COMPOSTAGEM: SOLUBILIZAÇÃO BIOLÓGICA DE ROCHA FOSFÁTICA NA PRODUÇÃO DE FERTILIZANTE ORGANOMINERAL

SAMUEL MURGEL BRANCO
Biólogo - Professor titular da USP

PAULO HENRIQUE MURGEL
Agrônomo - Consultor especializado em fertilizantes

VILMA MARIA CAVINATTO
Bióloga - Consultora. Ex Professora da Escola de Engenharia Mauá

RESUMO

Pesquisa visando desenvolver um sistema de compostagem de resíduos orgânicos com enriquecimento biológico em fósforo solúvel, através do desenvolvimento de microrganismos solubilizadores de rochas fosfáticas, permitiram o isolamento de várias espécies de bactérias e fungos que, em meio de cultura rico em carbono orgânico, conseguem solubilizar fosfato, utilizando-o em seu metabolismo. Várias dessas espécies demonstraram concomitante capacidade de fixar nitrogênio do ar. As experiências de campo realizadas pela EMBRAPA com o composto assim formado, demonstraram apresentar, esse fertilizante, igual ou maior eficácia que os adubos sintéticos convencionais, a um custo de 34 a 40 por cento menor.

PALAVRAS CHAVES: Compostagem, solubilização biológica de fosfatos, bactérias fixadoras de nitrogênio, fertilizantes organominerais

ABSTRACT

This research was made, aiming a composting system of organic waste with biological enrichment in soluble phosphorus, through the development of micro-organisms which has the capacity of make soluble the phosphate rocks. Experiences allowed the isolation of several species of bacteria and fungi which, in a carbon rich cultivation media, get to dissolve phosphate, to use in its metabilism. Many of these species have show concomitant capacity to fix air nitrogen. The experiences made by EMBRAPA with this formed mixture, have showed that this fertilizer has equal or bigger efficacy than the conventional synthetic fertilizers, and that it costs 34% to 40% less than former.

KEYWORDS: *composting, phosphate dissolving organisms, nitrogen fixing bacteria, organomineral fertilizer*

INTRODUÇÃO

A produção de fertilizantes organominerais a partir da compostagem de resíduos sólidos orgânicos urbanos ou rurais esbarra numa dificuldade de difícil transposição, resultante das baixas concentrações de nutrientes essenciais, especialmente fósforo e nitrogênio. Assim sendo, embora os vários tipos de composto resultantes sejam de inegável utilidade no condicionamento dos solos, pelo teor de húmus que apresentam, eles sofrem restrições de mercado, não sendo competitivos com as formulações "sintéticas" apresentadas pelas indústrias tradicionais de fertilizantes. Quanto à sua classificação na categoria de *fertilizantes organominerais*, esta exige uma formulação mínima, a qual prevê proporções estabelecidas, no Brasil, por portaria ministerial nº 01 de 4/3/1983.

Matéria Orgânica: Mínimo de 25%; Nitrogênio total: Conforme declarado no registro; Umidade: Máximo de 20 %; P_2O_5 solúvel em CNA+H_2O: Conforme declarado no registro; K2O: Conforme declarado no registro. Soma (NPK; NP; PK ou NK): mínimo de 12 %.

As tentativas de solução do problema implicam a adição de *superfosfato*, (além de uma fonte de nitrogênio) - o que encarece sobremaneira o produto tornando-o economicamente pouco competitivo - ou o recurso a biotecnologias emergentes visando a disponibilização do fósforo insolúvel contido no composto ou no solo. Destas técnicas, a que tem merecido a preferência de produtores de composto como dos próprios agricultores em todo o mundo consiste na utilização de vermes terrestres, *minhocas*, de diferentes espécies. O processo baseia-se no fato bem conhecido de que esses vermes anelídeos, ao alimentar-se de folhas em decomposição, ingerem, também, grandes quantidades de solo, sobre cujos componentes químicos exercem ação bioquímica no sentido de extrair elementos para sua própria nutrição. Assim, além de incorporar ao solo substâncias resultantes da digestão das matérias vegetais ingeridas, eles solubilizam elementos do próprio solo, como os compostos de fósforo presentes. Como conseqüência, acréscimos significativos de fósforo têm sido observados em solos contendo grandes populações de minhocas, quando comparados com solos vizinhos sem os vermes. (Barrett, 1947; Morini, 1982).

Entretanto, desde as experiências de Dhar, a partir de 1933, é conhecido o fato de que, em presença de matéria orgânica, os fosfatos insolúveis do solo tendem a tornar-se disponíveis, provavelmente por atividade microbiana saprofítica possibilitada pela existência de alimento orgânico, ou seja: havendo excesso de nutriente orgânico, os microrganismos decompositores recorrem a estratégias particulares para liberação dos fatores que se tornam limitantes. Em ou-

tras palavras, o carbono orgânico presente fornece a energia necessária à disponibilização do fósforo, permitindo, assim, o prosseguimento do ciclo nutricional que, de outra forma, seria desastrosamente interrompido. Sabe-se, baseado na composição média da célula bacteriana, que uma bactéria necessita nutrientes básicos na proporção aproximada de C:N:P da ordem de 25:4:1, sendo pois indispensável esse elemento no meio, em proporções bem definidas, para que elas possam "processar" a matéria orgânica através da atividade decompositora.

A experiência clássica do pesquisador indiano consistiu no seguinte (Dhar, *in* Tibau, 1978): adicionar, ao solo arado, 100 a 120 Kg de fosfato básico (P_2O_5) por hectare, acrescentando, em seguida, palha ou resíduos de colheita na proporção de 8 a 10 t por ha, ou esterco à razão de 40 t/ha, arando, novamente, para proceder ao soterramento de todo o material. Dhar observou os seguintes fenômenos, considerados quase miraculosos: a) a partir de 6 a 8 semanas, o solo era enriquecido progressivamente em nitrogênio, atingindo mais de 100 Kg/ha.ano ; b) os fosfatos insolúveis adicionados eram solubilizados, tornando-se assimiláveis pelas plantas e permitindo aproveitamento integral dos mesmos.

Segundo Tibau (1978), pesquisadores russos conseguiram isolar do solo mais de trinta espécies e variedades de bactérias capazes de solubilizar rapidamente o fosfato tricálcico, em presença de uma fonte de matéria orgânica qualquer e peptona. No Chile, segundo o mesmo autor, o biólogo Kneuer reconheceu como mais eficientes nesse processo as bactérias *Bacillus cereus*, var. *albolactes; B. mycoides*, cepas 1, 2, 18c e 1419, e *B. megatherium* var. *fosfaticum*.

Atualmente a atenção dos pesquisadores acha-se voltada principalmente para a função das *micorrizas*, fungos que vivem normalmente associados às raízes das plantas superiores. Essas associações, antes consideradas ocasionais, em apenas algumas espécies de árvores, são hoje tidas como obrigatórias praticamente para todas as espécies e a função desempenhada pelo fungo é exatamente a de solubilizar e tornar disponíveis para a planta nutrientes como nitrogênio e fósforo (Le Tacon, 1985).

Em simpósio realizado em 1985, a pesquisadora Johanna Döbereiner, da EMBRAPA, conhecida pelos seus trabalhos relativos principalmente ao cultivo de microrganismos diazotróficos, que tornaram as culturas de soja em nosso país "auto-suficientes", sem a necessidade de adição de fertilizantes nitrogenados, expressou-se da seguinte maneira, a respeito das fontes de fósforo (Döbereiner, *in* Estado de São Paulo, 1985): "Não deveriam ficar de fora, também, num programa como o de São Paulo, as diversas possibilidades de uma biotecnologia que torne os fosfatos de rocha acessíveis à agricultura, assim como muitas outras possibilidades que não são mencionadas no documento".

O COMPORTAMENTO DO FÓSFORO NO SOLO

Solubilidade e disponibilidade

O fósforo geralmente é encontrado nos solos na forma de *fosfato tricálcico* ($Ca_3(PO_4)_2$), praticamente insolúvel e, portanto, não disponível para as plantas. Além disso, pode ocorrer na forma de compostos orgânicos fosforados e, finalmente, na forma de mineral solúvel. Entretanto, nesta última forma, ele é muito instável, dificilmente permanecendo em condições de ser assimilado. Essa tendência à indisponibilidade é devida a processos de *fixação* que ocorrem de diferentes maneiras: formação de compostos com o cálcio (passagem, por exemplo, da forma de *fosfato monocálcico*, ou "superfosfato", que é a mais solúvel de todas, para as formas de *fosfato bicálcico*, pouco solúvel, ou *tricálcico* que, como visto, é a menos solúvel de todas; precipitação pelo ferro, pelo alumínio ou pelo manganês, formando compostos insolúveis; adsorção pelas argilas ou pelos hidróxidos de alumínio ou ferro; formação de compostos orgânicos que, embora não possam ser diretamente assimilados pelos vegetais, apresentam a possibilidade de ser lentamente mineralizados e, assim, suprir as necessidades dos vegetais (Jorge, 1969).

Barbosa (1980) oferece detalhes importantes sobre o comportamento do fósforo no solo. Diz ele: "A estrutura eletrônica do fósforo determina comportamentos muito peculiares para as combinações do fósforo. Os compostos que mais interessam à linha de fertilizantes são os ortofosfatos. Estes podem ser definidos como compostos de fósforo que formam ânions nos quais cada átomo de fósforo está rodeado de quatro átomos de oxigênio, ocupando os vértices de um tetraedro. Tais compostos permitem que oxigênios sejam compartilhados entre tetraedros, de modo que possam formar cadeias, anéis, e mesmo "gaiolas". A sua mais simples configuração, PO_4, como unidade monomérica, é denominada ortofosfato e se encontra praticamente livre no ácido fosfórico. Cadeias do tipo P-O-P são chamadas polifosfatos e anéis metafosfatos. As estruturas mais complexas, verdadeiras "gaiolas", são fosfatos condensados denominados ultrafosfatos. A estrutura tetraédrica tem especial afinidade por cátions metálicos, formando estruturas de maior ou menor condensação. Permitem ainda a substituição isomórfica de ânions da estrutura, formando estruturas complexas de grande estabilidade. A apatita é uma estrutura que apresenta grande condensação e estabilidade elétrica. Entretanto, essa mesma estrutura permite substituições, daí a imensa gama de compostos minerais, hoje divididos em grupos, espécies, ordens, etc. Porém, nem toda estabilidade é total: mesmo uma estrutura como a da apatita permite substituições que a enfraquecem, como a do ânion CO_3^{-2}, que torna algumas rochas fosfáticas mais "moles" à decomposição por ácidos fracos. A estabilidade pode, então, ser associada à complexidade da condensação que atenda a um equilíbrio elétrico. Mesmo a apatita que permite substituições isomórficas, ou seja, substituições na sua estrutura sem perda da estrutura cristalina, apresentando mesmo vazios na sua estrutura interna, mantém a sua estabilidade se suas cargas elétricas estiverem compensadas. Distorções ocorrem devido a tensões provocadas por íons com raios iônicos maiores ou menores, nos posicionamentos estruturais, com isso gerando instabilidades por deformação das malhas cristalinas".

É ainda o mesmo autor que explica, ao expor a questão da fixação do fósforo: "o ferro trivalente que se encontra nos solos ácidos também forma complexos com os ânions PO_4^{-2} liberados pelos fertilizantes fosfatados. A existência desses compostos é de considerável importância, pois a estabilidade destes sólidos amorfos de alumínio pode ser vista como decorrente da existência de uma estrutura polimérica complexa. Entretanto, essas estruturas dissolvem incongruentemente, ou seja, reagindo com a água em pH entre 2,6 e 4,0. Pesquisas indicaram que o fósforo destes complexos amorfos e coloidais é assimilável de modo quase igual, tanto para o alumínio como para o ferro. Quando fertilizantes fosfatados so-

lúveis são aplicados em solos ácidos, o fósforo solúvel é precipitado rapidamente ao formar colóides de Al-P e Fe-P. Por causa do pequeno tamanho de suas partículas e da grande área de superfície e estrutura amorfa, estas formas coloidais são rapidamente disponíveis às plantas. Mas estes fosfatos coloidais tendem a cristalizar e formar compostos hidratados, tais como variscita e estrengita, que são menos disponíveis para o crescimento da planta. A combinação Fe-P cristaliza mais rapidamente que a combinação Al-P, e sob forma cristalina sua disponibilidade para as plantas torna-se praticamente nula. Esse mecanismo explicaria, em parte, as concentrações de P lábil e P não lábil, capacidade e intensidade, efeito tampão, etc, "ao nível" das reações do fósforo com os óxidos de alumínio e ferro".

Segundo Dias Correia (1980) "o conteúdo em P do solo oscila entre 500 e 2 500 kg ha^{-1} dos quais cerca de 15 a 70% se encontram fortemente adsorvidos ou em formas inorgânicas insolúveis, sendo o restante P, de natureza orgânica, sobretudo provindo dos microrganismos do solo e da mesofauna. Os microrganismos podem mineralizar P orgânico. O ortofosfato ($H_2PO_4^-$ e HPO_4^-) que é libertado pela mineralização é rapidamente adsorvido pelas partículas do solo (fixação do fosfato). O fosfato é rapidamente imobilizado pelos microrganismos do solo, por adsorção e por precipitação dos fosfatos insolúveis de Ca, Fe ou Al. Há no entanto alguns fosfatos que podem facilmente ser desadsorvidos, além dos fosfatos que se encontram em solução constituindo o fósforo lábil, ao contrário do insolúvel que constitui o fósforo não lábil. Esta interconversão das diversas formas do fósforo é muito condicionada pelo pH do solo, e o seu conteúdo de argila, sesquióxidos, etc."

Primavesi (1964), citando Schaffer, diz que "a disponibilidade de P segue em paralelo com a atividade biológica do solo. Quanto mais ativa a microvida aeróbia e heterótrofa, tanto maior a disponibilidade dos fosfatos" e acrescenta: "nos laboratórios, usa-se sempre mais o bio-teste para a avaliação de fósforo disponível, sendo usados especialmente a *Azotobacter chroococcum, Aspergillus niger, Trichoderma, Cunnighamella e Aspergillus oryzae*".

Solubilização por ação dos microrganismos

A passagem dos vegetais do ambiente aquático para o terrestre, em eras geológicas passadas, exigiu adaptações que permitissem aos mesmo extrair do solo, os elementos minerais indispensáveis à sua formação e metabolismo. Uma vez que esses nutrientes no solo - ao contrário da água - encontram-se sobretudo em formas insolúveis, as adaptações necessárias se deram sobretudo através da associação das plantas com microrganismos capazes de solubilizá-los ou de fixá-los a partir do ar. Foi o que aconteceu através das conhecidas simbioses entre as raízes e fungos - as *micorrizas* - ou entre raízes e bactérias - no caso bem conhecido dos *rizóbios*, ou bactérias fixadoras de nitrogênio, formadoras dos nódulos das leguminosas e outras plantas. Entretanto, à medida em que os solos foram sendo enriquecidos em diferentes formas de carbono orgânico, por força da própria atividade autótrofa dos invasores vegetais, tornou-se possível um atividade heterótrofa, de caráter decompositor ou saprófito, permitindo o fechamento dos ciclos geobioquímicos e, ao mesmo tempo, permitindo a existência de microrganismos solubilizadores de vida independente. Dessa forma, teriam surgido, *necessariamente*, organismos saprófitos capazes de completar a sua dieta nutricional com minerais solubilizados do próprio solo terrestre ou do ar atmosférico. É conveniente recordar, entretanto, que essa atividade indispensável tem em vista o suprimento de nutrientes dos próprios microrganismos saprófitos não constituindo uma ação "liberal", da parte dos microrganismos, de suprir as necessidades dos vegetais (e animais) terrestres em geral, "atitude" que, de resto, não existe na natureza, sendo incompatível com o caráter eminentemente *oportunista* da seleção natural. Essa consideração, embora aparentemente ingênua, tem sua razão de ser, como será colocado em seguida.

Aparentemente existem dois mecanismos básicos de ação exercida pelos microrganismos sobre o meio, contribuindo para a solubilização do fósforo: o primeiro seria através de uma atividade secretora específica liberando substâncias que provocariam a transformação específica dos compostos fosforados presentes em formas de assimilação fácil e imediata. Essa atividade, porém, seria limitada pela capacidade dos microrganismos de absorver fósforo, isto é, ela tenderia a diminuir ou cessar no momento em que esses seres estivessem "satisfeitos", ou "saturados" desse elemento essencial. Isso acontecendo, a solubilização de fósforo estaria condicionada pelas necessidades microbianas, não se podendo esperar que a sua contribuição para o solo fosse ilimitada, ou proporcional meramente à quantidade de fósforo insolúvel existente no meio. Não obstante, é bem conhecido o fato de que organismos vegetais absorvem mais fósforo do que o necessário para sua utilização metabólica imediata, acumulando-o em suas sementes e tecidos meristemáticos, principalmente na forma de *fitina* (Meyer - Anderson, 1958; Maximov, 1948). Em algas de águas doces já foi observado fenômeno idêntico: em épocas de "fartura" do nutriente, algas microscópicas, assim como cianobactérias absorvem o fósforo em quantidades muito maiores do que o necessário, acumulando-o em suas células (Tryon, 1959). Bactérias também apresentam esse fenômeno de "consumo luxuriante" de fósforo, acumulando-o no interior de sua células na forma de grânulos e o fenômeno tem sido utilizado em tratamento de esgotos por lodos ativados para remoção de fósforo em efluentes (Marson, 1971; Branco, 1971). Fuhs et al, (1975) evidenciaram acúmulos intracelulares de polifosfatos inorgânicos, na forma de inclusões em algumas espécies de bactérias do gênero *Acinetobacter*. De qualquer forma, é possível que a solubilização efetuada pelos microrganismos seja bem maior que aquela que satisfaria às suas necessidades imediatas, mas assim mesmo seria limitada.

O outro mecanismo - este inespecífico - seria resultante meramente da presença de gás carbônico em excesso no meio. Em toda atividade decompositora há uma produção de CO_2 contribuindo para o enriquecimento do solo nesse composto. Nessas condições, as seguintes reações são possíveis:

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O$$

isto é, a glicose resultante do metabolismo dos seres decompositores combina-se ao oxigênio, na respiração aeróbia, formando gás carbônico e água. Esse gás carbônico combina-se ao fosfato tricálcico, insolúvel, formando fosfato dicálcico, através da reação:

$$Ca_3(PO_4)_2 + CO_2 + H_2O \longrightarrow Ca_2(HPO_4)_2 + CaCO_3$$

Finalmente, o fosfato dicálcico, em presença de excesso de CO_2 reage com este, formando o fosfato bicálcico, solúvel, através da reação:

$$Ca_2(HPO_4)_2 + CO_2 + H_2O \longrightarrow Ca(H_2PO_4)_2 + CaCO_3$$

Essas reações não se dão em condições normais de laboratório, a não ser sob temperatura e pressão muito elevadas. Em presença dos microrganismos elas se realizam com facilidade, fazendo uso, provavelmente, da energia que obtêm com a metabolização da matéria orgânica. Neste caso, a solubilização dos fosfatos se dá independentemente da demanda específica de fósforo dos microrganismos envolvidos e passa a ser proporcional às quantidades de rocha fosfática existentes bem como, naturalmente, das disponibilidades de matéria orgânica a ser degradada, como fonte de carbono e de energia.

Vários autores têm observado a necessidade da presença de ácidos orgânicos ou de um baixo pH no solo, para que seja possível reduzir a fixação do fósforo pelas partículas de solo, aumentando a disponibilidade do elemento. Gaur (1969) realizou experiências de adição de ácido húmico (extraído do esterco de fazendas tratado com 3% de oxalato de amônio) nas proporções de 1 a 2 por cento de ácido húmico em porções de solo estéril (subsolo arenoso, pH=7,1) resultando um pH de 5,6 a 4,8. Em seguida acrescentava certa porção de fosfato monocálcico - Ca $(H_2PO_4)_2$ - agitando energicamente a mistura e filtrando após uma semana de repouso. Pela medida do fósforo resultante no filtrado, era avaliada a quantidade do elemento que ficou retido por fixação. Os resultados da experiência demonstram claramente que, em baixos valores de pH a fixação é mínima. Conclui o autor que, em baixos valores de pH, o ácido húmico forma complexos com o ferro e o alumínio do solo reduzindo a fixação do fósforo.

Bangar et alii (1985) afirmam que o uso de rocha fosfática como fonte de fósforo fertilizante em solos ácidos é bem conhecido, mas que "não constitui uma fonte eficaz de fósforo para plantações em solos neutros ou alcalinos". "Entretanto" - afirmam eles - "o fósforo do composto enriquecido com rocha fosfática é disponibilizado para plantas em solos de pH acima de 8,5". Suas experiências, realizadas na Índia, utilizaram uma mistura de resíduos de fazenda (folhas de grama e de árvores) e esterco de gado, nas proporções de 7,5 partes para 1, acrescentando mais 1 parte de solo e 0,5 de composto bem fermentado. A essa mistura foram acrescentadas diferentes quantidades de rocha fosfática e o produto final deixado em processo de compostagem por três meses, com reviramentos periódicos aos 5, 10, 15, 30, 45 e 60 dias. Os resultados demonstraram que a proporção de fósforo solúvel em ácido cítrico aumentou consideravelmente com adição da rocha fosfática, atingindo um máximo com 25% de rocha. Entretanto o fósforo solúvel em água diminuiu nas porções que receberam rocha fosfática, o que levou os autores a supor que isso se deva à reação do fósforo solúvel com componentes da rocha fosfática. Apoiaram-se em experiências anteriores demonstrando que quando o fungo *Aspergillus awamori* crescia em um meio contendo rocha fosfática como única fonte de fósforo, observava-se inicialmente um aumento de fósforo solúvel que, posteriormente era convertido a fosfatos di e tricálcicos que eram solúveis em ácido cítrico. Depois de um certo tempo, mesmo o fósforo solúvel em ácido cítrico diminuía, sendo convertido em apatitas não solúveis nesse ácido.

Entretanto, experiências realizadas pelos mesmos autores, (op. cit.) aplicando o composto enriquecido contendo 3,1% de fósforo total (preparado a partir de misturas de composto e rocha na proporção de 7,5:2,5) ao solo cultivado, demonstraram eficiência comparável à do superfosfato e muito superior à do composto não enriquecido. Os autores concluem, finalmente, que "a rocha fosfática é solubilizada durante a compostagem e que a ação solubilizante é devida às substâncias húmicas que possuem atividade quelante". O fato mais surpreendente, nesse trabalho, porém, foi a observação de que a rocha fosfática, quando em proporção superior a 20%, exerce nítida ação inibidora sobre o próprio processo de compostagem, concluindo os autores que componentes da rocha utilizada (denominada *Mussoorie*, procedente da Índia) exerceriam ação tóxica sobre a atividade microbiana quando em altas concentrações.

A inibição causada por excesso de fósforo no meio, independente da possibilidade de efeito tóxico de alguma impureza contida na rocha fosfática, tem sido relatada em experiências com algas de água doce. Hutchinson (1957) em seu famoso tratado de limnologia, refere-se a trabalhos de autoria de Chu, mostrando que o fósforo solúvel, em concentrações relativamente elevadas, pode exercer forte efeito inibidor sobre o crescimento de algas microscópicas, inibição esta que depende também da fonte de nitrogênio utilizada. Assim, quando a fonte de nitrogênio é amônia, a inibição ocorre com concentrações da ordem de 1,8 mg/l de fósforo enquanto que, quando a fonte de nitrogênio é constituída de nitratos as algas toleram concentrações de fósforo até dez vezes superiores. Esses dados vêm reforçar a idéia de que a solubilização de fosfatos por bactérias no adubo é limitada pela concentração de fósforo solúvel atingida no meio que circunda as bactérias, de tal forma que, no início do processo, quando matéria orgânica e rocha fosfática são fornecidas em abundância à cultura bacteriana, a taxa de solubilização deva ser muito alta, decaindo, entretanto, progressivamente, à medida que aumenta a concentração do material solubilizado no meio, até estacionar em um certo valor. Esse valor, por sua vez, pode variar com outros fatores de composição do meio, como por exemplo, a fonte de nitrogênio. Finalmente, o efeito inibidor tenderá a desaparecer quando o adubo for aplicado ao solo, onde as concentrações de fosfato solúvel sofrerão redução por efeito da diluição, o que permitirá a continuação do processo.

Experiências realizadas por Bolan et alii (1994) constaram da aplicação de vários ácidos orgânicos de ocorrência normal em solos (identificados na rizosfera de plantas herbáceas e arbóreas, assim como em serapilheiras e estercos), tais como: málico, láctico, fórmico, acético, oxálico, tartárico e cítrico a amostras de solos de diferentes composições mineralógicas e teores de carbono diversos, testando a solubilização de fósforo. Verificaram que a adsorção de fósforo decresce em presença dos ácidos ocorrendo simultaneamente um aumento da solubilização do fosfato monocálcico ou rocha fosfática. Ao mesmo tempo foi observado que a eficiência agronômica em presença dos ácidos orgânicos foi maior quando empregada a rocha fosfática do que com o fosfato monocálcico. Os autores concluem que "os ácidos orgânicos aumentam a disponibilidade de fósforo nos solos principalmente através da redução da adsorção e aumento na solubilização dos compostos de fósforo".

Hoffland (1992) verificou que exsudações de ácidos málico e cítrico pelas raízes de plantas de nabo em condições de carência de fósforo constituem uma estratégia altamente eficaz para aumentar a tomada de fósforo a partir da rocha fosfática. Foi verificado ainda que a área superficial de rocha fosfática por unidade de volume de solo constitui fator muito importante na solubilização. O mesmo autor, associado a colaboradores (Hoffland et alii 1989) realizara experi-

ências, utilizando cultivos de nabo e girassol para comparar as respectivas capacidades de mobilização da rocha fosfática, bem como o balanço de cátions e absorção de cálcio e nitratos em condições de carência de fósforo, verificando que o nabo era capaz de mobilizar o fósforo da rocha, enquanto que o girassol não. Foi verificado ainda que quando o crescimento era feito em uma solução nutriente completa, tendo nitratos como única fonte de nitrogênio, ambas as espécies absorviam mais ânions nutrientes do que cátions. A dificuldade de obtenção do fosfato da solução nutriente não alterou o padrão de absorção das plantas de nabo, enquanto que o girassol absorveu mais cátions nutrientes do que ânions (a fim de manter o balanço de cargas elétricas) em condições de carência de fósforo, devido a um forte declínio de absorção de nitratos. Em ambas as espécies a absorção do cálcio não foi afetada pelo fosfato na solução nutriente. Em experiências realizadas em vasos, com suprimento de rocha fosfática separado espacialmente de outros nutrientes, o nabo foi ainda capaz de mobilizar o fosfato da rocha. A elevação da concentração de cálcio não afetou essa capacidade. Segundo os autores, essas experiências "indicam que a mobilização do fosfato da rocha pelo nabo não está associada a um excesso de tomada de cátions em relação a ânions e nem a uma elevada taxa de absorção de cálcio".

Experiências anteriores, de outros autores (Bekele et alii, 1983) haviam demonstrado distintos efeitos no padrão de absorção cátion-ânion, de plantas de nabo, no processo de mobilização do fósforo de rocha fosfática. Usando amônia como fonte de nitrogênio, foram absorvidos mais cátions do que ânions para a manutenção do equilíbrio de cargas elétricas, com nítida rejeição dos íons de hidrogênio pelas raízes. A nutrição com amônia, entretanto, resultou em aumento de absorção de fósforo da rocha comparado com nutrição por nitratos, quando a rizosfera era alcalinizada. Permanecia, assim, em aberto a questão das diferenças de padrão de absorção em plantas cultivadas com nitratos como única fonte de nitrogênio, que pudessem explicar as diferenças na mobilização de fosfatos de rocha nessas espécies vegetais. Era necessário considerar, a respeito, as mudanças de padrão induzidas por estress nutricional.

Como conclusão final do trabalho de Hoffland et alii (op. cit.), dizem os autores: "nem o padrão de absorção de íons, nem a quantidade de absorção de cálcio podem explicar satisfatoriamente a capacidade das plantas de nabo de mobilizar fosfato da rocha fosfática. Entretanto, a acidificação da rizosfera em ausência de fósforo, independente da absorção de cátions e ânions nutrientes não pode ser excluída. A esse respeito, deve-se considerar a possibilidade de exsudação de ácidos orgânicos. Exsudação de citratos e ou de malatos já foi demonstrada em plantas de tremoço e alfafa, em condições de ausência de fosfato". Trabalho posterior, desses mesmo autores (Hoffland et alii, 1989), demonstrou a secreção, pelas raízes, de ácido málico e cítrico quando as plantas de nabo foram submetidas a condições de carência de fosfato nutriente.

Experiências foram realizadas por Minhoni et alii (1991), incubando amostras de solo adicionadas de apatita e cinco diferentes fontes de carbono, a saber: glicose, bagaço de cana, palha de soja e de milho e vinhaça, determinando periodicamente o teor de fósforo solúvel e o pH. Verificou-se que, enquanto em ausência de uma fonte de carbono não houve qualquer liberação significativa de fósforo solúvel, em presença de glicose, como fonte de carbono, houve a melhor resposta, seguindo-se a vinhaça, enquanto que os materiais de lenta biodegradação, como bagaço de cana e palhas praticamente não apresentaram resultado (no tempo de duração da experiência). Demonstrou-se ainda que o nitrogênio pode constituir fator limitante ao processo de solubilização.

Trabalho de autoria de Borie et alii (1983), partindo do fato, bem constatado por inúmeros trabalhos, de que bactérias do solo cultivadas *in vitro*, solubilizam fosfatos, enquanto muito menor atenção tem sido dada aos fungos com relação a essa propriedade (somente *Aspergillus e Penicillium* tem sido mencionados como capazes de realizar essas transformações), propõe-se a estudar a população de fungos solubilizadores contida em sete amostras de solos vulcânicos. As experiências revelaram que *Aspergillus niger* e *Botrytis* sp. são particularmente ativos na solubilização do fósforo, desde que haja uma disponibilidade adequada de fontes de carbono orgânico.

MATERIAL E MÉTODOS

Os antecedentes dessas pesquisas foram relatados em publicação anterior (Branco et alii, 1997). O presente trabalho compreendeu as seguintes principais atividades: Isolamento e adaptação de microrganismos solubilizadores de rocha fosfática; Experiências de compostagem com inóculos de microrganismos solubilizadores; Experiências com o fertilizante no campo.

Isolamento e adaptação de microrganismos solubilizadores de rocha fosfática.

Essas experiências constaram de semeaduras de diferentes microrganismos obtidos de ambientes pobres em formas solúveis de fosfatos, tais como: associações de liquens e bactérias formando crostas sobre rochas graníticas nuas; trato intestinal de cupins; porções de solo circundando a própria rocha fosfática em seu lugar de origem, etc., partindo-se do princípio de que, se nesses locais existe uma exuberante proliferação de microrganismos heterotróficos é porque estes têm capacidade de obter o fósforo necessário a partir das fontes insolúveis presentes. Esses fungos e bactérias eram, a princípio, inoculados em meios de cultura orgânicos em que a única fonte de fósforo era constituída pelo fosfato tricálcico ($Ca_3(PO_4)_2$. Sendo insolúvel, este composto formava um precipitado branco tornando o meio gelatinoso translúcido. Ao crescerem, as colônias, digerindo o fosfato tricálcico, formavam um nítido halo transparente em torno de cada colônia, o que era suficiente para que a espécie em questão fosse considerada *solubilizadora de fosfato* (Eira et alii, 1992).

O passo seguinte consistia na adaptação dos microrganismos a um meio de cultura que tivesse, como fonte única de carbono, um extrato do composto a ser utilizado como substrato para preparo do fertilizante (composto de lixo, estrume bovino, ou misturas de estrume de animais com bagaço de cana, etc. Essa adaptação era feita progressivamente, substituindo-se inicialmente 5% da fonte de carbono e depois porcentagens crescentes até a completa substituição, quando então os microrganismos eram considerados aptos a se desenvolver diretamente no composto.

Finalmente, em um caldo de cultura constituído apenas de extrato do composto, acrescido de uréia como reforço da fonte de nitrogênio e rocha fosfática, eram inoculados os microrganismos selecionados submetendo-os a intensa aeração que garantia a sua rápida multiplicação formando uma massa de microrganismos a

qual era removida por sedimentação, constituindo o inóculo a ser posteriormente diluído em água para aplicação sobre as leiras de composto.

Experiências de compostagem.

Nesta fase, eram preparados silos com aproximadamente um metro cúbico do composto para estudos comparativos de eficiência da solubilização e atividade biológica em geral. Em geral, um dos silos era preenchido somente com o composto (controle), outros com o composto adicionado de rocha fosfática, uréia e diferentes espécies de microrganismos isolados e adaptados. Periodicamente eram realizados testes para a avaliação de solubilização (solubilidade ao ácido cítrico), atividade microbiológica (medidas de concentração de carbono orgânico, consumo de oxigênio, estabilidade relativa do azul de metileno) e contagens microbianas ao microscópio. Em geral esses testes eram apenas qualitativos e tinham como objetivo: 1^0)-avaliar o efeito dos microrganismos inoculados sobre a disponibilização do fósforo e 2^0)-avaliar o efeito dos microrganismos sobre a eficiência do processo de compostagem ou decomposição orgânica.

Experiências com o fertilizante no campo.

Estas experiências, que estiveram sempre cargo da EMBRAPA - - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, do Ministério da Agricultura e Abastecimento, desde 1994 até o presente, assim como de laboratórios particulares, constaram de:

A. Plantio de milho, tomate indústria e cenoura.

Previamente foram executadas análises do solo, antes do plantio de milho, tomate indústria e cenoura. Em todos os experimentos utilizou-se o delineamento em blocos casualizados completos e os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância e as médias testadas pelo teste de Turkey a nível de 5%. Os resultados obtidos referem-se apenas a dados de produtividade conseguidos em cada experimento, bem como as principais características dos mesmos.

B. Análises foliares.

Para maior simplicidade, o composto preparado pelas técnicas acima descritas, com emprego de microrganismos solubilizadores de fósforo será denominado "BioAtivo" denominação que está sendo registrada para fins comerciais.

Foram realizados testes de comparação do adubo químico com o composto enriquecido para os seguintes cultivos: soja, milho, feijão, *Brachiaria brizantha*, coast croos, uva e cana de açucar. As experiências foram realizadas em um latossolo vermelho escuro, com irrigação através de pivô central e sequeiro. Foram aplicados, para efeito de comparação, 350 kg de formulação comercial 5-30-15 de $N:P_2O_5:K_2O$ por hectare, em comparação com a aplicação da mesma quantidade do composto enriquecido pelo método descrito, granulado, e com 400 kg do BioAtivo, porém farelado. Os parâmetros avaliados foram: altura das plantas, número de plantas por metro, número de vagens cheias e vazias por planta, número de grãos por vagem, massa de 100 sementes e produção de grãos, no caso da soja.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Isolamento e adaptação dos microrganismos.

Várias espécies de bactérias e de fungos revelaram grande capacidade de solubilização do fosfato, em meios de cultura contendo fosfatos insolúveis como única fonte de fósforo. As tentativas de identificação das espécies ou mesmo dos gêneros bacterianos foram, até agora, não conclusivos ou duvidosos. Entre os fungos foram identificados (a maior parte confirmados por especialistas do Instituto de Botânica de São Paulo que gentilmente se dispuseram a examinar nossas culturas) até agora: *Acrothecium, Rhinotrichum(?), Trichothecium, Harposporium, Oidium, Aspergillus, Penicillium, Cunninghamella.* Os gêneros *Fusarium* e *Pachybasium* apareceram em placas de meio de cultura com excelente halo de solubilização do fósforo, porém associados a bactérias, não tendo sido possível separá-las. Foram também realizados testes com as bactérias isoladas de crescimento em meio de cultura sem nitrogênio, a fim de verificar a sua eventual capacidade de fixar nitrogênio do ar, revelando que a maior parte das espécies isoladas demonstravam também essa capacidade (esses resultados foram submetidos à Dra. Döberheiner que, gentilmente, nos atendeu em seu laboratório da EMBRAPA, no Rio de Janeiro, demonstrando grande interesse em nossos resultados).

As espécies que apresentavam maior capacidade de dissolver fosfatos e de fixar nitrogênio foram cultivadas, sob intensa aeração, em caldo formado por extrato de composto acrescido de rocha fosfática e uréia, dando origem a uma massa microbiana a qual foi filtrada e parcialmente secada, formando blocos de tamanho variável que, embrulhados em folha de alumínio, permaneciam ativos por até um ano, em geladeira.

Experiências de compostagem

Essas experiências revelaram um fato surpreendente. Algumas vezes, o composto inoculado com uma espécie bacteriana de alta capacidade solubilizadora de fósforo, demonstrava uma atividade biológica e uma densidade de microrganismos ativos muito menor que o composto ao qual não havia sido adicionado qualquer inóculo ou rocha fosfática. Suspeitando que se tratasse de ação tóxica, passamos a inocular a bactéria em questão em meio de cultura semeado com outras bactérias decompositoras obtidas do próprio composto. Verificou-se, assim, que algumas das bactérias que apresentavam mais elevada capacidade solubilizadora de fosfato, formavam, nas placas de cultura, um "halo de inibição" característico da produção de antibióticos. Essa prática passou, desde então, a constituir uma rotina, de modo a eliminar as bactérias que apresentassem esse poder inibidor.

A inoculação, no composto de lixo urbano, de uma cultura mista de bactérias e fungos solubilizadores de fósforo produziu, em 15 dias de fermentação, até 38,7% de fosfato solúvel. Com composto de esterco animal obteve-se até 40% de solubilização. Algumas fontes bibliográficas mencionam resultados de até 80% de solubilização, porém esse dado necessita alguma ponderação:

1^0) - Os resultados citados nesses trabalhos referem-se, em geral, à solubilização obtida *no solo*, e não num fertilizante orgânico. No fertilizante é possível, inclusive, que a alta concentração de fosfato obtida seja inibidora do desenvolvimento das próprias bactérias

que o solubilizam, o que ocasionaria a parada do crescimento bacteriano e, portanto, do processo de solubilização. Após a mistura desse adubo no solo, a concentração dos fosfatos - tanto solúveis quanto insolúveis - se reduziria, favorecendo, possivelmente, o reinicio do processo de solubilização.

2^0) - A maior atividade bacteriana - não só a sua taxa de reprodução, como também o seu metabolismo geral e, portanto, a eficiência nos processos de utilização de nutrientes, como o fósforo - depende de uma série de substâncias, ou fatores limitantes, variáveis de uma para outra espécie, as quais, se adicionadas ao meio de cultura - ou ao próprio adubo - aumentarão, sem dúvida, a capacidade solubilizadora da própria bactéria que está sendo utilizada. Serão necessárias pesquisas específicas para essa averiguação.

3^0) - A conveniência de ser mantido um pH elevado, no adubo, possivelmente reverta, em parte, a solubilização atingida graças à atividade bacteriana. A solubilização do fosfato de cálcio é estreitamente dependente do pH. Um pH baixo, provocado, como já vimos, pela presença de ácidos húmicos, pode, por si só, ser responsável pela solubilização química do fósforo, mas é inconveniente para o solo, como para as próprias bactérias.

Experiências no campo

A – Resultados obtidos nas experiências realizadas pela EMBRAPA (Fontes, 1996; Oliveira et alii, 1998) com milho, tomate, cenoura, arroz e feijão.

- Em termos de produção medida em toneladas por hectare, não houve diferença estatisticamente significativa entre o solo cultivado com aplicação do composto organofosfatado e o adubo químico convencional, sendo que ambos apresentaram produção significativamente maior que o solo que não recebeu nenhum adubo;

- A produção de arroz e feijão medida em termos de: altura das plantas, número de plantas por metro, número de grãos por vagem, massa de 100 sementes e produção de grãos foi equivalente nas áreas adubadas com o organofosfatado e com o químico convencional sendo ambas sempre maiores que nos terrenos não adubados.

B – Resultados de análises foliares realizadas por outros laboratórios em diferentes fazendas da região de Goiás.

- feijão: tratado com o composto organofosfatado, revelou a presença de quantidades superiores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, zinco, sódio e molibdênio e inferiores de ferro, cobre e manganês que o tratado com adubo mineral. O custo da adubação foi 35,5% inferior;

- soja: tratada com composto organofosforado apresentou teores de nitrogênio 12,2%, fósforo 8,3% e potássio 1,17% superiores que o tratado com fertilizante mineral. O custo da adubação organofosfatada foi 34% menor;

- milho: as quantidades de nitrogênio foram 17,4%, de fósforo 21,4%, potássio 6,4%, zinco 51,08% e a produtividade por área 17% superiores ao das áreas adubadas com adubos químicos;

- *Brachiaria bizantha*: adubada com organo fosfatado apresentou teores de proteínas 19,75% maiores que as plantas adubadas com químicos e um custo 40,2% menor. Resultados semelhantes foram obtidos com plantios de capim mombaça;

- Uva: as plantas adubadas com o composto organofosfatado apresentaram teores de nitrogênio 11,7%, fósforo 27,3%, potássio 4,8% maiores que as plantas que receberam adubo mineral, além de cachos visualmente maiores e maior número de cachos por pé;

- Capim coast-cross: adubado com o composto organofosfatado apresentou teores de proteínas na folha 28,5% superiores ao adubado com químicos.

CONCLUSÕES

As principais conclusões a serem extraídas do presente estudo são as seguintes:

1. É evidente o fato de que uma atividade microbiana nos processo de compostagem de lixo municipal ou resíduos agropecuários permite a solubilização da rocha fosfática.

2. Os microrganismos envolvidos nessa atividade são bactérias e fungos saprófitos que, em ambiente de carência de fósforo, são capazes de solubilizar formas insolúveis de fosfatos, tornando o fósforo disponível para o crescimento bacteriano e para o desenvolvimento de plantas superiores. Para o desenvolvimento dessa microflora saprófita é indispensável a presença de matéria orgânica como fonte de carbono e de energia, constituindo os compostos orgânicos um substrato muito favorável a essa atividade. Dessa forma, a adição de rocha fosfática e de inóculo microbiano misto de espécies solubilizadoras do fósforo pode dar origem a um fertilizante organo-fosfatado de baixo custo, alta eficácia e que contribui para solucionar o problema da disposição de lixos orgânicos municipais ou rurais.

3. Várias das espécies microbianas capazes de solubilizar eficazmente o fósforo são, também, fixadoras de nitrogênio, contribuindo para o enriquecimento do solo nessa substância.

4. Algumas das espécies bacterianas solubilizadoras de fósforo produzem toxinas ou antibióticos de efeito negativo sobre o processo de compostagem, reduzindo a atividade biológica de decomposição. Esse fato, além de muito importante na seleção dos microrganismos a serem empregados no processo de solublização do fósforo, poderá explicar alguns fenômenos de inibição mencionados na bibliogrfia.

5. O fertilizante resultante do processo descrito apresenta eficiência, no campo, idêntica ou superior, em termos de produtividade, à apresentada pelos adubos químicos convencionais, além de beneficiar significativamente a composição foliar especialmente no que diz respeito aos teores de proteínas, fator importante para a qualidade de gramíneas forrageiras. Além disso, o custo demonstrou-se sistematicamente inferior ao da adubação química. É de se prever ainda que com a continuidade de sua aplicação, resulte, a mais longo prazo, um aumento do teor de matérias húmicas do solo, contribuindo para sua melhor estruturação e permeabilidade.

6. Após a comprovação da eficiência agronômica do produto resultante

desta tecnologia, o Ministério da Agricultura e do Abastecimento emitiu Portaria de número 63 (14/5/96) classificando-o como "fertilizante fosfatado organo mineral", denominação que posteriormente (1999) foi alterada para "fertilizante organo fosfatado".

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bangar, K.C., Yadav, K.S., Mishra, M.M., 1985. Transformation of rock phosphate during composting and the effect of humic acid. *Plant and Soil*, (85): 259-266.

Barbosa, D.A., 1980. *Fertilizantes Fosfatados - Caracterização da Solubilidade e Adequação aos Solos Brasileiros.* Seminário Nacional sobre Política de Fertilizantes.

Barrett, T. J. , 1947. *Harnessing the Earthworm.* Shields Publications.

Bekele, T., Cino, B.J., Ehlert, P.A.J., Van der Maas, A., Van Diest, A., 1983. An evaluation of plant-borne factors promoting the solubilization of alkaline rock phosphates. *Plant and Soil*, (75): 361-370.

Bolan, N.S., Naidu, R., Mahimairajara, S. e Baskaran, S., 1994. Influence of low-molecular-weight organic acids on the solubilization of phosphates. *Biol Fertil Soils* 18: 311-319.

Borie, F., Quinteros, J.Q., Aguilera, M.S., 1983. Bioquimica de suelos derivados de cenizas volcánicas. IV. Solubilización de fosfatos por hongos del suelo. *Agricultura Tecnica*, 43 (4): 371-376.

Branco, S.M., 1971. Noticiário bibliográfico sanitário - Remoção de fósforo sem tratamento terciário. *Rev. DAE*, 31 (82):9-10.

Branco, S.M., Cavinatto, V.M., Murgel, P.H., 1997. Ecofértil: novo conceito de fertilizante. *Revista Limpeza Pública*, no 45.

Dias Correia, A.A., 1980. *Bioquímica nos Solos, nas Pastagens e Forragens.* Fundação Calouste Gulbenkian.

Eira, A et alii, 1992. Solubilização microbiana de fosfatos. *Microbiologia do Solo.* Soc. Bras. De Ciência do Solo.

Estado de São Paulo, 1985. *Biotecnologia em São Paulo: Recomendações para uma Política.* Imprensa Oficial do Estado.

Fontes, R., 1996. *Avaliação Técnica da Eficiência Agronômica do Produto Produzido pela Ecofértil.* EMBRAPA, CNPH.

Gaur, A.C., 1969. Studies on availability of phosphate in soil as influenced by humic acid. *Agrochimica*, 14 (1):63-65.

Fuhs e Chu, 1975 (apud Terán, F., *Remoção de Fósforo Mediante Modificação do Processo de Lodos Ativados.* Escola de Engenharia de São Carlos, USP.

Hoffland, E., 1992. Quantitative evaluation of the role of organic acid exudation in the mobilization of rock phosphate by rape. *Plant and Soil*, (140): 279-289.

Hoffland, E., Günter, R., Findenegg, R., Nelemans, J.A., 1989. Solubilization of rock phosphate by rape. II. Local root exudation of organic acids as a response to P-starvation. *Plant and Soil*, (113): 161-165.

Hoffland, E., Günter, R.F., Nelemans, J.A., 1989. Solubilization of rock phosphate by rape. *Plant and Soil*, (113): 155-160.

Hutchinson, G.H., 1957, *A Treatise on Limnology*, Vol. I. John Wiley & Sons.

Jorge, J.A., 1969. *Solo, Manejo e Adubação.* Melhoramentos.

Le Tacon, F., 1985. Les mycorrhizes: une coopération entre plantes et champignons. *La Recherche*, 16 (vol. 16): 624-632.

Marson, H, 1971. The removal of phosphates from sewage effluent. *Water Treatment Journal* 7:309-315.

Maximov, N. A., 1948. *Fisiología Vegetal.*ACME Agency.

Meyer, B.S., Anderson, D.B., 1958. *Plant Physiology.* D. Van Nostrand Co.

Minhoni, M.T.A., Cardoso, J.B.N., Eira, A.F., 1991. Efeito de cinco tipos de matéria orgânica na solubilização microbiana de fosfato de rocha. *R. Bras. Ci. Solo* 15: 29-35.

Morini, S., 1982. *Utilitá del lombrico.* Stefano Morini.

Oliveira, I.P., et alii, 1998. *Relatório de organo fosfatado: arroz e feijão.* EMBRAPA.

Primavesi, A., 1964. *A Moderna Agricultura Intensiva - Vol. I.* Editora Pallotti?

Tibau, A.O., 1978. *Matéria Orgânica e Fertilidade do Solo.* Livraria Nobel.

Tryon, C.A. (editor), 1959. *The Ecology of Algae.* (Simposio). University of Pittsburg.

Endereço para correspondência:

Samuel Murgel Branco

Av. Agami, 352 APTº 133
04522-001
São Paulo - SP

Tel. (11) 5052-0542
Fax: (11) 5052-0219

E-mail: smbranco@uol.com.br