (LVAd2) recebeu a aplicação de P (KH_2PO_4) em volume total 30 dias antes da instalação do experimento e continha 315 mg kg^{-1} de P, correspondendo a um conteúdo total de 126 mg de P nos oito anéis (Tabela 1).

Os tratamentos que receberam 15 e 30 mg kg^{-1} de P no solo externo aos anéis (-P e +P, respectivamente) receberam a mesma dose de P dentro dos oito anéis alocados no interior dos potes (315 mg kg^{-1}), totalizando 126 mg de P dentro dos anéis (Figura 2). O intuito da comparação entre -P e +P seria avaliar se o status de P do solo influenciaria o comportamento das plantas (exsudatos rizosféricos) ao encontrar os anéis com mesma concentração de P (315 mg kg^{-1}). Já os tratamentos controle, cujos anéis receberam o mesmo solo dos demais tratamentos, mas com uma concentração de P superior, 1000 mg kg^{-1} , o objetivo era avaliar se as

plantas, com um mesmo status de P no solo externo aos anéis (-P) conseguiria sentir a presença de maior disponibilidade de P e alterar os mecanismos de aquisição de P. Nesses tratamentos controle a quantidade de anéis foi reduzida para quatro para que o conteúdo total de P fosse similar ao tratamento recebendo a maior dose de P (+P) (Figura 2).

Foi realizada a calagem no LVAd1 com o objetivo de elevar os teores de Ca e Mg para 2,5 e 1,0 cmol_c/dm³, respectivamente. Após o período de incubação o LVAd1 atingiu pH 6,5. Os demais nutrientes foram aplicados em quatro parcelas em doses recomendadas por NOVAIS et al., 1991 (Tabela 2).

A cepa de *A. niger* foi obtida da coleção de fungos solubilizadores de fosfato do Laboratório de Ecologia Microbiana (LEM) do Departamento de Microbiologia (DMB) pertencente ao Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agricultura (BIOAGRO) da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil. Previamente à inoculação nos anéis o fungo *A. niger* foi inoculado em placas de petri contendo meio BDA (Batata Dextrose Agar) por 7 dias à 28 °C em BOD (incubadora). Após período de incubação foi adicionada solução Tween 80 (0.1% v v⁻¹) às placas facilitando assim a separação dos esporos. Em seguida, os esporos foram imersos em solução salina (0, 85%), contados em Câmara de Neubauer para se obter 10⁶ unidades formadoras de colônia (UFC) por mL. Por fim, aplicou-se 1 mL da solução contendo 10⁶ UFC por anel.

No experimento foram utilizadas mudas de eucalipto (híbrido *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* (urograndis)) com três meses de idade, as quais foram transplantadas e cultivadas por 60 dias. Durante este período, a umidade foi controlada por meio de um sistema automatizado de irrigação por gotejamento.

Desta forma, foi possível avaliar: i) o efeito dos níveis de suprimento de P sobre a aquisição de P, crescimento e produção de matéria seca pelas plantas; ii) o efeito da inoculação do fungo (*Aspergillus niger*) nas possíveis interações de sinergismo com a planta e iii) o efeito da presença da planta no comportamento do fungo e outros microorganismos no solo.

Tabela 2. Nutrientes e quantidades totais aplicadas na adubação do solo externo aos anéis (LVAd1). Essas quantidades foram divididas em quatro aplicações, seguindo recomendação de NOVAIS et al (1991).

Nutriente	N	K	S	B	Cu	Fe	Mn	Mo	Zn
Dose (mg kg ⁻¹)	100,00	150,00	40,00	0,81	1,33	1,55	3,66	0,15	4,00

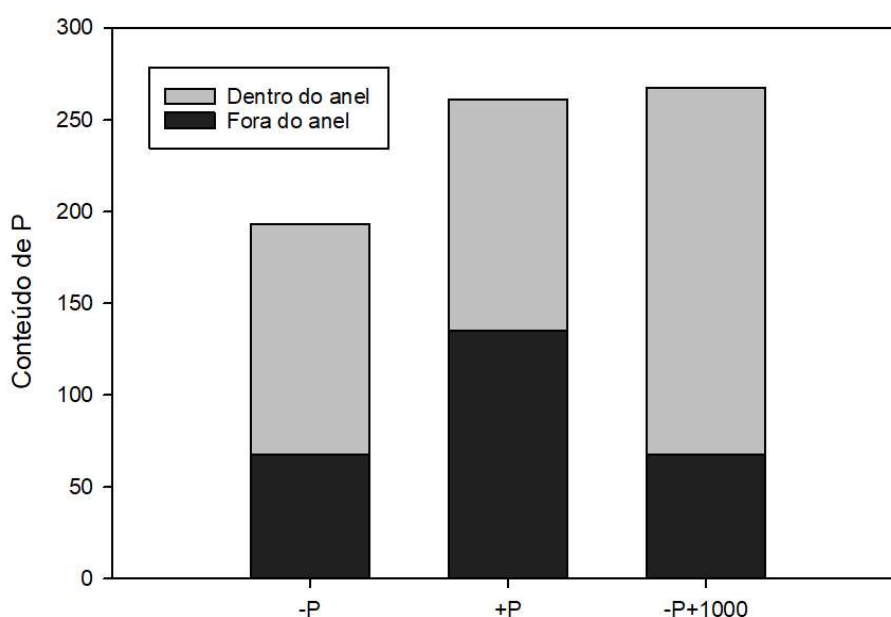


Figura 2. Conteúdo de P nos solos dos respectivos tratamentos: Conteúdo de P dentro e fora dos oito anéis quando foi aplicado 15 mg kg⁻¹ de P externo aos anéis e 315 mg kg⁻¹ no solo de dentro dos anéis (-P); conteúdo de P dentro e fora dos oito anéis quando foi aplicado 30 mg kg⁻¹ de P no solo externo aos anéis e 315 mg kg⁻¹ no solo de dentro dos anéis (+P) e conteúdo de P dentro e fora dos quatro anéis nos tratamentos controle quando foi aplicado 15 mg kg⁻¹ de P no solo externo aos anéis e 1000 mg kg⁻¹ no solo de dentro dos anéis (-P+1000).

Ao final do experimento, os vasos foram desmontados e o material vegetal separado em parte aérea (ramos, folhas novas e folhas velhas) e raízes. Foram consideradas novas as folhas dos primeiro e segundo nós de cada ramo. Todo o material vegetal obtido foi seco em estufa de circulação forçada de ar ($\pm 65^{\circ}$ C) até peso constante, pesadas, moídas e mantidas em

recipientes herméticos para posteriores análises. Por fim, os solos dos anéis foram seccionados em três distâncias paralelas ao plano de raízes (0-3 mm, 3-6 mm e 6-9 mm) (Figura 3). Para cada vaso foi obtido uma amostra composta pela mistura e homogeneização do solo dos oito anéis em suas respectivas distâncias a partir do plano de contato com a rizosfera.

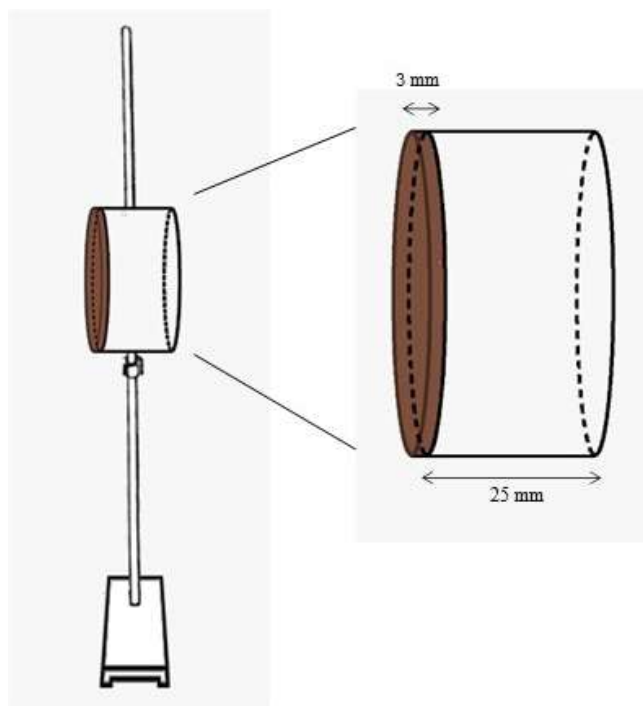


Figura 3. Sistema de coleta seccional do solo em diferentes distâncias a partir do plano das raízes (0-3, 3-6 e 6-9 mm).

2.2. Análises de solo

2.2.1. Teor total de P

Em cada sessão de solo coletada o teor total de P foi determinado no extrato obtido a partir do ataque sulfúrico. Resumidamente, foram pesados 0,5 g de solo, previamente moídos e passados em peneira de 0,5 mm (32 Mesh) e transferidos para tubos de digestão de 75 mL. Em seguida foram adicionados 20 mL de H_2SO_4 (1:1 v v⁻¹) e levados para bloco digestor, previamente aquecido à 180° C, por 1 hora. Após a digestão o extrato foi filtrado e transferido para balão volumétrico de 100 mL, no qual o volume foi completado com água deionizada. A dosagem foi realizada conforme método

proposto por Braga e Defelipo (1974), em espectrofotômetro de absorção molecular.

2.2.2. pH em água

Foi realizada a leitura de pH na relação solo água de 1:2,5, sendo adicionados 5 mL de água a 2 cm³ de solo. Um bastão de vidro foi utilizado para misturar a suspensão por um minuto e subseqüentemente mantida em repouso por 30 minutos. No momento da leitura agitou-se novamente e o pH foi quantificado em suspensão utilizando-se um peagâmetro.

2.3. Crescimento e teor de P na planta

A altura das plantas e diâmetro do caule (1 cm acima do solo) foram medidos no início e no final do experimento. O crescimento em altura (H; %) e diâmetro (D; %) foram calculados conforme as equações 1 e 2:

$$H(\%) = [(H_f - H_i)/H_i] \times 100 \quad \text{Eq. 1}$$

$$D(\%) = [(D_f - D_i)/D_i] \times 100 \quad \text{Eq. 2}$$

Em que H_f é a altura final da planta; H_i é a altura inicial da planta; D_f é o diâmetro final do caule e D_i é o diâmetro inicial do caule.

O material vegetal foi seco em estufa de circulação forçada de ar a 65° C até estabilização da massa, pesado em balança analítica e moído em moinho tipo Willey equipado com peneira de inox com malha de 1 mm. As amostras foram submetidas à digestão nitro-perclórica (4:1 v v⁻¹) e a dosagem de P no extrato foi realizada por espectrometria de emissão em plasma induzido (ICP-OES).

Foram calculados os valores de eficiência de utilização - EU (SIDDIQUI E GLASS, 1981) e eficiência de translocação - ET (LI et al., 1991) para o P, conforme as equações 3 e 4.

$$EU = (mMS_{pl})^2 / cP_{pl} \text{ (g}^2\text{mg}^{-1}\text{)} \quad \text{Eq. 3}$$

$$ET = cP_{PA} / cP_{pl} \text{ (mgmg}^{-1}\text{)} \quad \text{Eq. 4}$$

Em que o cP_{pl} é o conteúdo de P na planta; mMS_{pl} é a massa de matéria seca da planta e cP_{PA} é o conteúdo de P na parte aérea.

2.4. Análises estatísticas

Os resultados de planta foram submetidos à análise de normalidade e homocedasticidade como premissas da estatística paramétrica por meio do teste de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Após transformação BOX COX, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando teste F ($P \leq 0,05$). Posteriormente as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Além disso, comparações múltiplas com os tratamentos controles (-P+1000-As e -P+1000+As) foram realizadas por meio do teste de Dunnet ($P \leq 0,01$ ou $P \leq 0,05$). Para os dados de solo foi realizada a estatística não paramétrica por meio do Teste Kruskal-Wallis ($P \leq 0,05$).

3. RESULTADOS

3.1. Crescimento da planta

O crescimento em altura não diferiu entre os tratamentos com os diferentes níveis externos de P. Porém, em relação ao controle (-P+1000), houve menor crescimento das plantas, com exceção do tratamento +P+As (Figura 4a). De modo similar, também não se observou efeito do fungo sobre o crescimento em diâmetro para o menor suprimento de P (15 mg kg^{-1}). Entretanto, a inoculação de *A. niger* influenciou negativamente o diâmetro do caule nas condições de maior suprimento de P (30 mg kg^{-1} de P) (Figura 4b). Neste sentido, o aumento da dose de P externo resultou em maior crescimento das plantas em diâmetro apenas nos tratamentos na ausência do fungo (-As). Nos tratamentos sem inoculação (-As), não houve diferença no crescimento em diâmetro em relação ao controle (-P-As+1000) para ambas as doses de P externo. Entretanto, os tratamentos com inoculação (+As) apresentaram menor crescimento em diâmetro quando comparados ao controle (-P-As+1000) para as duas doses de P externo.

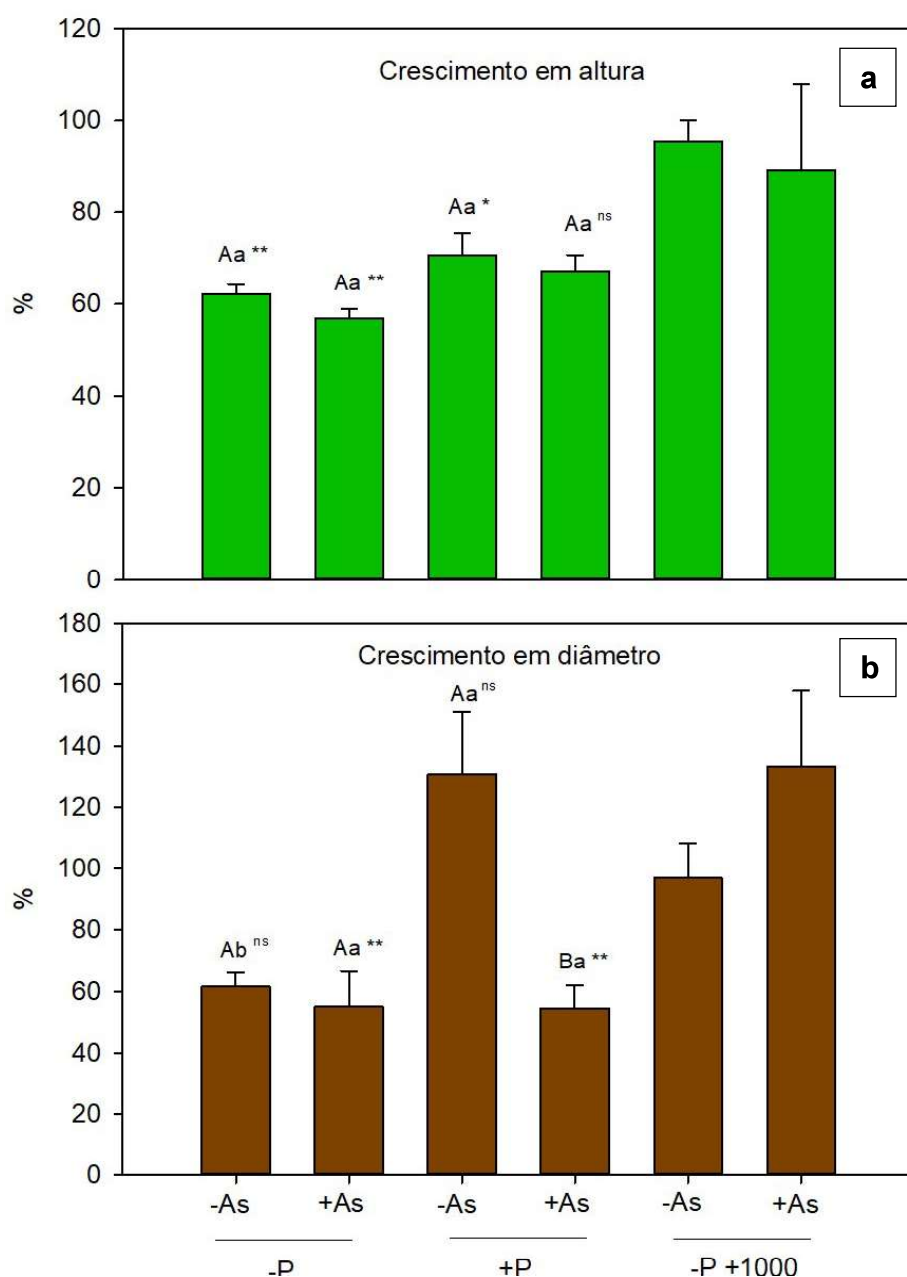


Figura 4. Crescimento das plantas de eucalipto em altura (a; %) e diâmetro (b; %) em condição de solo externo ao anel com 15 mg kg⁻¹ e 30 mg kg⁻¹ de P (-P e +P) ou adicionalmente 1000 mg kg⁻¹ de P no solo do interior do anel (-P+1000) e na ausência e presença do fungo *Aspergillus niger* (-As e +As). Médias seguidas por letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente para o fator fungo dentro das doses de P, enquanto médias seguidas por letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente para dose de P dentro do fator fungo segundo o Teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Médias seguidas de **, * diferem estatisticamente da referente testemunha (-

P-As+1000 ou -P+As+1000) pelo teste de Dunnet ($P \leq 0,01$ e $P \leq 0,05$, respectivamente). O erro padrão da média ($n=4$) encontra-se representado em cada barra dos valores médios.

3.2. Matéria seca de raiz e parte aérea

Na dose de 30 mg kg^{-1} de P as plantas produziram em média 63 % mais matéria seca de parte aérea quando na ausência do fungo (Figura 5a, Figura suplementar 2). Ao se considerar apenas as raízes este incremento foi de 128 % na ausência do fungo. Por outro lado, não houve efeito significativo do suprimento de P dentro do fator fungo na produção de matéria seca de parte aérea e raiz (Figura 5a). A produção de matéria seca da parte aérea dos tratamentos sem inoculação não diferiu significativamente do controle (-P-As+1000). Entretanto, os tratamentos com inoculação apresentaram menor produção de matéria seca de parte aérea em relação ao controle (-P+As+1000), independente dos níveis de P externo. Para a massa de matéria seca de raízes, os tratamentos +P+As e -P +As não diferiram em relação aos controles (-P-As+1000 e -P+As+1000, respectivamente). Por outro lado, o tratamento -P-As obteve menor massa de matéria seca em relação ao controle (-P-As+1000). Da mesma forma, o tratamento +P +As obteve menor produção de biomassa de raízes em relação ao controle (-P+As+1000) (Figura 5a). A relação raiz/parte aérea não foi significativamente influenciada pelos níveis de suprimento de P externo (15 e 30 mg kg^{-1}) ou pela inoculação (Figura 5b). Porém, todos os tratamentos apresentaram menor relação raiz/parte aérea em comparação aos controles (-P+1000), exceto o tratamento -P +As (Figura 5b).

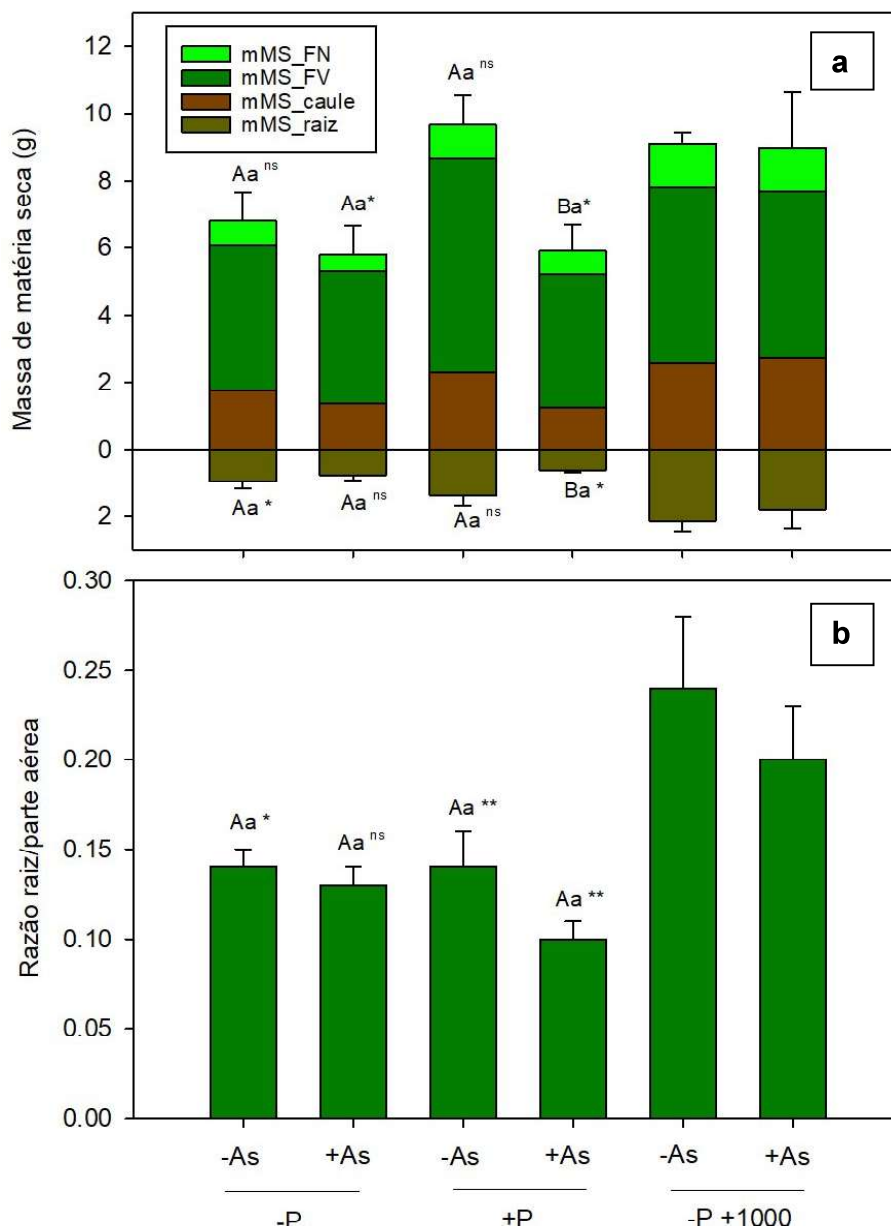


Figura 5. Massa de matéria seca (a) dos compartimentos folha nova (cP_FN; g), folha velha (cP_FV; g), caule (cP_caule; g) e raiz (cP_raiz; g) e razão raiz/parte aérea (b) em condição de solo externo ao anel com 15e 30 mg kg⁻¹ de P e 315 mg kg⁻¹ de P dentro dos anéis (-P e +P, respectivamente); ou 1000 mg kg⁻¹ de P no solo do interior do anel com a menor concentração de P no exterior do anel, 15 mg kg⁻¹ de P (-P+1000); na ausência e presença do fungo *Aspergillus niger* (-As e +As). Médias seguidas por letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente para o

fator fungo dentro das doses de P, enquanto médias seguidas por letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente para dose de P dentro do fator fungo segundo o Teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Médias seguidas de **, * diferem estatisticamente da referente testemunha (-P-As+1000 ou -P+As+1000) pelo teste de Dunnett ($P \leq 0,01$ e $P \leq 0,05$, respectivamente). O erro padrão da média (n=4) encontra-se representado em cada barra dos valores médios.

3.3. Conteúdo de fósforo na raiz e parte aérea

O conteúdo de P na parte aérea e raiz foi negativamente influenciado pela presença do fungo na dose de 30 mg kg⁻¹ de P externo (Figura 6). No entanto, não houve efeito da inoculação do fungo na dose de 15 mg kg⁻¹ de P externo (Figura 6). Portanto, o efeito dos níveis de suprimento de P sobre o conteúdo deste nutriente na parte aérea foi significativo apenas quando *A. niger* não foi inoculado nos anéis. Para as raízes, não houve efeito dos níveis externos de P sobre o conteúdo do nutriente (Figura 6). Em geral, também não houve diferença no conteúdo de P da parte aérea entre os tratamentos e os respectivos controles. Nas raízes, este comportamento foi observado apenas para o tratamento +P-As (Figura 6).

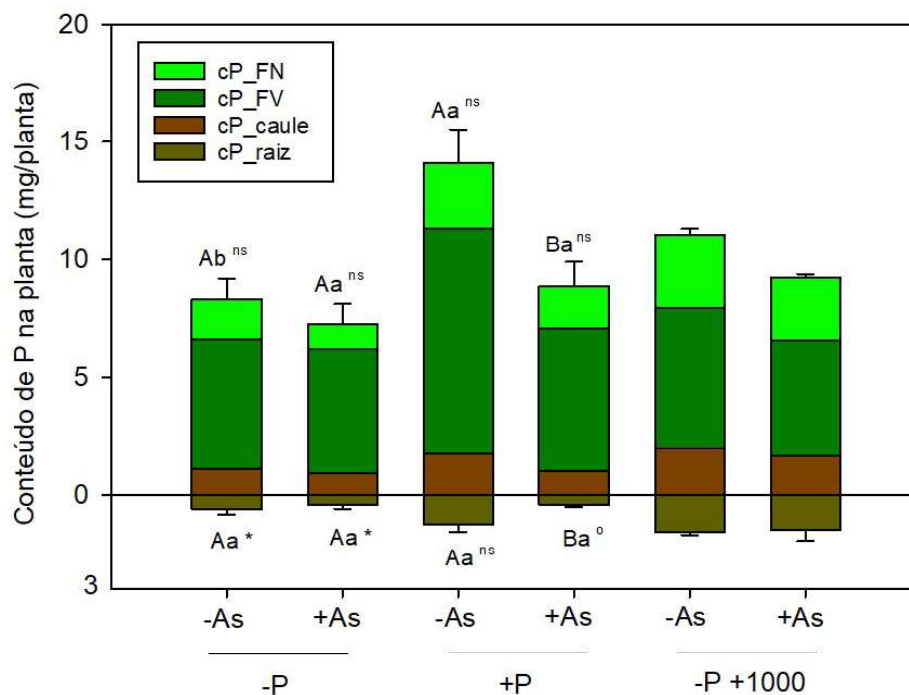


Figura 6. Conteúdo de P (mg planta^{-1}) nos compartimentos folha nova (cP_FN), folha velha (cP_Fv), caule (cP_caule) e raiz (cP_raiz) do eucalipto . em condição de solo externo ao anel com 15 mg kg^{-1} e 30 mg kg^{-1} de P (-P e +P) ou adicionalmente 1000 mg kg^{-1} de P no solo do interior do anel (-P+1000) e na ausência e presença do fungo *Aspergillus niger* (-As e +As). Médias seguidas por letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente para o fator fungo dentro das doses de P, enquanto medias seguidas por letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente para dose de P dentro do fator fungo segundo o Teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Médias seguidas de **, * diferem estatisticamente da referente testemunha (-P-As+1000 ou -P+As+1000) pelo teste de Dunnet ($P \leq 0,01$ e $P \leq 0,05$, respectivamente). O erro padrão da media (n=4) encontra-se representado em cada barra dos valores médios.

3.4. Eficiência de translocação e utilização

Na dose de 30 mg kg^{-1} de P a inoculação de *Aspergillus niger* reduziu a eficiência de uso de P pelas plantas (Tabela 3). Por outro lado, a eficiência de translocação de P foi maior nos tratamentos com a inoculação do fungo.

Nos demais tratamentos houve menor eficiência de utilização de P em relação aos respectivos controles (-P+1000), exceto para o tratamento -P+As em relação ao controle e -P+As+1000 e para o +P-As em relação ao controle -P-As+1000 (Tabela 3). Aparentemente, todos os tratamentos apresentaram maior eficiência de translocação que os tratamentos controle (-P+1000; Tabela 3).

Tabela 3. Eficiência de utilização (EU) e translocação (ET) de P pelas plantas de eucalipto em condição de solo externo ao anel com 15 e 30 mg kg⁻¹ de P (-P e +P) ou adicionalmente 1000 mg kg⁻¹ de P no solo do interior do anel (-P+1000); na ausência e presença do fungo *Aspergillus niger* (-As e +As).

	-As	+As	-As	+As	-As	+As
	-P		+P		-P 1000	
ET	0,93 Aa**	0,94 Aa**	0,90 Ba*	0,96 Aa***	0,84	0,86
EU	0,54 Aa*	0,46 Aa ^{ns}	0,62 Aa ^{ns}	0,41 Ba*	0,76	0,66

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente para o fator fungo. Médias seguidas por letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente para dose de P segundo o Teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Médias seguidas de **, * diferem estatisticamente da testemunha (-P +1000) pelo teste de Dunnet ($P \leq 0,01$ e $P \leq 0,05$, respectivamente).

3.5. pH do solo

Os valores de pH nas diferentes camadas de solo dos anéis variaram entre 4,69 e 4,84 (Figura 7). A camada mais próxima ao sistema radicular (0-3 mm) apresentou pH menos ácido em relação a camada mais distante (6-9 mm) nos tratamentos +P -As+E e +P +As+E (Figura 7).

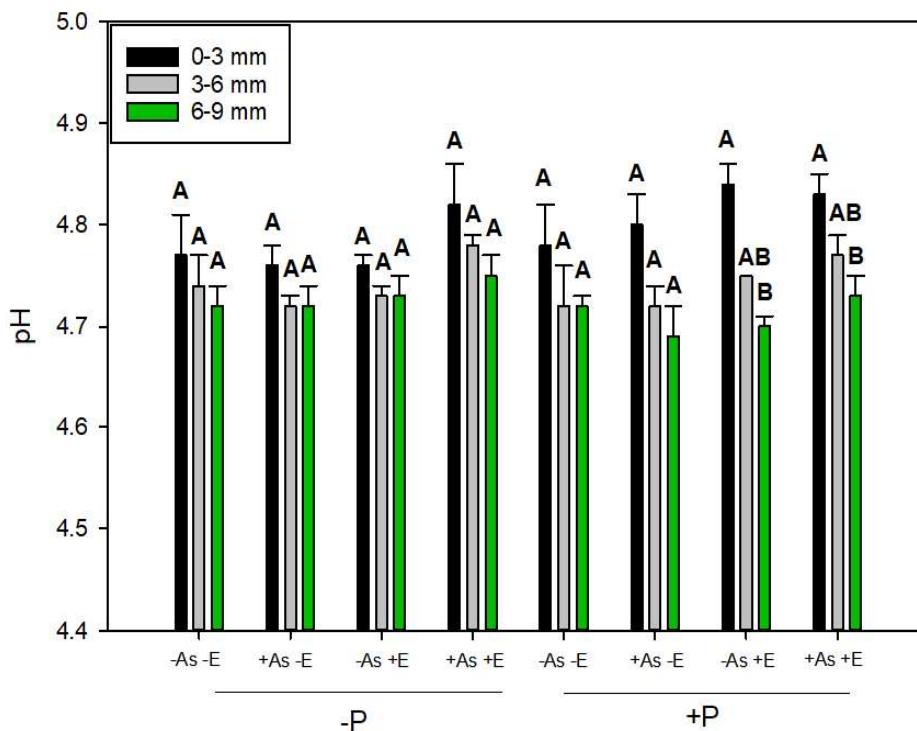


Figura 7. pH do solo em condição de solo externo ao anel com 15 mg kg^{-1} e 30 mg kg^{-1} de P (-P e +P), na ausência e presença do fungo *Aspergillus niger* (-As e +As) e ausência e presença de plantas de eucalipto (-E e +E). Médias seguidas por letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre as camadas segundo o Teste Kruskal- Wallis ($P \leq 0,05$).

3.6. Conteúdo de fósforo no solo dos anéis

Para o tratamento com maior dose de P externo (+P) na ausência do fungo (-As) e presença da planta (+E), foi observado maior conteúdo total de P na camada mais próxima às raízes (0-3 mm) em relação à camada mais distante (6-9 mm; Figura 8), tendência semelhante à que ocorreu com o pH.

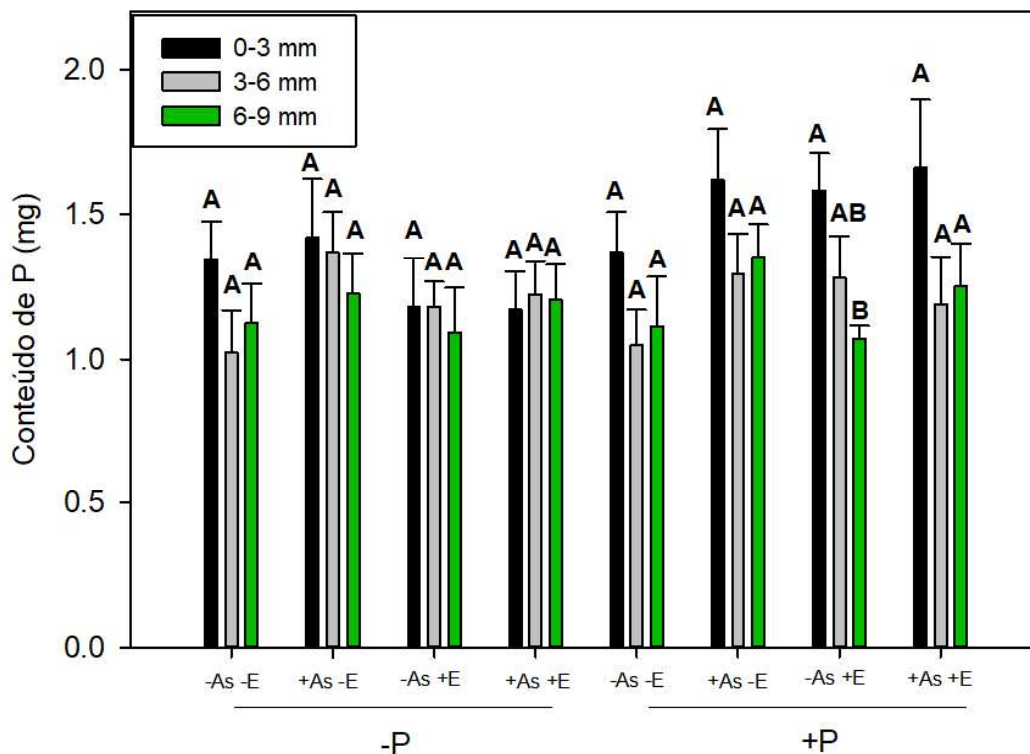


Figura 8. Conteúdo médio de P no solo (mg) extraído por H_2SO_4 , por camada em condição de solo externo ao anel com 15 mg kg^{-1} e 30 mg kg^{-1} de P (-P e +P), na ausência e presença do fungo *Aspergillus niger* (-As e +As) e ausência e presença de plantas de eucalipto (-E e +E) considerando o volume de 1 (um) anel. Médias seguidas por letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre as camadas segundo o Teste Kruskal- Wallis ($P \leq 0,05$).

4. DISCUSSÃO

4.1. Desenvolvimento do eucalipto

Os dados de conteúdo de P na parte aérea sugerem que houve limitação nutricional por este nutriente na dose 15 mg kg^{-1} de P externo aos anéis (Figura 6). Portanto, sinalizam que a capacidade fotossintética das plantas tenha sido reduzida (CARSTENSEN et al., 2018) e, conseqüentemente, o seu desenvolvimento comprometido. O maior crescimento em diâmetro em função do aumento da dose externa de P,

quando não houve inoculação, reforçam esse argumento (Figura 4). Além disso, é provável que o baixo conteúdo de P nos vasos tenha limitado o desenvolvimento radicular e, assim, o acesso ao solo dos anéis. Nesse sentido, não se observou nessa dose os possíveis efeitos de interação entre planta e fungo na rizosfera. Além disso, a hipótese de que a planta aumentaria a relação raiz/ parte aérea como estratégia de aquisição de P não foi suportada.

Na maior dose de P externo (30 mg kg^{-1} de P) a inoculação de *Aspergillus niger* influenciou negativamente o desenvolvimento do eucalipto. Supostamente isso se deve à imobilização do P do solo pela incorporação à biomassa do *Aspergillus niger* (BAGGIE et al., 2004; MC LAUGHLIN et al., 1988). Este processo de retenção de P pelos microorganismos torna-o temporariamente indisponível para as plantas. Nesse sentido, sugere-se que a menor produção de matéria seca e o menor conteúdo de P na planta estejam relacionados com a competição entre planta e fungo pelo nutriente, uma vez que o conteúdo de P da planta suporta este argumento. Além da imobilização, os microrganismos do solo podem competir com as plantas, inibindo o crescimento radicular (MARSCHNERET al. 2011). As plantas produziram em média 128 % mais matéria seca de raiz quando o fungo não foi inoculado. Nesse caso, é provável que as plantas tenham acessado parte do P do interior dos anéis. É importante salientar que para a aquisição de nutrientes pouco móveis no solo, como o fósforo, o comprimento e densidade de pêlos radiculares são fundamentais (LYNCH et al., 2007).

Além disso, é possível que o efeito negativo da inoculação do fungo na maior dose de P externo (30 mg kg^{-1}) esteja relacionado com maior investimento de carbono na rizosfera em detrimento da produção de matéria seca. Os dados de EU e ET de P corroboram este argumento. Quando houve inoculação, na maior dose externa de P (30 mg kg^{-1}) as plantas apresentaram menor eficiência de utilização (Tabela 3), indicando que foram menos eficientes em produzir biomassa por unidade de P absorvido. Adicionalmente, os microrganismos poderão competir com as plantas decompondo os compostos “mobilizadores” de P liberados no solo por elas (MARSCHNERET al. 2011). Além disso, a liberação de exsudatos apresenta

alto custo de carbono para as plantas (LYNCH et al. 2005; RAVEN et al. 2018).

O controle -P+As+1000 apresentou maior produção de matéria seca de parte aérea e raízes, crescimento em diâmetro, conteúdo de P nas raízes e eficiência de utilização de P em relação ao tratamento +P+As. Por outro lado, não houve diferença no conteúdo de P na parte aérea. Esses resultados evidenciam que a concentração de P no interior dos anéis aumentou a eficiência das plantas em produzir biomassa por unidade de P absorvido. É provável que, diante da maior disponibilidade de P o custo de carbono na interação da planta com o fungo tenha sido reduzido. Em estudo análogo, Andrino et al. (2019) verificaram que na presença de P ligado à goethita as plantas investiram grande quantidade de carbono na interação com micorrizas arbusculares. No entanto, quando o P se encontrava livre na solução do solo não foi detectada liberação de C pelas plantas.

Nesse sentido, a hipótese de que a inoculação de *Aspergillus niger* aumenta a aquisição de P e o desenvolvimento das mudas de eucalipto independente dos níveis de P não foi suportada. De modo geral, na maior dose de P externo aos anéis (+P, 30 mg kg⁻¹) a inoculação do fungo limitou o desenvolvimento da planta.

4.2. pH e conteúdo de P no solo

O pH do solo decresceu da camada mais próxima às raízes (0-3 mm) para a camada mais distante das raízes (6-9 mm) nos tratamentos +P-As+E e +P+As+E (Figura 7). Embora a redução do pH próximo às raízes em decorrência da liberação de ácidos orgânicos seja freqüentemente relacionada com o aumento da disponibilidade de P, e consequente absorção pelas plantas, isso não foi observado. Além disso, mesmo os tratamentos sem planta (-E) houve a tendência de pH mais elevado na camada 0-3 mm em relação às demais. Nesse sentido, é possível que a elevação do pH na primeira camada (0-3 mm) tenha sido induzida, por efeito de massa, pelo pH do solo exterior aos anéis, que inicialmente era mais elevado (6,5) que o pH do solo do interior dos anéis (4,7).

No tratamento +P-As+E, assim como o pH, o conteúdo de P foi maior na camada mais próxima às raízes (0-3 mm) em relação à camada mais

distante (6-9 mm; Figura 8). Essa tendência também foi observada para os demais tratamentos que receberam a maior dose de P externo aos anéis (+P; 30 mg kg⁻¹). Dessa forma, de maneira análoga ao pH, sugere-se que tenha havido influência do solo externo aos anéis. É importante ressaltar que, por ser mais argiloso e conseqüentemente apresentar maior CMAP, o solo do interior dos anéis pode ter adsorvido parte do P proveniente do solo externo aos anéis, de textura mais arenosa. Nesse sentido, embora o solo (LVAd2) interno aos anéis apresentava maior teor total de P sugere-se que o LVAd1 externo aos anéis apresentava maior P na solução do solo. Além de ser mais tamponado, o LVAd2 usado para preencher os anéis recebeu a aplicação de P aproximadamente 30 dias antes da aplicação de P no solo externo, que aconteceu na ocasião da montagem do experimento. O tempo de contato, provavelmente foi importante na adsorção de P. Vale salientar ainda que a adsorção de P apresenta potencial para elevar o pH do solo, uma vez que ao ser adsorvido especificamente os íons fosfatos deslocam OH⁻ para a solução e são, portanto, íons determinantes de potencial.

Em suma, os resultados deste trabalho evidenciaram que, em oposição ao que foi hipotetizado, não foi observada maior relação raiz/ parte aérea em condições de menor disponibilidade de P (Figura 5b). Além disso, a maior produção de matéria seca de raiz foi responsável pela maior produtividade de parte aérea, o que ficou evidente nos tratamentos -As+P e nos controles (Figura 5a). Possivelmente, nos tratamentos -P as plantas perceberam a baixa disponibilidade de P e não investiram fotoassimilados na produção de raízes. Por outro lado, em condições de maior disponibilidade de P externo (+P) ou interno aos anéis (controles) as plantas investiram mais carbono na produção de raízes e obtiveram, conseqüentemente, maiores produções de parte aérea. Porém, no tratamento +P+As é provável que o fungo tenha limitado a produção das plantas seja pela competição por P ou por liberar compostos tóxicos às plantas nessas condições. Nesse sentido, as concepções supracitadas mostram a necessidade de mais estudos para elucidar o quão sensíveis são as plantas às condições de disponibilidade de P e os efeitos sobre a estratégia de aquisição de P pelo eucalipto.

5. CONCLUSÕES

1. Em condições de baixo suprimento externo de P (15 mg kg^{-1}) as mudas de eucalipto não aumentaram a relação raiz/ parte aérea como estratégia de aquisição de P.
2. Apesar de ser uma tecnologia promissora, a inoculação de *Aspergillus niger* reduziu a aquisição de P, o crescimento e a produção de matéria seca por mudas de eucalipto no nível de suprimento externo de P de 30 mg kg^{-1} .

6. REFERÊNCIAS

ANDRINO, A. *et al.* Carbon Investment Required for the Mobilization of Inorganic and Organic Phosphorus Bound to Goethite by an Arbuscular Mycorrhiza (*Solanum lycopersicum* x *Rhizophagus irregularis*). **Frontiers in Environmental Science**, v. 7, p. 1–15, 2019.

BADRI, D. V *et al.* Rhizosphere chemical dialogues: plant – microbe interactions. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 20, p. 642–650, 2009.

BAGGIE, I., ROWELL, D.L., ROBINSON, J.S., WARREN, G.P. Decomposition and phosphorus release from organic residues as affected by residue quality and added inorganic phosphorus. **Agroforestry Systems** v. 63, p. 125-131, 2004.

BARROW, N.J. Reactions of anions and cations with variable-charge soils. **Adv. Agron**, v. 38, p.183-230, 1985

BRAGA, J.M. & DEFELIPO, B.V. Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solo e material vegetal. **Revista Ceres**, v.21, p.73-85, 1974.

CARSTENSEN, A. *et al.* The Impacts of Phosphorus Deficiency on the Photosynthetic Electron Transport Chain. **Plant physiology**, v. 177, n. 1, p. 271–284, 2018.

DAM, N. M. VAN; BOUWMEESTER, H. J. Metabolomics in the Rhizosphere : Tapping into Belowground Chemical Communication. **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 3, p. 256–265, 2016.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro, 1997. 212 p.

D. N. FIFE, E. K. S. NAMBIAR, E. SAUR. Retranslocation of foliar nutrients in evergreen tree species planted in a Mediterranean environment. **Tree Physiology**, v. 28, n. 2, p. 187–196, 2008.

JLM GONÇALVES, JL STAPE, J-P LACLAU, J-P BOUILLET & J RANGER. Assessing the effects of early silvicultural management on long-term site productivity of fast-growing eucalypt plantations: the Brazilian experience, Southern Forests. **A Journal of Forest Science**, v.70, n. 2, p. 105-118, 2008.

IYAMUREMYE, F.; DICK, R. P.; Baham J Organic amendments and phosphorus sorption by soils. *In: Advances in Agronomy*. Corvallis, Oregon: [s.n.]. p. 139–185, 1996

JARAMILLO, J. E. P.; MENDES, R.; RAAIJMAKERS, J. M. Impact of plant domestication on rhizosphere microbiome assembly and functions. **Plant Molecular Biology**, v. 90, p. 635–644, 2015.

LAMBERS, H. *et al.* Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 23, p. 95–103, 2008.

LAMBERS, H. *et al.* Leaf manganese accumulation and phosphorus-acquisition efficiency. **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 2, p. 83–90, 2015.

LI, B.; McKEAND, S.E. & ALLEN, H.L. Genetic variation in nitrogen use efficiency of loblolly pine seedlings. **For. Sci.**, v. 37, p. 613-626, 1991.

LU, J.; GAO, X.; DONG, Z. Improved phosphorus acquisition by tobacco through transgenic expression of mitochondrial malate dehydrogenase from *Penicillium oxalicum*. **Plant Cell Rep**, v. 31, n. 2, p. 49–56, 2012.

LYNCH, J. P. Turner review no. 14. Roots of the second green revolution. **Australian Journal of Botany**, v. 55, n. 5, p. 493–512, 2007.

LYNCH, J. P.; HO, M. D. Rhizo economics: Carbon costs of phosphorus acquisition. **Plant and Soil**, v. 269, n. 1–2, p. 45–56, 2005.

MASSENSINI, A. M. *et al.* Solubilização potencial de fosfatos mediada pela microbiota rizosférica de eucalipto cultivado em topossequência típica da zona da mata mineira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, n. 1, p. 692–700, 2015.

MCLAUGHLIN, M.J., ALSTON, A.M., MARTIN, J.K., 1988. Phosphorus cycling in wheat pasture rotations. II. The role of the microbial biomass in phosphorus cycling. **Australian Journal of Soil Research** v. 26, p. 333 – 342, 1988

MENDES, G. D. O.; LUIZ, A.; FREITAS, M. DE. Mechanisms of phosphate solubilization by fungal isolates when exposed to different P sources. **Ann Microbiol**, v. 64, p. 239–249, 2014.

NAHAS, E. Factors determining rock phosphate solubilization by microorganisms isolated from soil. **World J Microbiol Biotechnol**, v. 12, p.567-72, 1996.

NOVAIS, R. F. *et al.* **Fósforo**. In: NOVAIS, R.F. *et al.* (Eds). Fertilidade do Solo. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. 1117 p

NOVAIS, R.F.; NEVES, J.C.L.; BARROS, N.F de. Ensaio em ambiente controlado. In: OLIVEIRA, A.J de.; GARRIDO, W.E.; ARAÚJO, J.D. de; LOURENÇO, S. (Coord). **Métodos de pesquisa em fertilidade do solo**. Brasília, DF: EMBRAPA - SEA, 1991. 392 P.

NZIGUHEBA, G.; BÜNEMANN, E.K. Organic phosphorus dynamics in tropical agroecosystems. In: TURNER, B.L., FROSSARD, E., BALDWIN, D.S. (Eds). **Organic Phosphorus in the Environment**. Oxford University Press, 2005.412 p.

PANDEY, R.; KUMAR, S.; VENGAVASI, K. Root carboxylate exudation capacity under phosphorus stress does not improve grain yield in green gram. **Plant Cell Rep**, v. 33, p. 919–928, 2014.

RAVEN JA, LAMBERS H, SMITH SE, WESTOBY M Costs of acquiring phosphorus by vascular landplants: patterns and implications for plant coexistence. **New Phytol** 217: 1420–1427, 2018

E. SAUR, E. K. S. NAMBIAR, D. N. FIFE. Foliar nutrient retranslocation in *Eucalyptus globulus*. **Tree Physiology**, v. 20, n.16, p. 1105–1112, 2000.

SHAHZAD, T. *et al.* Contribution of exudates , arbuscular mycorrhizal fungi and litter depositions to the rhizosphere priming effect induced by grassland species. **Soil Biology&Biochemistry**, v. 80, p. 146–155, 2015.

SIDDIQUI, M.Y. & GLASS, A.D.M. Utilization index: A modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. **J. Plant Nutr**, v. 4, p. 289-302, 1981.

SILVA FILHO, G.N.; NARLOCH, C.; SCHARF, R. Solubilização de fosfatos naturais por microrganismos isolados de cultivos de Pinus e eucalyptus de Santa Catarina. **Pesq Agropec Bras**, v. 37, p. 847-54, 2002.

MARSCHNER, P.; CROWLEY, D.; RENGEL, Z. Rhizosphere interactions between microorganisms and plants govern iron and phosphorus acquisition along the root axis - model and research methods. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 43, n. 5, p. 883–894, 2011.

WANG, Y. *et al.* Rhizosphere Organic Anions Play a Minor Role in Improving Crop Species ' Ability to Take Up Residual Phosphorus (P) in Agricultural Soils Low in P Availability. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2016.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Figura Suplementar 1. Disposição dos anéis de PVC (2,5 x 5 cm de altura e diâmetro) em um vaso retangular com capacidade de 4,5 dm³, preenchido com Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd1) de textura franco-argilo-arenosa. Em cada vaso, foram inseridos horizontalmente oito anéis de PVC sendo dispostos dois em cada lado do vaso, cada um contendo 50 g de Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd2) de textura muito argilosa.

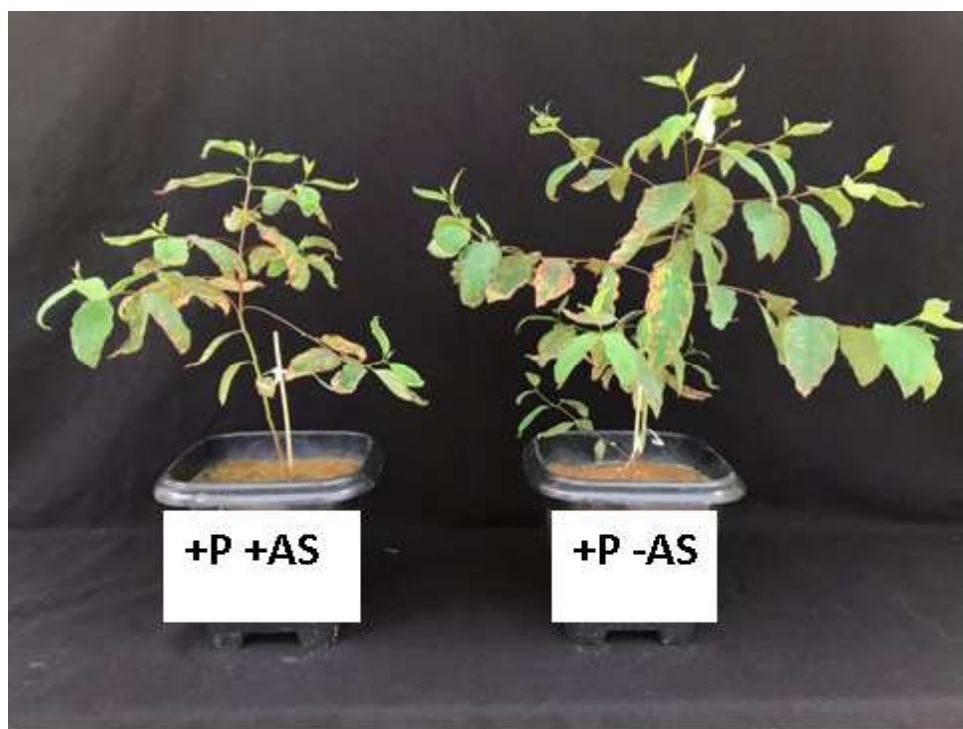


Figura Suplementar 2. Mudanças de eucalipto aos 60 dias após o transplante. +P+As: dose de 30 mg kg⁻¹ P externo aos anéis com inoculação de *Aspergillus niger* no solo dos anéis; +P-As: dose de 30 mg kg⁻¹ P externo aos anéis com inoculação de *Aspergillus niger* no solo dos anéis.