

## Atividade enzimática em fosfocompostagem de cama-de-frango com fosfato de rocha e microrganismos solubilizadores de fosfato<sup>(1)</sup>

**Crísia Santos de Abreu<sup>(2)</sup>; Vitória Palhares Ribeiro<sup>(3)</sup>; Christiane Abreu Oliveira Paiva<sup>(5)</sup>; Eveline Anielly Cristelli Soares<sup>(3)</sup>; Marcelo Moraes Maria<sup>(4)</sup>; ; Ivanildo Evódio Marriel<sup>(6)</sup>**

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos de FAPEMIG e Embrapa Milho e Sorgo.

<sup>(2)</sup> Mestranda; Universidade Federal de São João del Rei; Sete Lagoas, MG; [crisiaabreu@gmail.com](mailto:crisiaabreu@gmail.com)

<sup>(3)</sup> Estudante; Centro Universitário de Sete Lagoas; Sete Lagoas, MG.

<sup>(4)</sup> Estudante; Universidade Federal de São João del Rei; Sete Lagoas, MG.

<sup>(5)</sup> Pesquisador (a) Embrapa Milho e Sorgo, Caixa Postal 285, 35701-970, Sete Lagoas, MG.

**RESUMO:** A produção de biofertilizantes constituídos de resíduos orgânicos tem sido utilizada em sistemas agrícolas como ferramenta que concilia produtividade com baixos impactos ambientais e como alternativa para diminuição da dependência externa de fertilizantes, principalmente os fosfatados. O presente estudo teve como objetivo avaliar a dinâmica da atividade enzimática das fosfatases ácida e alcalina durante a compostagem de resíduos agrícolas adicionado de rochas, como indicador do *turnover* de fósforo neste processo. O sistema de compostagem avaliado continha 9 combinações constituídas de uma mistura básica de bagaço de cana e cama de frango, adicionada ou não de dois tipos de rochas (Fosfato de Araxá e Fosfato de Itafós), e na presença ou ausência de dois inoculantes microbianos. A atividade das enzimas foi determinada aos 0, 20, 45 e 90 dias de incubação. Independente da época de amostragem, houve diferenças significativas entre os tratamentos para atividade enzimática, sendo que a adição de rochas, com ou sem inóculo, à mistura básica do substrato aumentou a atividade microbiana. Os resultados evidenciam que a atividade enzimática das fosfatase ácida e alcalina é sensível às condições de incubação e fontes de fosfatos naturais utilizados no fosfocomposto.

**Termos de indexação:** biofertilizantes, fósforo, fosfatase.

### INTRODUÇÃO

O agronegócio brasileiro está entre os mais eficientes em produtividade, porém é altamente dependente do mercado externo no que se refere à demanda por fertilizantes, principalmente os fosfatados. Outro fator associado à utilização de fertilizantes fosfatados é o seu impacto ambiental negativo, especialmente para ecossistemas aquáticos devido à sua alta solubilidade (Oliveira et al., 2009). Como alternativa para otimizar a eficiência na utilização de fósforo (P), a produção de fertilizantes orgânicos à base de resíduos agrícolas constitui uma estratégia atraente para obtenção de

alta produtividade e com baixo impacto ambiental (FAO, 2009).

Dentre as estratégias para agregar valor aos compostos orgânicos, destaca-se a fosfocompostagem, que consiste na adição de rochas naturais como fontes de nutrientes durante o processo de compostagem, solubilizando e disponibilizando P (Altieri, 2002; Biswas & Narayanasamy, 2006; Baldotto et al., 2011) para o meio. Durante a compostagem ocorre a decomposição de materiais orgânicos e intensa atividade microbiana que pode ser acelerada por inoculação com microrganismos biossolubilizadores de P. A atividade total microbiana nestes processos correlaciona-se com a atividade enzimática e *turnover* de nutrientes no composto (Nahas et al., 1994; Mendes et al., 2009). Nestes casos, as fosfatases, grupo de enzimas capazes de catalisar a hidrólise das moléculas de P orgânico, disponibilizam esse nutriente para as plantas (Sylvia et al., 1999; Nannipieri et al., 2011), refletindo o funcionamento eficiente do processo de decomposição de resíduos orgânicos, além de atuarem como bioindicadoras de mudanças ambientais (Badiane et al., 2001; De La Paz Jimenes et al., 2002).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a dinâmica da atividade das enzimas fosfatases ácida e alcalina durante a compostagem de bagaço de cana-de-açúcar e cama de frango adicionado de rochas e bioinoculantes, como indicadora do *turnover* de fósforo neste processo.

### MATERIAL E MÉTODOS

A compostagem foi realizada na Embrapa Milho e Sorgo, no município de Sete Lagoas, MG. Os tratamentos foram constituídos de 9 combinações de resíduos agrícolas (bagaço de cana-de-açúcar e cama de frango) com rocha fosfática (Araxá e Itafós), dispostos em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial 3x3, nas proporções de 9, 7 e 4 kg.m<sup>-3</sup>, respectivamente, de bagaço de cana, cama de

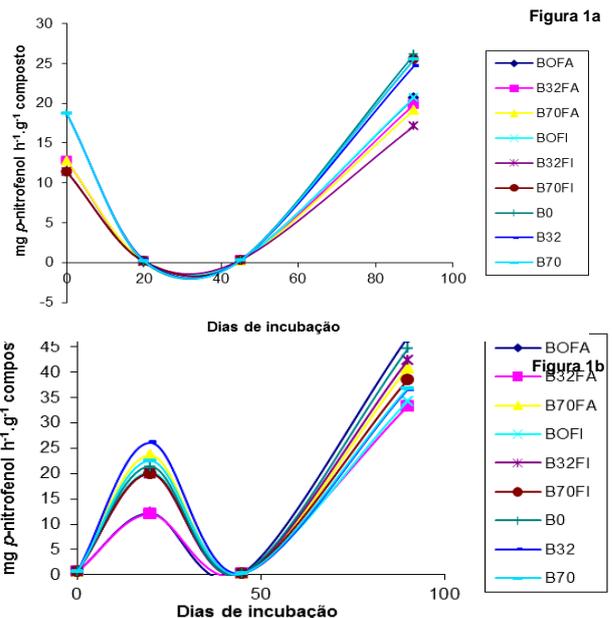
frango e rocha. A esta mistura foram adicionados os inoculantes de microrganismos biossolubilizadores de P (B32 e B70) pertencentes à Coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Milho e Sorgo. Nesta proporção, a mistura inicial possuía, em média, uma relação C/N de 21:1. Os tratamentos utilizados foram:

- T1.** Bagaço de cana-de-açúcar + Cama de frango + Fosfato de Araxá;
- T2.** Bagaço de cana-de-açúcar + Cama de frango + Fosfato de Araxá + B32;
- T3.** Bagaço de cana-de-açúcar + Cama de frango + Fosfato de Araxá + B70;
- T4.** Bagaço de cana-de-açúcar + Cama de frango + Fosfato de Itafós;
- T5.** Bagaço de cana-de-açúcar + Cama de frango + Fosfato de Itafós + B32;
- T6.** Bagaço de cana-de-açúcar + Cama de frango + Fosfato de Itafós + B70;
- T7.** Bagaço de cana-de-açúcar + Cama de frango;
- T8.** Bagaço de cana-de-açúcar + Cama de frango + B32;
- T9.** Bagaço de cana-de-açúcar + Cama de frango + B70.

Foram utilizados recipientes plásticos de 50L com aeração interna que foram preenchidos com 16kg da mistura e umedecidos até 60% da capacidade de campo. Nos primeiros 10 dias de incubação a temperatura das combinações dos compostos organominerais foi monitorada e mensurada diariamente para evitar que a temperatura ultrapassasse 60°C. Amostras dos compostos foram coletadas aos 0, 20, 45 e 90 dias de incubação, peneiradas (malha 2mm) e encaminhadas para as análises químicas e biológicas. A atividade enzimática, expressa em  $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol } \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  composto foi realizada pela determinação da atividade da fosfatase ácida e alcalina no fosfocomposto (Tabatabai, 1994; Freitas et al., 1997). A leitura das amostras foi realizada a 400nm e a concentração de *p*-nitrofenol liberado após reação enzimática foi estimada a partir de uma curva padrão com os níveis de 0; 2,5; 5; 7,5 e 10  $\mu\text{g } p\text{-nitrofenol } \text{mL}^{-1}$ . Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando houve significância, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa Sisvar 5.3 (Ferreira, 2010). Os valores de pH foram mensurados em água e o fósforo solúvel pelo método de Murphy e Riley (1962).

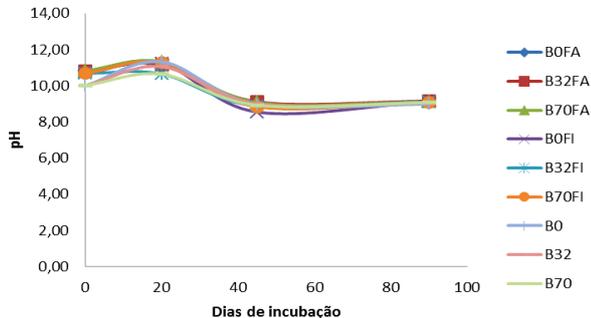
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As atividades enzimáticas da fosfatases ácida e alcalina (**Figura 1a e b**) apresentaram comportamento distinto durante o processo de compostagem, independente dos tratamentos testados.



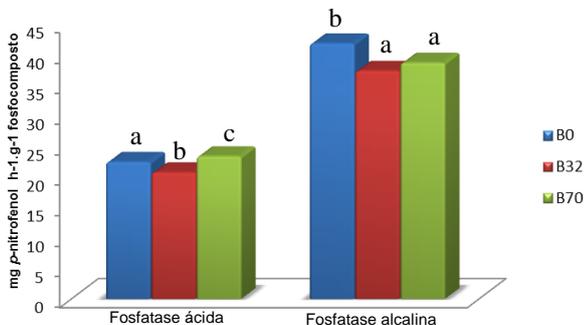
**Figura 1.** Média da atividade enzimática da fosfatase ácida (a) e alcalina (b) em cada tratamento na presença e ausência de fosfatos naturais (FA = fosfato de Araxá, FI = Fosfato de Itafós), com (B32 e B70) ou sem bactérias (B0), durante 90 dias de incubação.

A elevada atividade enzimática da fosfatase alcalina apresentada nos 20 dias iniciais de incubação (**Figura 1b**) pode ser explicada pela disponibilidade de P presente na compostagem e pelo elevado valor inicial de pH (**Figura 2**), bem como pela disponibilidade de energia no sistema (Nannipieri et al., 1979). Aos 40 dias de incubação a atividade das fosfatases sofreu queda, provavelmente devido à imobilização do carbono e fósforo no sistema. Após os 60 dias pode ter ocorrido elevação da atividade microbiana, marcando o início da fase de decomposição dos resíduos. Entretanto, após esta fase, não ocorreu elevação da temperatura da compostagem em nenhum tratamento, ficando em torno de 25°C. Isso pode indicar que o tempo não foi suficiente para o término da compostagem, visto que a relação C:N aos 90 dias foi, em média, de 21:1 em todos os tratamentos e/ou que o recipiente utilizado não preservou a temperatura e esta sofreu perda no processo.



**Figura 2.** Valor médio de pH durante o período de compostagem para os tratamentos na presença e ausência de fosfatos naturais (FA = Fosfato de Araxá, FI = Fosfato de Itafós), com (B32 e B70) ou sem bactérias (B0), durante 90 dias de incubação.

Para a atividade da fosfatase ácida no final do período de incubação, independente do tipo de rocha, observou-se que os tratamentos com os inoculantes (B32 e B70) e sem adição de inoculantes diferiram estatisticamente entre si ( $p < 0,05$ ) e que o B70 superou, em média, os tratamentos B32 e o sem adição de inoculante. Para a atividade da fosfatase alcalina observou-se que o tratamento sem adição de microrganismo diferiu dos tratamentos com adição de inoculante superando, em média, os demais tratamentos (Figura 3).

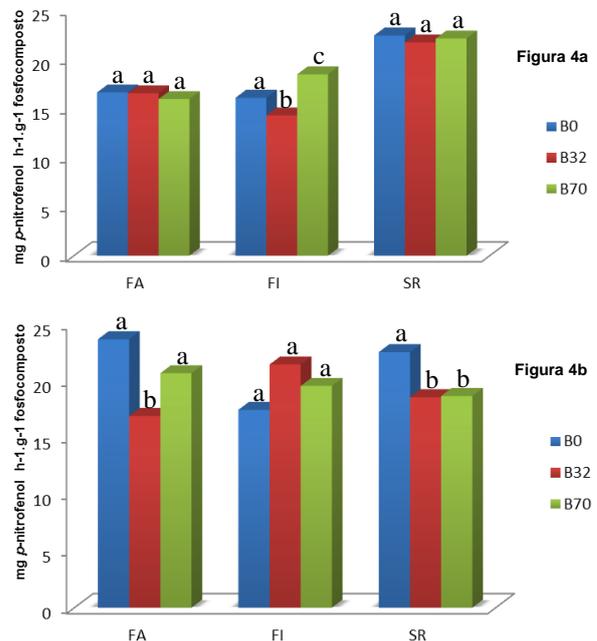


**Figura 3.** Atividade enzimática da fosfatase ácida e da fosfatase alcalina para diferentes fontes de inoculantes no término da incubação da compostagem, independente do tipo de rocha. Médias seguidas pela mesma letra em cada período de incubação não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

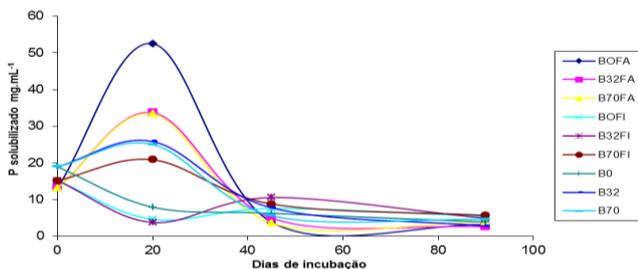
Independente do tempo de incubação, nos tratamentos com adição de fosfato de Itafós (Figura 4a) a atividade da fosfatase ácida apresentou diferença significativa para os valores de  $\text{mg } p\text{-nitrofenol } \text{h}^{-1}.\text{g}^{-1}$  liberados no fosfocomposto para as duas fontes de inoculantes (B32 e B70), bem como para o tratamento sem adição de microrganismo,

embora a maior concentração da enzima, em média, tenha sido observada para o tratamento sem adição de rocha e sem fonte de microrganismo.

A atividade enzimática da fosfatase alcalina foi distinta para as fontes de rocha adicionadas na compostagem, independente do tempo de incubação. No tratamento com adição de fosfato de Itafós não houve diferença entre as fontes de inoculantes (B32 e B70) utilizadas e nem para o tratamento sem adição de microrganismo (B0); para o tratamento sem adição de rocha (SR) observou-se diferença entre o tratamento sem adição de microrganismo, enquanto que no tratamento com adição de fosfato de Araxá a bactéria B32 diferiu da B70 e do tratamento sem adição de microrganismo. Portanto, o tratamento sem inoculante em fosfato de Araxá superou, em média, os tratamentos com inoculante para a concentração de  $\text{mg } p\text{-nitrofenol } \text{h}^{-1}.\text{g}^{-1}$  presente no composto (Figura 4b), o que pode ser explicado pelo aporte inicial de P que foi sendo consumido pelos microrganismos utilizados no decorrer do período de incubação (Figura 5).



**Figura 4.** Atividade enzimática das fosfatases ácida (a) e alcalina (b) para os diferentes microrganismos utilizados no fosfocomposto de acordo com a fonte de fosfato natural adicionada (FA= fosfato de Araxá, FI= fosfato de Itafós) ou não (SR= sem rocha) ao composto. Médias seguidas pela mesma letra em cada fonte de rocha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.



**Figura 5.** Valor médio de fósforo solubilizado para os tratamentos com e/ou sem adição de rocha e com e/ou sem inoculante durante o período de incubação da compostagem.

## CONCLUSÕES

A adição de rocha fosfática diminuiu a atividade enzimática da fosfatase ácida e o uso do inoculante B70 aumentou a sua atividade, o que pode ter ocorrido devido ao aumento da disponibilidade de P na compostagem.

Em geral, a atividade da fosfatase alcalina foi maior nos tratamentos que não receberam o inoculante.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) Milho e Sorgo.

## REFERÊNCIAS

ALTIERI, M. Agroecologia: bases científicas para uma agricultura sustentável. Guaíba: Agropecuária, 2002. 592p.

BADIANE, N. N. Y.; CHOTTE, J. L.; PATE, E.; MASSE, D.; ROULAND, C. Use of soil enzymes to monitor soil quality in natural and improved fallows in semi-arid tropical regions. *Applied Soil Ecology*, Amsterdam, v. 18, p. 229-238, 2001.

BALDOTTO, M. A.; GIRO, V. B.; BALDOTTO, L. E. B.; CANELLAS, L. P.; VELLOSO, A. C. X. Initial performance of pineapple and utilization of rock phosphate applied in combination with organic compounds to leaf axils. *Revista Ceres*, vol.58, n.3, p. 393-401, 2011.

BISWAS; D. R.; NARAYANASAMY, G. Rock phosphate enriched compost: An approach to improve low-grade Indian rock phosphate. *Bioresource Technology*, v. 97, p.2243-2251, 2006.

DE LA PAZ JIMENES, M.; DE LA HORRA, A. M.; PRUZZO, L.; PALMA, R. M. Soil quality: a new index

based on microbiological and biochemical parameters. *Biology and Fertility of Soil*, v. 35, p. 302-306, 2002.

FAO – Food and Agriculture Organization. Use of phosphate rocks for sustainable agriculture. Roma, 2009, 148 p.

FERREIRA, D.F. SISVAR - Sistema de análise de variância. Versão 5.3. DEX.Lavras-MG: UFLA, 2010.

FREITAS, J. R.; BANERJEE, M. R.; GERMIDA, J. J. Phosphate solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not uptake of canola (*Brassica napus* L.). *Biol. Fert. Soils*, v. 24, n. 4, p. 358-364, 1997.

JONES, D. L. Organic acids in the rhizosphere – a critical review. *Plant Soil*, 205:25-44, 1998.

MENDES, I. C.; HUNGRIA, M.; REIS JÚNIOR, F. B. dos; FERNANDES, M. F.; CHAER, G. M.; MERCANTE, F. M.; ZILLI, J. E. Bioindicadores para avaliação da qualidade dos solos tropicais: utopia ou realidade? Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2009.

MURPHY J., RILEY J.P. A modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. *Analytical Chemistry Acta*, v. 27, p.31-36, 1962.

NAHAS, E.; CENTURION, J.F.; ASSIS, L.C. Efeito das características químicas dos solos sob os microrganismos solubilizadores de fosfatos e produtores de fosfatases. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v.18, n.1, p.43-48, jan./abr. 1994.

NANZIPIERI, P.; GIAGNONI, L.; LANDI, L.; RENELLA, G. Role of Phosphatase Enzymes in Soil. In: *Phosphorus in action*. *Soil Biology*, V. 100, part 2, p. 215-243, 2011.

NANZIPIERI, P.; PEDRAZZINI, F.; ARCARA, P.G.; PIOVANELLI, C. Changes in amino acids, enzyme activities, and biomass during soil microbial growth. *Soil Science*, v. 127, p.26-34, 1979.

OLIVEIRA et al. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. *Soil Biology and Biochemistry*, 41:1782–1787, 2009.

SYLVIA, D. M.; FUHRMANN, J. J.; HARTEL, P. G. & ZUBERER, D. A. Principles and applications of soil microbiology. New Jersey, Prentice Hall, 1999. 550p.

TABATABAI, M. A. Soil enzymes. In: WEAVER, R. W.; ANGLE, J. S.; BOTTOMLEY, P. S. *Methods of soil analysis: microbiological and biochemical properties*. Madison: Soil Science Society of America, p.775-883, 1994.