

DESENVOLVIMENTO E NUTRIÇÃO DE MILHO EM SOLO DEGRADADO BIOFERTILIZADO COM FOSFATO NATURAL, ENXOFRE E *Acidithiobacillus*.

Fabio Fernando Araujo
Docente de Microbiologia e Fitopatologia da UNOESTE
E-mail: fabio@unoeste.br

Juarez Delmiro Santos Júnior
Acadêmico do curso de Agronomia da UNOESTE
E-mail: juarezagronomia@yahoo.com.br

Resumo - Foi realizado um experimento em casa de vegetação com cultivo de milho para avaliar a atuação de *Acidithiobacillus* inoculado em biofertilizante, contendo fosfato natural e enxofre. O biofertilizante foi utilizado como adubação fosfatada em um argissolo vermelho amarelo degradado. As plantas foram adubadas com quatro dosagens do biofertilizante e conduzidas durante 50 dias em dois cultivos sucessivos. Foi avaliado a fertilidade do solo, após o cultivo, como também a nutrição e desenvolvimento das plantas. O aumento na concentração de fósforo solúvel no solo proporcionado pela adubação com o biofertilizante ocorreu no segundo cultivo. A aplicação do biofertilizante não promoveu acidificação do solo, contudo aumentou a concentração de enxofre no solo. A taxa de aplicação do biofertilizante para fornecimento de 160 kg de P ha⁻¹ mostrou-se como de melhor desempenho no fornecimento de fósforo e desenvolvimento da planta.

Palavras chave: Solubilização de fósforo, fosfato natural, fertilizantes, inoculação

NUTRITION AND GROWTH OF MAIZE IN DEGRADED SOIL BIOFERTILIZED WITH NATURAL PHOSPHATE, SULPHUR AND *Acidithiobacillus*.

ABSTRACT - An experiment in greenhouse with maize culture was carried through to evaluate the performance of *Acidithiobacillus* inoculated in biofertilizer, with natural fosfato and sulphur. The biofertilizer was used as phosphorus fertilization in one argis soil degraded. The plants had been fertilized with four concentration of the biofertilizer during 50 days in two successive cultivate. The soil fertility was evaluated, after the cultivate as well as nutrition and development of the plants. The increase in the concentration of P-soluble in soil induced for the fertilization with the biofertilizer occurred in the second cultivate. The application of the biofertilizer did not promote acidification of the soil however it increased the sulphur concentration. The rate of application of the biofertilizer for supply of 160 kg of P ha⁻¹ revealed as of better performance in the supply of phosphorus and development of the plant.

Keywords: Phosphorus solubilization, natural phosphate, fertilizers, inoculation.

INTRODUÇÃO

A utilização de práticas agrícolas sustentáveis vem aumentando com o passar dos anos na maioria dos cultivos econômicos. O fósforo disponível as plantas é encontrado com frequência em baixos teores no solo, o que faz com que o agricultor recorra a fertilização química com este elemento. A relação custo benefício desta aplicação muitas vezes é pequena devida as grandes perdas do fósforo solúvel no solo.

A elevação da disponibilidade de fósforo no solo tem sido, em parte, creditada a rizobactérias, as quais incrementam o crescimento das plantas por estímulo na absorção desse elemento. Rodriguez & Fraga (1999) citam que estirpes do gênero *Pseudomonas*, *Bacillus* e

Rhizobium estão entre as bactérias com maior potencial de solubilização de fósforo. Richardson (2000) relatou que a maioria dos solos são pobres em fósforo disponível as plantas e que o fertilizante fosfatado representa um alto custo para o agricultor, desta forma é interessante que se utilize dos microrganismos do solo como inoculante para mobilizar o fósforo em solos pobres. Além da solubilização do fósforo outros mecanismos estão também relacionados com o metabolismo microbiano no solo, como a produção de enzimas (nitrogenase, quitinases e glucanases) (CATTELAN et al., 1999).

A apatita, mineral de fonte não renovável, é comumente utilizada na produção de fertilizantes fosfatados. Esta produção de fertilizantes com fósforo solúvel demanda grande consumo de energia e apresenta custo elevado (STAMFORD et al., 2003). Os altos custos

dos fertilizantes solúveis contribuem diretamente para reduzir sua aplicação por agricultores de baixa renda (SANCHEZ, 2002). Por outro lado a imediata utilização de rochas fosfatadas na forma natural é muito restrita por causa da baixa solubilidade, o que faz necessário a associação deste material com outras fontes de fósforo solúvel (OLIVEIRA et al. 1977).

As fontes minerais dos fertilizantes não ocorrem na natureza em forma diretamente disponível para as plantas e devem ser modificados por processos físicos, químicos ou biológicos para serem fontes efetivas de nutrientes para as culturas (STRAATEM, 2002). Para aumentar a solubilização de fósforo em fontes naturais tem-se conduzido experimentos com a inoculação de microrganismos solubilizadores de fósforo (STAMFORD et al. 2003). As bactérias do gênero *Acidithiobacillus* tem sido estudadas como eficientes solubilizadoras de fosfatos naturais, isto devido principalmente a produção de ácido sulfúrico a partir do enxofre elementar (GARCIA JR., 1991). A partir desta constatação tem sido buscado avaliar o efeito da associação do enxofre inoculado com *Acidithiobacillus* e seu efeito na solubilização de fósforo e disponibilização às plantas.

Neste sentido este trabalho foi conduzido para avaliar o efeito de biofertilizante produzido com a associação de fosfato natural e enxofre inoculado com *Acidithiobacillus* na solubilização de fósforo e desenvolvimento de milho cultivado em solo pobre em fósforo disponível.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no laboratório de microbiologia e casa de vegetação da Faculdade de ciências agrárias da UNOESTE, Presidente prudente, SP. A estirpe de *Acidithiobacillus ferrooxidans*, utilizada no trabalho foi cedida pelo Dr. Newton Stanford do Laboratório de microbiologia do solo da UFRPE, Recife, PE. O fosfato natural utilizado foi a fosforita alvorada (24% de P_2O_5 total; 2% de fósforo solúvel em água).

Para produção do biofertilizante adotou-se a metodologia descrita por Stanford et al. (2004) com modificações. Inicialmente procedeu-se a multiplicação da bactéria em 50 mL de meio de cultura 9K (GARCIA JR., 1991) acondicionado em erlenmeyer (125 mL). O material ficou durante 5 dias em agitador orbital (120 rpm) sob temperatura ambiente. Após este período o caldo (50 mL) contendo a bactéria foi misturado a enxofre elementar na proporção de 1 mL g^{-1} . O enxofre inoculado com *Acidithiobacillus* foi utilizado para peletizar grânulos (< 2mm) de carvão vegetal previamente peneirado, utilizando cola solúvel em água como adesivo. Os grânulos peletizados receberam novamente uma camada de cola e foram misturado ao fosfato natural moído e peneirado (< 0,5mm) na proporção de 20 g de grânulos contendo enxofre e bactéria para 80 gramas de fosfato natural. Este produto ficou em repouso por sete dias e foi então utilizado biofertilizante na adubação do milho.

Tabela 1. Análise de fertilidade química do solo utilizado no experimento

pH CaCl ₂	Mat orgânica. g dm ³	Ca mmol _c dm ³	Mg mmol _c dm ³	K mmol _c dm ³	P mg dm ³	S mg dm ³	V %
4,5	5	9	5	2	4	5	42

O experimento foi conduzido em solo (argissolo vermelho-amarelo) ácido e deficiente em fósforo disponível (Tabela 1). O mesmo foi acondicionado em vasos plásticos com capacidade para 2kg. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com

cinco repetições. Para o plantio do milho foram utilizadas sementes de milho híbrido da cultivar Agromen AGL25O23. Após a semeadura foi efetivado ao lado da semente (2 cm) a incorporação do adubo fosfatado de acordo com os seguintes tratamentos:

- T1 – Testemunha (solo na condição natural)
- T2 – Superfosfato simples (80 kg de P_2O_5 ha⁻¹) – 0,4g por vaso
- T3 - Fosforita natural + enxofre (80 kg de P_2O_5 ha⁻¹) – 0,5g por vaso
- T4 – Biofertilizante granulado (80 kg de P_2O_5 ha⁻¹) – 0,5g por vaso
- T5 – Biofertilizante granulado (160 kg de P_2O_5 ha⁻¹) – 1,0g por vaso
- T6 – Biofertilizante granulado (320 kg de P_2O_5 ha⁻¹) – 2,0 g por vaso
- T7 – Biofertilizante granulado (640 kg de P_2O_5 ha⁻¹) 4,0 g por vaso

O primeiro experimento foi conduzido durante 50 dias em casa de vegetação, no período de novembro a dezembro de 2005, com reposição de umidade necessária de acordo com a capacidade de campo. Após este período a parte aérea das plantas foram cortadas, secadas em estufa de aeração forçada até peso constante e pesadas em seguinte. As folhas secas foram então submetidas a análise de composição nutricional de acordo com

metodologia de Malavolta et al. (1987). Foi efetivado um segundo experimento nos mesmos vasos para avaliação do efeito residual do fósforo aplicado no primeiro experimento. Foram semeadas as sementes de milho sem efetivação de nenhum tratamento sendo as plantas conduzidas novamente por 50 dias. Após este período as plantas foram coletadas seguindo a mesma metodologia anterior. Após a coleta das plantas foram coletadas

amostras de solo (0-10 cm) de cada vaso para análise de fertilidade no laboratório de análises de solo da UNOESTE.

Os dados obtidos no experimento, foram analisados estatisticamente pelo programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000) utilizando o teste de Scott Knott ($p < 0,05$) para comparação de médias dos tratamentos conduzidos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados demonstram que no primeiro cultivo a produção de massa seca e a concentração de fósforo na parte aérea das plantas não foram influenciados pela adubação com o biofertilizante produzido (Tabela 2). Apenas o tratamento com fosfato solúvel (superfosfato simples) aumentou o teor de fósforo na parte aérea nesta primeira avaliação. Os teores de cálcio e enxofre na planta foram incrementados por alguns tratamentos com biofertilizantes. No segundo cultivo a maioria dos tratamentos com biofertilizantes e o superfosfato proporcionaram maiores rendimento de massa seca e concentrações de fósforo na parte aérea (Tabela 3). A maior dose de biofertilizante utilizada (640

kg de P) não proporcionou aumento significativos de massa seca e P na planta. Nenhum tratamento com biofertilizantes teve desempenho superior ao fertilizante solúvel, contrariando o que foi afirmado por Santos (2002) de que o biofertilizante, com enxofre e *Acidithiobacillus*, apresentou resultados superiores as fontes solúveis de fósforo quanto ao desenvolvimento da leguminosa sabiá. Stanford et al (2004) em experimento de adubação com rocha fosfatada e inoculação de *Acidithiobacillus*, encontraram aumento significativo de biomassa seca e P acumulado na parte aérea de caupi nas diferentes dosagens de biofertilizantes utilizadas em cultivo único. Em trabalho com inoculação de milho com fosfato de rocha e o fungo *Aspergillus niger* foi encontrado efeito significativo de dissolução do fosfato insolúvel após 70 dias de cultivo (NAHAS et al., 1994). Utilizando uma mistura de bagaço de cana, fosfato natural e os fungos *A. niger* e *Trichoderma*, Zayed & Abdel-Motaal (2005) encontraram grande concentrações de fósforo solúvel no material após 60 dias de incubação. Estes resultados confirmam que a solubilização do fósforo, por microrganismos solubilizadores, é lenta, necessitando-se desta forma suprir a planta com fonte de fósforo solúvel no início do desenvolvimento.

Tabela 2. Acúmulo de massa seca na parte aérea e composição nutricional do tecido de milho cultivado com diferentes fontes e dosagens de fósforo. Primeiro cultivo.

Tratamentos	Massa seca (g planta ⁻¹)	N (mg planta ⁻¹)	P (mg planta ⁻¹)	K (mg planta ⁻¹)	Ca (mg planta ⁻¹)	S (mg planta ⁻¹)
Testemunha	3,08 a ¹	17,2 a	2,46 b	40,6 a	6,76 c	1,84 b
Superfosfato (80 kg P ha ⁻¹)	3,73 a	18,6 a	5,96 a	42,1 a	9,81 b	2,60 b
Fosforita + S (80 kg P ha ⁻¹)	3,10 a	17,3 a	2,57 b	41,1 a	7,81 a	10,21 a
Biofertilizante (80 kg P ha ⁻¹)	3,90 a	16,4 a	3,12 b	30,8 a	9,76 b	16,4 a
Biofertilizante (160 kg P ha ⁻¹)	4,29 a	22,7 a	3,00 b	42,3 a	11,58 b	14,1 a
Biofertilizante (320 kg P ha ⁻¹)	4,63 a	18,1 a	3,27 b	37,8 a	16,72 a	4,09 b
Biofertilizante (640 kg P ha ⁻¹)	3,49 a	15,7 a	2,09 b	33,2 a	4,89 c	1,74 b

1. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$)

Tabela 3. Acúmulo de massa seca na parte aérea e composição nutricional do tecido de milho cultivado com diferentes fontes e dosagens de fósforo. Segundo cultivo.

Tratamentos	Massa seca (g planta ⁻¹)	N (mg planta ⁻¹)	P (mg planta ⁻¹)	K (mg planta ⁻¹)	Ca (mg planta ⁻¹)	S (mg planta ⁻¹)
Testemunha	0,71 b ¹	17,5 a	1,96 b	14,8 a	2,18 b	1,54 a
Superfosfato (80 kg ha ⁻¹)	1,46 a	34,2 a	4,19 a	21,8 a	5,07 b	3,41 a
Fosforita + S (80 kg ha ⁻¹)	0,92 a	19,5 a	2,15 b	15,7 a	3,54	3,22 a
Biofertilizante (80 kg ha ⁻¹)	1,82 a	31,0 a	3,69 a	18,3 a	9,59 a	3,46 a
Biofertilizante (160 kg ha ⁻¹)	1,82 a	35,5 a	4,19 a	23,0 a	5,61 b	2,92 a
Biofertilizante (320 kg ha ⁻¹)	1,73 a	34,5 a	3,98 a	22,3 a	8,30 a	3,63 a
Biofertilizante (640 kg ha ⁻¹)	1,25 b	28,0 a	2,94 b	22,8 a	5,25 b	2,87 a

1. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$)

A análise do solo efetuada após a coleta das plantas (Tabela 4) revelou que os tratamentos que receberam o fósforo solúvel e biofertilizantes (80, 320 e 640 kg de P

ha⁻¹) incrementaram significativamente os teores de fósforo solúvel no solo. Os tratamentos com biofertilizante também aumentaram os teores de enxofre

no solo, contudo não reduziram o pH. Stanford et al. (2004) observaram efeito no aumento do fósforo disponível no solo, após aplicação do biofertilizante com *Acidithiobacillus*, porém com redução do pH. Os trabalhos citados por Kucey et al. (1989) sobre o uso de *Acidithiobacillus* em adubação fosfatada em culturas são contraditórios, porém os autores concluíram que esta técnica pode ter boas possibilidades de sucesso em pastagens tropicais. Os resultados encontrados quanto aos teores de fósforo na planta, no segundo cultivo, confirma a indicação do uso desta técnica para culturas perenes ou de ciclo longo.

A análise de correlação polinomial possibilitou a elaboração de gráficos apresentados nas figuras 1 (primeiro cultivo) e 2 (segundo cultivo), que representam os efeitos de aplicação das doses de biofertilizantes sobre a concentração de fósforo nas folhas. A relação entre doses de biofósforo e teores de fósforo mostrou-se ser quadrática o que evidencia que a dose 160 kg de P ha⁻¹ seria o limite para aplicação levando-se em conta a absorção do fósforo pela planta. A redução no acúmulo de P e produção de massa seca, encontrada nos tratamentos com maiores dosagens de biofertilizantes, pode ser devido a alguma fitotoxicidade derivada da reação do enxofre em maior concentração no solo.

Tabela 4. Fertilidade do solo submetido a diferentes adubações fosfatadas após dois cultivos sucessivos de milho.

Tratamentos	pH CaCl ₂	M O. g dm ³	Ca mmol _c dm ³	Mg mmol _c dm ³	K mmol _c dm ³	P mg dm ³	S mg dm ³	V %
Testemunha	4,0	5	9	5	1,3	3	4,9	38
Superfosfato (80 kg ha ⁻¹)	3,9	5	7	6	1,1	12	5,3	34
Fosforita natural (80 kg ha ⁻¹)	4,1	5	8	6	1,2	5	20,2	39
Biofertilizante (80 kg ha ⁻¹)	4,3	7	9	8	0,9	11	23,3	44
Biofertilizante (160 kg ha ⁻¹)	4,3	5	9	5	1,4	4	16,8	41
Biofertilizante (320 kg ha ⁻¹)	4,2	5	8	7	1,0	8	31,8	41
Biofertilizante (640 kg ha ⁻¹)	4,2	5	7	5	1,2	10	40,1	37

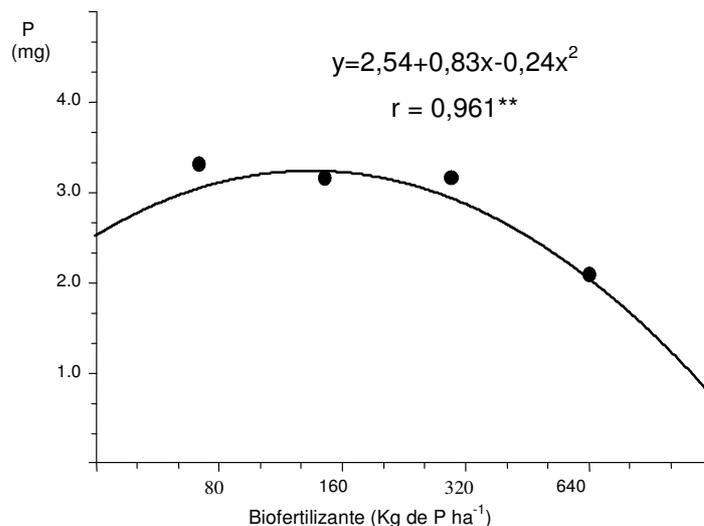


Figura 1. Teor de fósforo na parte aérea do milho no primeiro cultivo em função das doses de biofertilizante

O aumento da biodisponibilidade de P no solo após inoculação de rizobactérias e adição de rochas fosfatadas, com aumento da concentração de P na planta já foi relatado por vários autores (HAN et al. 2006). Em trabalho com treze solos de diferentes classes e tipos, Nahas et al. (1994 a) concluíram que de 7,1 a 55,6% das bactérias isoladas solubilizaram fosfato. Isto comprova que alguns solos possuem concentração elevada de bactérias solubilizadoras de fósforo. Entretanto, a

atividade de solubilização, exercida pelas bactérias, tem sido influenciada pela presença da planta (BARROTTI & NAHAS, 2000). A utilização de rochas fosfatadas inoculadas com *Acidithiobacillus* e enriquecida com enxofre pode ser uma alternativa viável para disponibilização gradual de fósforo biodisponível em solos tropicais degradados, podendo ser associado com cultivos perenes.

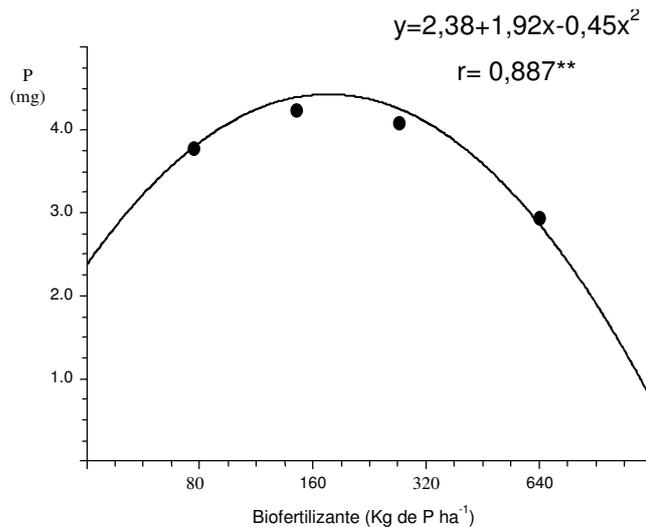


Figura 2. Teor de fósforo na parte aérea do milho no segundo cultivo em função das doses de biofertilizante

CONCLUSÕES

- O biofertilizante proporcionou aumento na disponibilidade fósforo solúvel no solo e na composição do tecido foliar do milho no segundo cultivo.
- A taxa de aplicação do biofertilizante para fornecimento de 160 kg de P ha⁻¹ mostrou-se como de melhor desempenho no fornecimento de fósforo e desenvolvimento da planta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

STANFORD, N. P.; SANTOS, C.E.R.S; STANFORD JR. W. P; DIAS, S.L. Biofertilizantes de rocha fosfatada com *Acidithiobacillus* como adubação alterantiva de caupi em solo com baixo P disponível. **Revista analytica**, n. 9, p. 48-53. 2004.

STANFORD, N. P.; SANTOS, P.R.; MOURA, A.M.M.F.; SANTOS, C.E.R.S; FREITAS, A.D.S. Biofertilizers with natural phosphate, sulphur and *Acidithiobacillus* in a soil with with low available-P. **Scientia Agricola**, v. 60 p. 767-773, 2003.

BARROTI, G.; NAHAS, E. População microbiana total e solubilizadora de fosfato em solo submetido a diferentes sistemas de cultivo. **Pesq. agropec. bras.**, v. 35, p.2043-2050, 2000.

NAHAS, E.; FORNASIERI, D.J.; ASSIS, L.C. Resposta a inoculação de fungo solubilizador de fósforo em milho. **Sci. agric.**, v. 51, p. 463-469, 1994.

GARCIA JR. O. Isolation and characterization of *Acidithiobacillus thiooxidans* and *Acidithiobacillus*

ferrooxidans from mineral mines. **Revista Brasileira de Microbiologia**, v. 20, p.1-6, 1991.

ZAYED, G.; ABDEL-MOTAAL, H. Bio-production of compost with low pH and high soluble phosphorus from sugar cane bagasse enriched with rock phosphate. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 21, p.747-752, 2005.

RICHARDSON, A. E. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.28, n.9, p. 897-906, 2000.

CATTELAN, A. J. et al. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to rpomote early soybean growth. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v.63, p.1670-1680, 1999.

RODRIGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology advances**, v. 17, p. 319-339, 1999.

SANTOS, K.S. Atuação de fosfato natural com adição de enxofre com *Acidithiobacillus* na solubilização de fósforo e no desenvolvimento de sabiá (*Mimosa caesalpinhaefolia*) em solo de tabuleiro. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2002. 68p. (Dissertação – Mestrado)

OLIVEIRA, M.C.C.; LOPES, E.S.; SILVA, M.T.R.; NAGAI, R. Influência de oxidação microbiológica do enxofre na solubilização da apatita de Araxá. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.1, p.24-28, 1977.

HAN, H.S.; SUPANJANI; LEE, K.D. Effect of co-inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. **Plant Soil Environ.**, v. 52, p.130-136. 2006.

KUCEY, R.M.N.; JANZEN, H.H.; LEGGET, M.E.
Microbially mediated increases in plant-available
phosphorus. **Advances in Agronomy**, New York, v.42, p.
199-228, 1989.

SANCHEZ, P.A. Soil fertility and hunger in africa.
Science, v. 295, p.2019-2020, 2002.

STRAATEM, P. van. **Rocks for crops: Agrominerals of
sub-Saharan africa**. Nairobi: ICRAF, 2002. 338p.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do
Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL
DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE
INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São
Carlos. **Anais**. São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.