

**UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E BIOLÓGICAS**

CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA, MACRO E MICRONUTRIENTES
DE DIFERENTES FASES DE MATURAÇÃO DO BIOFERTILIZANTE
BOKASHI**

FLAVIANE EVA MAGRINI

CAXIAS DO SUL

2008

FLAVIANE EVA MAGRINI

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA, MACRO E MICRONUTRIENTES
DE DIFERENTES FASES DE MATURAÇÃO DO BIOFERTILIZANTE
BOKASHI**

“Monografia apresentada ao Curso de Ciências
Biológicas da Universidade de Caxias do Sul,
como requisito a obtenção do grau de
bacharel.”

Orientação: Dr^a. Valdirene Camatti Sartori

Colaboração: Jaqueline Correa Torves & Raquel Finkler

Caxias do Sul

2008

Eu sustento que a ciência só tem finalidade se servir
para aliviar a miséria da existência humana.

Bertold Brecht

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à mãe natureza, por ter me proporcionado à vida e o estudo da mesma, juntamente com suas interações entre os seres vivos e o meio ambiente.

Ao meu marido e companheiro Eduardo Vanelli, pelo amor, paciência, pela ajuda, pelos momentos difíceis e também pelos bons momentos que passamos juntos durante esses seis anos e meio de graduação.

Às minhas amigas de São Marcos, Aline Pedrotti, Vanessa Moresco, Simone da Silva, Daísa Renosto, Patrícia Vanelli, pelos grandes momentos de amizade.

À Débora de Oliveira, Vânia Rech, Juliana Martins, Daiane Zampieri, Carolina Dal Piaç e Eloísa Marchetto pela boa companhia durante as aulas e pela amizade que vai muito além da universidade.

À professora Dr^a Rute Terezinha da Silva Ribeiro, quem me acolheu no Laboratório de Controle Biológico de Doenças de Plantas e a quem eu devo boa parte do meu conhecimento.

Agradeço de coração à professora Dr^a Valdirene Camatti Sartori, quem me ensinou muito sobre a vida, me mostrou que a maior virtude do ser humano é a humildade e não seus títulos conquistados. Não tenho nem palavras para agradecê-la, sou muitíssima grata.

Aos amigos e colegas de laboratório, Edna Bertin, Morgana Delazeri, Giovana Debastiani, Cassiano Alves Marchett, Liziane Bertotti Crippa, Juliano Gaio pelo companherismo, à Márcia Toigo Angonese pelas boas massagens.

À todos do Laboratório de Controle de Biológico, principalmente às técnicas Márcia Pancera e Lucia Vargas pela amizade e ajuda, às funcionárias Rosângela Festugato e Marielsa Secco pelas boas risadas.

À Universidade de Caxias do Sul pelo auxílio à bolsa de iniciação científica.

Aos meus pais Luis Antônio e Maria Magrini, aos meus irmãos, principalmente à minha irmã amigona Elisângela Magrini e, aos meus sobrinhos Maria Eduarda e Eduardo

Zílio pelas brincadeiras, à minha segunda família Celso e Ângela Vanelli pela compreensão e ao meu cunhado especial Ricardo Vanelli.

À minha cachorra “Preta”, minha companheira fiel de monografia, quem me esquentou os pés durante as intermináveis noites escrevendo.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE TABELAS	8
RESUMO	9
ABSTRACT	10
1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 Uso de biofertilizante na agricultura	13
2.2 Biofertilizante Bokashi	17
2.3 Importância dos microrganismos em biofertilizantes	18
2.4 Tempo de maturação do biofertilizante	20
2.5 Nutrição mineral	22
3. MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1 Biofertilizante Bokashi	25
3.2 Tempo de maturação e análise das amostras	25
3.3 Identificação dos isolados fúngicos	26
3.4 Determinação do pH e umidade	26
3.5 Determinação de fósforo e nitrogênio	26
3.6 Digestão das amostras	27
3.6.1 Fósforo	27
3.6.2 Nitrogênio	27
3.7 Determinação de K, Ca, Zn, Fé e Mg	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	28
4.1 Análise da concentração de macro e micronutrientes, umidade e pH do biofertilizante Bokashi em diferentes fases de maturação	28
4.2 Análise quantitativa e qualitativa da microbiota do biofertilizante Bokashi em diferentes fases de maturação	33
5. CONCLUSÕES	38
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Concentração de macro e micronutrientes em diferentes fases de maturação do biofertilizante Bokashi	29
TABELA 2: Isolados fúngicos identificados nas amostras de Bokashi em diferentes fases de maturação	37

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1:** Teor de umidade das amostras de bokashi em diferentes fases de maturação 31
- FIGURA 2:** Valores de pH das amostras de Bokashi nas diferentes fases de maturação 32
- FIGURA 3:** Unidade formadora de colônia (UFC) do biofertilizante Bokashi em diferentes fases de maturação 33
- FIGURA 4:** Aspecto macroscópico das colônias de microrganismos isolados das amostras de Bokashi com 15 dias (a,b,c); 30 dias (d,e,f); 60 dias (g,h,i) e 85 dias (j,k,l) nas 1, 2 e 3° diluições respectivamente 35
- FIGURA 5:** Fungos identificados nas diferentes fases de maturação do biofertilizante Bokashi. *Fusarium* sp. (a); *Rhizopus* sp. (b); *Cladosporium* sp. (c); *Penicillium* sp. (d); *Curvularia* sp. (e); Mycelia sterilia (f); *Aspergillus* (g) e *Dactylium* sp. (h) 37

RESUMO

Atualmente, diversas práticas alternativas vêm sendo testadas e adotadas na agricultura a fim de reduzir o uso de produtos químicos, melhorando a qualidade do ambiente e a saúde dos agricultores e consumidores. Uma das alternativas é o uso de fertilizantes orgânicos ou biofertilizantes, os quais incorporam ao solo matéria orgânica e, nutrientes essenciais para o desenvolvimento das plantas, contribuindo assim para minimizar o impacto ambiental. O objetivo deste trabalho foi analisar a concentração de macro, micronutrientes, pH, umidade e a microbiologia de diferentes fases de maturação do biofertilizante Bokashi. A partir da análise das amostras observamos que a maioria dos nutrientes avaliados tiveram seu valor mais expressivo aos 60 dias da maturação da compostagem. As variações de pH e umidade também se estabilizaram aos 60 dias, demonstrando que neste período ocorreu maior degradação da matéria orgânica com liberação de elementos. A análise das amostras permitiu quantificar e identificar as unidades formadoras de colônias (UFCs), sendo as leveduras o grupo mais representativo, seguido pelas bactérias e fungos. Os fungos identificados pertencem a diferentes gêneros, destacando-se a presença de *Aspergillus* sp., *Dactylium* sp. e *Rhizopus* sp. na fase final de maturação do composto. Os resultados obtidos permitem concluir que ocorrem oscilações nas populações de microrganismos, pH e umidade do biofertilizante avaliado, demonstrando uma intensa atividade biológica no composto com a liberação de diversos nutrientes para o meio.

ABSTRACT

Currently, several practical alternatives have been tested and adopted in agriculture to reduce the use of chemicals, improving the quality of the environment and health of farmers and consumers. One alternative is the use of organic fertilizers or biofertilizers, which incorporates the soil and organic matter, essential nutrients for the development of plants, helping to minimize the environmental impact. The purpose of this study is to analyze the concentration of macronutrients and micronutrients, pH, humidity and the microbiology in different stages of maturation of Bokashi biofertilizer. From the analysis of samples it was found that most of the nutrients had its most expressive value at 60 days of maturity of composting. The variations in pH and humidity are also stabilized at 60 days. Demonstrating that in this period more degradation of organic matter occurred with release of nutrients. From the analysis of samples it was possible to quantify and identify the colony forming units (UFC), in which the yeast is the most representative group, followed by bacteria and fungi. The identified fungi belong to different genus, which points out the presence of *Aspergillus* sp., *Dactylium* sp. e *Rhizopus* sp. at the final stage of maturation of compost. The results showed that oscillations occur in populations of microorganisms, pH, humidity in the biofertilizer in question, demonstrating an intense biological activity in the compound with the release of various nutrients to the environment.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, a agricultura mundial vem sendo questionada quanto aos seus rumos, devido aos modelos de produção convencional, onde a utilização de agrotóxicos é quase sem controle, provocando riscos indesejáveis à saúde e aos ecossistemas.

Esse padrão tecnológico adotado no meio rural vêm enfrentando problemas de sustentabilidade, devido ao aumento de erosões, solos degradados, rios poluídos, desmatamentos, perda da biodiversidade, plantas enfraquecidas e mais suscetíveis às doenças, alterações climáticas, intoxicação do homem e dos animais e dependência econômica do agricultor às multinacionais.

Em virtude desta problemática, vem crescendo a conscientização mundial dos problemas causados pelos agrotóxicos e pela má utilização dos recursos naturais. Dessa forma, cresce cerca de 10% ao ano no Brasil a procura por alimentos orgânicos, limpos, com menor contaminação do ambiente.

Os sistemas orgânicos almejam a produção de alimentos saudáveis, de alto valor biológico, através de métodos agrícolas que respeitem os processos naturais, diminuam a demanda por insumos externos e reduzam os impactos sobre o meio ambiente, promovendo a qualidade de vida.

Sendo assim, diversas práticas alternativas na produtividade das culturas e no controle de doenças e pragas vêm sendo testadas e adotadas na agricultura alternativa, a fim de reduzir o uso de produtos químicos, melhorando a qualidade do ambiente e a saúde dos agricultores e consumidores.

Uma das alternativas é o uso de fertilizantes orgânicos ou biofertilizantes, os quais incorporam ao solo matéria orgânica, e nutrientes essenciais para o desenvolvimento das plantas, contribuindo assim para minimizar o impacto ambiental e a degradação do solo, com

a redução do descarte de resíduos e diminuindo a emissão de gases de efeito estufa através da reciclagem do esterco bovino.

Além disso, a sua utilização em sistemas agroecológicos é indicada para o controle de pragas e doenças, como adubo foliar ou como bioestimulante através dos mecanismos de indução de resistência das plantas.

Os biofertilizantes são de fácil preparação e o agricultor pode fazer na própria residência, procura-se utilizar materiais acessíveis e de baixo custo, fazendo uma transferência de poder dos cientistas para os agricultores.

Dessa forma, os biofertilizantes são excelentes candidatos para o tratamento em ecossistemas naturais, pois mantêm o equilíbrio da biodiversidade, sendo uma maneira racional e segura na nutrição das plantas e para o controle de doenças e na agricultura alternativa, pois não oferece riscos ao homem e ao meio ambiente.

Este trabalho tem o objetivo de avaliar as variáveis de macro e micronutrientes, pH, umidade, além de quantificar e qualificar a microbiota fúngica, nas diferentes fases de maturação do biofertilizante Bokashi.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Uso de biofertilizantes na agricultura

Nos últimos anos, o sistema de produção orgânica com a utilização de biofertilizantes teve um grande crescimento no Brasil. Devido principalmente, à exigência da população por alimentos saudáveis, sem adição de insumos químicos (Kiss, 2004).

O emprego dos biofertilizantes no Brasil foi iniciado na década de 90, para o controle de doenças, pragas, suprimento nutricional via aplicação foliar e até como ativador do crescimento de plantas (Santos, 1991).

Biofertilizantes são compostos resultantes da fermentação de matéria orgânica de origem animal, resíduos de colheita em geral, rochas moídas, melão e leite na presença ou ausência de oxigênio em um recipiente chamado biodigestor. O resultado desse processo é um sistema de duas fases: sólida, usada como adubo orgânico; e outra líquida, como adubo foliar para o controle de doenças e pragas (Bettiol, 1998).

As aplicações de caldas biofertilizantes têm se difundido como um método de reciclagem de esterco e resíduos orgânicos, dessa forma contribui para minimizar o impacto ambiental, a degradação do solo, reduz-se o descarte de resíduos e diminui a emissão de gases de efeito estufa (Pare *et al.*, 1998).

Os biofertilizantes são compostos bioativos, resíduo final da fermentação de compostos orgânicos, contendo células vivas ou latentes de microrganismos. Esses compostos são ricos em enzimas, antibióticos, vitaminas, toxinas, fenóis, ésteres e ácidos (Medeiros, 2006).

Uma das principais características dos biofertilizantes é a presença de microrganismos responsáveis pela degradação da matéria orgânica, produção de gás e liberação de metabólitos

como hormônios e antibióticos (Bettioli *et al.*, 1998), os quais produzem maior proteção e induzem resistência às plantas contra ataque de agentes externos.

Castro *et al.* (1992) isolaram de um biofertilizante várias leveduras e bactérias, inclusive *Bacillus subtilis*, que é um grande produtor de antibióticos e muito utilizado no controle biológico de doenças de plantas.

Ao ser aplicado ao solo, pode contribuir para a melhoria de alguns atributos físicos como velocidade de infiltração, aeração, armazenagem de água e aceleração da atividade microbiana adáfrica (Alves, 2006). O biofertilizante, na sua forma enriquecida, por ter uma grande variedade de minerais acrescidos, possibilita um melhor equilíbrio nutricional da planta, permite manejo trofobiótico de pragas e doenças, por conferir resistência às condições adversas do meio (Pinheiro & Barreto, 1996).

Os biofertilizantes líquidos são largamente utilizados na produção agroecológica, são formados a partir do peneiramento e filtração do biofertilizante natural. Este produto normalmente é utilizado em aspersão como adubo foliar ou diretamente no solo, junto às raízes. O biofertilizante líquido também pode ser utilizado para nutrir as plantas cultivadas por hidroponia. Na forma líquida, o biofertilizante é assimilado com maior rapidez pelas plantas, o que é extremamente útil para culturas que necessitam grande quantidade de nutrientes em ciclo curto, como algumas espécies olerícolas (Barros & Filho, 2008).

A eficiência da absorção dos nutrientes minerais adicionados a estes fermentados, via aplicação foliar, no caso NPK, chega ser de 1,5 à 30 vezes maior do que quando aplicados via solo. A presença de giberelinas em alguns fermentados aumentou o índice de germinação de sementes de mamão e propiciou a quebra de dormência em sementes de kiwi (Waldemar, 2000).

O esterco fermentado tem uma atividade ainda desconhecida, além dos minerais propriamente dito, ele é capaz de fornecer às plantas substâncias fotorreguladoras, tais como o

ácido indol-acético, giberelinas, citoquininas, além de vários outros aminoácidos que melhoram a taxa de eficiência da fotossíntese.

O emprego de biofertilizantes “supermagro”, produzidos a partir de esterco bovino (Santos, 1992) tem sido uma alternativa viável para pequenos e médios produtores, não só como adubação, mas também no controle de pragas e doenças, e vêm sendo utilizado com sucesso em culturas como pêssego, uva, tomate, batata e hortaliças em geral (Medeiros, 2004). O Supermagro é um biofertilizante foliar desenvolvido no Centro Ecológico de Ipê (RS) e patenteado por Delvino Magro (1994).

Não existe fórmula padrão para a produção de biofertilizantes, receitas variadas vêm sendo testadas e adaptadas por agricultores para diversas finalidades. Segundo Seixas et al. (1980), China e Índia são os maiores produtores e consumidores desta tecnologia, com mais de 150 mil unidades instaladas, abrangendo a produção do biogás ou gás metano CH₄.

Os efeitos dos biofertilizantes no controle de doenças de plantas têm sido evidenciado. Bettiol & Tratch (1997) constataram que os biofertilizantes inibiram o crescimento e a germinação de diversos fungos fitopatogênicos. Deleito *et al.* (2005), obteve efeito benéfico do biofertilizante Agrobio sobre o desenvolvimento de mudas de pimentão e redução da incidência da mancha bacteriana. O Agrobio numa concentração acima de 5% também apresentou ação bacteriostática *in vitro* sobre *Xanthomonas euvesicatoria* (Deleito *et al.*, 2005).

A ação dos biofertilizantes contra insetos é de natureza repelente, devido à substâncias voláteis, como álcoois, fenóis, ésteres e equilíbrio nutricional das plantas (Santos, 2001). De acordo com Medeiros *et al.*, (2004), a utilização de biofertilizantes líquidos exerce efeitos positivos no manejo ecológico de formigas cortadeiras e pragas de hortaliças e de pulgões, cochonilhas, percevejos e ácaros em plantas frutíferas.

Pulverizações de um biofertilizante líquido de fermentação aeróbica, produzido à base

de composto orgânico, em concentrações de 0,5 a 1%, com uso de rocha moída e esterco bovino sobre o solo, têm produzido bons resultados na sanidade e na produção de pepino, berinjela, tomate, alface e pimentão, tanto em estufas quanto em condições à campo. Aplicações desse biofertilizante em associação com o fungo entomopatogênico *Beuveria bassiana* resultaram em uma redução de 42% na sobrevivência do ácaro rajado (*T. urticae*), importante praga de ocorrência em hortaliças e olerícolas (Medeiros *et al.*, 2001). Já o biofertilizante em concentrações de 5 e 50% reduziu significativamente a fecundidade do ácaro *T. urticae* em até 95 % (Medeiros *et al.*, 2001).

O uso de biofertilizantes na produção de sementes fornece adubos orgânicos e nutrientes necessários para o desenvolvimento do embrião e dos órgãos de reserva das sementes, favorecendo o crescimento da planta (Carvalho & Nakagawa, 1980).

Alves *et al.*, (1999), obtiveram sementes de feijão-vagem mais vigorosas quando a lavoura foi adubada com compostagem orgânica. Diniz (1995) encontrou maiores valores de germinação em sementes de feijão guandu em lavoura, cujo solo foi incorporado 1,5% de esterco bovino.

Na produção de alfafa com o uso de biofertilizante, Dias (2003) verificou o aumento de 6% da altura e de 15% da produtividade da matéria seca da parte aérea da planta em relação à testemunha.

O emprego de biofertilizantes em culturas como o maracujazeiro-amarelo promoveu resultados promissores quanto ao desenvolvimento vegetativo, produtivo e controle sanitário das plantas (Collard *et al.*, 2001; Silva, 2003). A utilização desse insumo em hortaliças vem crescendo principalmente por via foliar, Souza (2000) utilizando concentrações de 2 a 10 % do insumo enriquecido e 10 a 50 % do biofertilizante puro constatou em ambos, resultados promissores para a cultura do pimentão.

No cultivo de alface com fertilizantes orgânicos Trani *et al.*, (2006), obtiveram

melhores produções com o Bokashi e o esterco de frango em relação ao esterco de curral, lodo de esgoto e testemunha, sendo a produtividade e qualidade comercial semelhantes ao sistema convencional.

2.2 Biofertilizante Bokashi

O Bokashi é um composto orgânico desenvolvido e adaptado por Teruo Higa, da Universidade de Ryukyus (Okinawa, Japão) em 1980. Foi trazido para o Brasil pela Fundação Mokiti Okada, onde já é bem difundido principalmente entre os agricultores nipobrasileiros e entre os praticantes da agricultura orgânica.

A palavra japonesa “bokashi” significa borrar, diluir. Essa palavra surgiu do sentido de diluir materiais orgânicos, como, farelos fermentados, com o solo para não serem usados puros e assim não causarem danos à cultura, podendo, porém, serem usados diretamente na adubação de cobertura e em covas. Tem origem no final do século XIX com o objetivo de multiplicar os microrganismos benéficos em um substrato para serem utilizados como aceleradores de compostagem ou para obter uma melhor sanidade de mudas (Bokashi Hi No, 1992).

O Bokashi vêm sendo muito utilizado, com bons resultados quanto à melhoria na produtividade de hortaliças e frutíferas, por agricultores orgânicos da serra e litoral do Rio Grande do Sul. Substituto dos fertilizantes químicos, possui a vantagem de ser de rápida e fácil preparação. É preparado à base de ingredientes locais, de acordo com o que existe na propriedade.

O composto fermentado Bokashi é um mistura de diversos tipos de matéria orgânica farelada submetida à fermentação, predominantemente do tipo láctica. Em geral, a fermentação é obtida utilizando-se como inóculo do fermento, material de serrapilheira, rica em microrganismos como bactérias, leveduras, actinomicetos e outros ocorrentes

naturalmente no ambiente. Na confecção do Bokashi esses microrganismos agem sobre a matéria orgânica fermentando-a ocorrendo produção de ácidos orgânicos, vitaminas, enzimas, aminoácidos e polissacarídeos interessantes ao desenvolvimento vegetal (Higa & Wididana, 1991).

2.3 Importância dos microrganismos em biofertilizantes

A conversão de matéria orgânica bruta ao estado de composto orgânico é um processo microbiológico, no qual uma variada população de microrganismos desencadeia uma série de reações bioquímicas oxidativas. Os principais grupos de microrganismos que realizam a decomposição da matéria orgânica são bactérias e fungos (Gomes & Pacheco, 1988).

A biodegração é um processo complexo e multifacetado, envolvendo uma grande variedade de microrganismos do solo. A degradação de diferentes resíduos depende das condições locais e regionais, como clima, tipo de solo, vegetação, fauna e microrganismos decompositores. A diversidade bioquímica de substratos macromoleculares indica que os organismos devem possuir amplo espectro de enzimas extracelulares para convertê-los em metabólitos assimiláveis (Tauf, 1990).

Quando restos de animais e vegetais são incorporados ao solo ou sofrem o processo de compostagem, numerosos microrganismos passam a atacar esses materiais. Se as condições de umidade e aeração forem favoráveis e houver a presença de microrganismos, haverá inicialmente uma rápida decomposição que decrescerá com o tempo. Participa desse ataque uma infinidade de microrganismos como bactérias e fungos, como resultado dessa intensa digestão de matéria orgânica por esses organismos, haverá a liberação de elementos químicos, os quais deixam a forma orgânica, dita imobilizada, para passarem à forma de nutrientes minerais, chamada mineralizada, disponível às plantas (Kiehl, 1985).

O processo de compostagem é marcado por uma contínua mudança das espécies de

microrganismos envolvidos devido à contínua mudança nas condições ambientais (Miller, 1992). À medida que a matéria orgânica vai sendo degradada, a composição química vai se modificando e calor vai sendo produzido alterando a temperatura do meio. Conseqüentemente, a predominância de diferentes espécies de microrganismos vai sendo modificada.

As pilhas de compostagem apresentam uma microbiota variada, especialmente em relação a fungos. Muitos desses fungos são micromicetos que participam diretamente na degradação da celulose e da lignina presentes no resíduo orgânico.

Segundo Pelczar (1981), os fungos são organismos heterotróficos, obtendo sua alimentação a partir da matéria orgânica inanimada. Como saprófitos, decompõem resíduos complexos de plantas e animais, transformando-os em formas químicas mais simples, que retornam ao solo. Tais substâncias são, então, absorvidas pelas gerações de vegetais subseqüentes. Desse modo, a atividade fúngica é amplamente responsável pela fertilidade do solo.

Os fungos constituem um grupo de microrganismos que possuem características variadas, quanto a coloração podem ser classificados em dematiáceos, consistindo em fungos pigmentados, e não dematiáceos, sendo estes incolores ou brancos, cuja característica está ligada ao metabolismo secundário do microrganismo (Vicente, 2000). Estes fungos são responsáveis pelo processo de degradação biológica que ocorre no processo de compostagem, para se desenvolverem requerem umidade, temperatura adequada e oxigênio, visto que, a temperatura é um fator importante na indução da produção de micotoxinas.

A atividade fúngica é amplamente responsável pela fertilidade do solo, tornando evidente sua contribuição na degradação da matéria orgânica contribuindo para a formação de compostos eficazes no processo de fertilização natural dos solos.

2.4 Tempo de maturação do biofertilizante

A qualidade é um fator importante na produção de compostos e envolve fatores como maturação, quantidade de nutrientes, textura, etc. Esses fatores, se bem manipulados, podem proporcionar ao produtor desde uma importante fonte de nutrientes para várias culturas, como a geração de recursos através da venda desse produto ecologicamente viável (Silva, 2005).

Na literatura são encontrados freqüentemente os termos: "estabilidade" e "maturação", os quais são comumente confundidos. Estabilidade representa uma fase durante a decomposição da matéria orgânica em função da atividade biológica do material. Por outro lado, a maturação na compostagem pode ser definida como o grau no qual o produto final está livre de substâncias fitotóxicas que podem retardar ou reduzir a germinação de sementes ou causar danos às plantas ou organismos presentes no solo (Frost *et al.*, 1992; Riffaldi *et al.*, 1983; Brewer & Sullivan, 2001).

Segundo Kiehl (1998) o processo de compostagem passa pelas seguintes fases: uma inicial e uma rápida de fitotoxicidade ou de composto cru ou imaturo, seguida da fase de semicura ou bioestabilização, para atingir finalmente a terceira fase, a humificação, acompanhada da mineralização de determinados componentes da matéria orgânica. Após cerca de 90 dias, tem-se como resultado um fertilizante orgânico passível de ser utilizado em solos agrícolas, parques e jardins, na recuperação de áreas degradadas e na produção de mudas.

O grau de estabilidade do composto é um dos fatores mais relevantes na qualidade final do produto. No entanto, a exigência dos consumidores com relação à estabilidade do composto varia muito dependendo do seu uso. Por isso, muitas vezes, utiliza-se o termo "maturidade" para expressar o grau de estabilidade do composto (Frost *et al.*, 1992). Uma definição ampla deste termo é que "um composto maduro é aquele que não produz efeitos inibitórios ou fitotóxicos às plantas" (Miller, 1992). Já, segundo Haug (1993), o termo

estabilidade está relacionado com a atividade microbiana, onde a matéria orgânica é oxidada a uma forma mais refratária (humificação ou mineralização). A estabilização completa é alcançada quando a matéria orgânica remanescente não é mais biodegradável. No entanto, a estabilização completa não é desejável, porque o valor do composto orgânico como adubo depende em parte do seu conteúdo orgânico.

A avaliação da maturidade de compostos orgânicos tem sido reconhecida como um dos mais importantes problemas relacionados ao processo de compostagem e utilização agrícola segura do produto final. Um desafio tem sido a utilização de métodos precisos para avaliar a maturidade desses compostos (Chanyasak *et al.*, 1983).

Keihl (1998) apresenta métodos que informam sobre o grau de maturação dos fertilizantes. A utilização de plantas sensíveis em testes biológicos informa sobre o potencial fitotóxico do fertilizante. As plantas respondem alterando seu padrão de desenvolvimento. Ainda segundo Keihl (1998), a condutividade elétrica também é um indicador do grau de maturação do fertilizante. Durante o processo de maturação do fertilizante, a fração mineral total aumenta, enquanto a condutividade elétrica (presença de sais) diminui. Desse modo, da fase inicial até a metade do processo de maturação, a condutividade pode cair em 50%.

Fertilizantes orgânicos mal curados (não amadurecidos suficientemente) interferem no crescimento das plantas, devido a grande atividade microbiana que o mesmo promoverá no solo, podendo induzir à inúmeras deficiências minerais, já que estes estarão sendo processados pelos microrganismos, fenômeno conhecido por imobilização.

É possível encontrar uma grande variedade de microrganismos aeróbios mesofílicos, termo-tolerantes e termofílicos num sistema de compostagem, conforme a fase do processo. Estes microrganismos incluem bactérias, actinomicetes, leveduras, bolores e outros fungos. Mantendo-se condições aeróbias, a temperatura é o fator determinante da população microbiana durante a compostagem.

As bactérias e fungos mesofílicos e termotolerantes dominam as primeiras fases do processo. A fase de aquecimento tem temperaturas entre 20 a 40°C. Nesta fase ocorre a degradação microbiológica de compostos de carbono mais simples (açúcares solúveis, ácidos orgânicos, etc), o que pode provocar um aumento de temperatura. A seguir, a fase de degradação caracteriza-se por temperaturas que atingem os 40-60°C, que promovem o desenvolvimento de bactérias termofílicas/termotolerantes, actinomicetes e fungos, ao mesmo tempo em que inativa os microrganismos mesofílicos.

Temperaturas superiores a 60°C reduzem consideravelmente a população microbiana, permitindo apenas o desenvolvimento de algumas bactérias termofílicas. Nesta fase a fração orgânica dos resíduos é quase totalmente degradada, com exceção parcial da celulose e lignina devido à sua estabilidade estrutural e à dificuldade na sua hidrólise (possível por microrganismos específicos).

Após um primeiro ciclo de metabolização da matéria orgânica dá-se um decréscimo de temperatura (fase de arrefecimento), o que provoca um repovoamento do material em compostagem (Lima, 1992). Nesta fase a diversidade de bactérias é muito pequena, sendo os actinomicetes mesofílicos/termotolerantes e os fungos os microrganismos mais comuns. Logo a seguir ocorre a fase de maturação onde compostos como lenhina, hemicelulose, amido e outros polímeros são posteriormente decompostos lentamente pela ação destes microrganismos.

2.5 Nutrição mineral

A nutrição mineral é essencial para o crescimento e o desenvolvimento das plantas, além de outros fatores como a luz solar armazenada na forma de compostos de energia, como ATP e NADPH, água, gás carbônico e um fluxo contínuo de sais minerais (Haag, 1997).

Os nutrientes minerais após terem sido absorvidos pelas raízes das plantas, são

translocados para diversas partes onde são utilizados em numerosas funções biológicas (Taiz & Zeiger, 2004). Os minerais embora requeridos em pequenas quantidades são de fundamental importância para o desempenho das principais funções metabólicas da célula.

Os elementos minerais essenciais são geralmente classificados com macro ou micronutrientes, de acordo com suas concentrações relativas no tecido vegetal (Taiz & Zeiger, 2004).

Uma explicação para os macronutrientes serem requeridos em quantidades elevadas é o fato de fazerem parte de moléculas essenciais para o vegetal, ou seja, possuem um papel estrutural. Por outro lado, os micronutrientes estão mais relacionados à ativação de certas enzimas, sendo esse um papel regulatório (Santos, 2004).

O nitrogênio e o fósforo possuem forte papel estrutural fazendo parte dos nucleotídeos, os quais formam os ácidos nucléicos (DNA e RNA). Além disso, o nitrogênio está presente nos aminoácidos que formam as proteínas e na própria molécula de clorofila. Dois dos aminoácidos considerados essenciais (metionina e cisteína) são formados por enxofre. O potássio apesar de ser um macronutriente não é um componente estrutural, contudo ele está presente em altas concentrações no suco celular regulando o potencial osmótico e o balanço iônico e no controle do movimento estomático. O cálcio possui um papel estrutural (está presente nos pectatos de cálcio que compõem a lamela média) e um grande papel na regulação do metabolismo da planta. Ele normalmente atua como mensageiro secundário ativando uma proteína chamada calmodulina, a qual, por sua vez, ativa uma série de enzimas. O magnésio está presente na molécula da clorofila e faz parte de muitas metaloenzimas, ou seja, as enzimas que possuem um metal em sua estrutura (Santos, 2004).

Como foi dito anteriormente, os micronutrientes possuem um papel mais regulatório que estrutural. Desse modo, o ferro faz parte de enzimas relacionadas com os processos de oxidação e redução e das enzimas responsáveis pela síntese da clorofila.

O molibdênio é cofator da enzima nitrato redutase. O zinco também faz parte de várias enzimas e inclusive daquelas relacionadas com a síntese do aminoácido triptofano. Já o boro é importante para os processos de divisão e alongamento celular. Acredita-se que ele influencie esses processos alterando o nível do hormônio vegetal auxina, através da ativação de enzimas que oxidam esse hormônio. Por fim, os outros micronutrientes como o manganês, o cobre, o cloro e o níquel também estão envolvidos na regulação da atividade de várias enzimas (Santos, 2004).

A riqueza nutricional e biológica que os compostos orgânicos conferem ao solo e às plantas auxiliam sobremaneira no cultivo de plantas em sistema orgânicos, permitindo melhorar as qualidades químicas, físicas e biológicas do solo e promover um desenvolvimento adequado à obtenção de produtividade técnica e economicamente viável (Souza, 1998).

Na agricultura orgânica, uma das formas que têm sido mais utilizadas no manejo trofobiótico de pragas e doenças é a utilização de biofertilizantes. Estudos da Teoria da Trofobiose (Chaboussou, 2006), constataram que plantas cultivadas em solos ricos com matéria orgânica proveniente de esterco não são atacadas por doenças, pois a suscetibilidade da planta a pragas e doenças é uma questão de nutrição.

Os fertilizantes orgânicos fornecem sais minerais essenciais para o suprimento de nutrientes às plantas e funciona como um condicionador e melhorador de propriedades físicas biológicas do solo (Kiehl, 1998).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Biofertilizante Bokashi

O biofertilizante Bokashi (anexo 1) foi produzido por um grupo de agricultores ecológicos do município de Torres (RS). As amostras foram coletadas quinzenalmente e avaliadas no Laboratório de Controle Biológico de Doenças de Plantas - Instituto de Biotecnologia, no Laboratório de Saneamento Ambiental e na Central Analítica.

3.2 Tempo de maturação e análise das amostras

O processo de compostagem iniciou em julho de 2008 com término em outubro de 2008. Durante esse período foram feitas 4 amostragens em diferentes fases de maturação, conforme tabela abaixo:

Amostras	1	2	3	4
Data de coleta	07/08	22/08	22/09	15/10
Tempo de maturação	15dias	30dias	60 dias	85 dias

De cada amostra foram preparadas suspensões nas concentrações $1/10^{-1}$, $1/10^{-2}$, $1/10^{-3}$, sendo 0,1g do composto em 10 mL de solução salina, conforme Fidalgo (1989). Após, alíquotas de 100 μ L de cada amostra diluída foi espalhada sobre a superfície do meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar), em 3 placas de Petri. As placas foram vedadas com filme plástico, permaneceram em estufa na temperatura de 28°C durante o período de 4 à 7 dias, para posterior análise. As UFCs de fungos filamentos, bactérias e leveduras foram contadas e relacionadas com a fase de maturação.

3.3 Identificação dos isolados fúngicos

Foi realizada a identificação da microbiota e a quantificação das unidades formadoras de colônias (UFC). A identificação dos fungos filamentosos isolados foi baseada na morfologia das colônias desenvolvidas em meio BDA, sendo utilizado o método de cultura em lâmina ou técnica de microcultivo de acordo com Kern & Blevins (1999). Três gotas de meio de cultura BDA foram espalhadas sobre uma área de 1 cm² de uma lâmina de microscopia, esterilizada. No centro dessa área foi inoculado o microrganismo, e sobre este foi colocada uma lamínula esterilizada. Cada lâmina foi colocada dentro de uma placa de Petri esterilizada, juntamente com um chumaço de algodão esterilizado embebido em água destilada e esterilizada. As placas foram mantidas em estufa a 28°C por 4 a 7 dias. Após o desenvolvimento das colônias, foi possível observar hifas, corpos de frutificação e outras estruturas características de cada microrganismo, diretamente no microscópio óptico. Para a classificação dos fungos até o nível de gênero foram utilizadas Chaves Taxonômicas (Barnett & Hunter, 1972).

3.4 Determinação do pH e umidade

Os valores de pH foi determinado pesando 10 g de cada amostra com 50 mL de água destilada e agitando durante 30 min. Deixou-se decantar por 40 min e em seguida mediu-se o valor do pH, conforme metodologia descrita por Tedesco *et al.*, (1995).

A umidade foi determinada pesando-se 200g do material e deixado em estufa por 24h à 65-70 °C e após feito nova pesagem (Tedesco *et al.*, 1995).

3.5 Determinação de Fósforo e Nitrogênio

As análises foram feitas no Laboratório de Saneamento Ambiental (LASAN) da UCS e seguiram a metodologia descrita por Tedesco *et al.*, (1995).

3.6 Digestão das amostras

Pesou-se 0,2 g da amostra com 0,7 g de mistura de digestão, homogeneizou-se 1 mL de H_2O_2 e adicionando lentamente 2 mL de H_2SO_4 . As amostras seguiram para a digestão em chapa aquecedora à 350-375 °C até formação de húmus branco. Após, cada amostra em temperatura ambiente, foi completada com 50 mL com água destilada, deixando decantar por 2h, para posterior análise de fósforo e nitrogênio.

3.6.1 Análise dos teores de Fósforo

Alíquotas de 1 mL de cada amostra foram transferidas para copos plásticos descartáveis, adicionou-se 2 mL de água destilada, 3 mL de solução P-B e 3 gotas de solução P-C. Esta foi homogeneizada e após o período de 15 min foi feita a medida da absorbância em 660 nm.

3.6.2 Análise dos teores de Nitrogênio

Para análise utilizou-se 10 mL de cada amostra em um balão de destilação, adicionando-se 5mL de NaOH 1M e iniciando a destilação até completar 50 mL de volume total. Após titulou-se as amostras com H_2SO_4 0,025M e calculado os resultados.

3.7 Determinação de K, Ca, Zn, Fe e Mg

As análises foram feitas na Central Analítica (CEAN) da UCS utilizando o método 3050B proposto pela EPA "Environmental Protection Agency" (anexo 2).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Análise da concentração de macro e micronutrientes, umidade e pH do biofertilizante Bokashi em diferentes fases de maturação

No biofertilizante avaliado, houve aumento na concentração dos elementos K, Mg, Ca e Fe principalmente nas amostras 1,2 e 3. Na amostra 4 os valores foram menores (Tabela 1), demonstrando que ocorreu uma maior liberação de nutrientes com a degradação da matéria orgânica no composto com 60 dias. Para o macronutriente P os valores continuaram aumentando mesmo na última amostra, e para o micronutriente Zn, ocorreu uma queda na 3^o amostragem e um aumento na 4^o, evidenciando que no composto de 85 dias ainda há degradação de matéria orgânica com a liberação de alguns elementos. Já o N, apresentou tendência nítida de decréscimo em seus teores, diminuindo a partir da amostra 2 e mantendo-se constante até o final da avaliação, provavelmente por que o N é perdido mais rapidamente que os outros elementos. Segundo Finstein & Miller (1985), durante o processo de compostagem, quando surgem quantidades apreciáveis de nitratos e nitritos, é indicação de que o composto está aceitavelmente maduro.

De acordo com os limites estabelecidos pela Instrução Normativa nº 23, Brasil (2005), os compostos apresentam valores acima dos valores mínimos exigidos para os elementos Mg, Ca, Fe, P e N. Os teores de Zn e K estão abaixo dos valores mínimos recomendados e desta forma necessita de uma complementação com adubação mineral com estes elementos.

Tabela 1: Concentração de macro e micronutrientes em diferentes fases de maturação do biofertilizante Bokashi.

Amostra/	1	2	3	4
Elemento	15 dias	30 dias	60 dias	85 dias
(g/Kg).....			
P	3	3,5	6	8
K	2,09	6,41	8,27	6,53
Fe	5,42	10,19	11,11	10,76
Zn	0,13	0,71	0,33	0,41
Ca	16,49	23,92	54,93	46,88
Mg	4,57	6,04	13,73	13,42
(%).....			
N	0,52	0,35	0,35	0,34

Os resíduos orgânicos são eficazes para promover a adubação do solo a nutrição das plantas ou mesmo para complementar a adubação mineral. Na preparação da compostagem orgânica os minerais que fazem parte da matéria orgânica fresca são de fácil absorção para as plantas e se eliminam os patógenos que poderiam estar na matéria orgânica fresca e causar dano ao cultivo. Por outro lado, o uso de esterco maduro pode ter efeito estimulador no crescimento de plantas em função da presença de nutrientes minerais, microrganismos benéficos, substâncias húmicas e as características físicas de um adubo orgânico estabilizado. A estabilidade ou maturidade é característica importante de qualidade para um adubo orgânico. Conforme Kiehl (1985), os restos orgânicos, vegetais e animais retornando ao solo serão transformados em nutrientes, os quais, assimilados pelas plantas, completam o ciclo de vida.

O composto Bokashi aumenta e ativa a quantidade de microrganismos benéficos no solo, mas também nutri o cultivo e os microrganismos do solo (Shintani *et al.*, 2000).

Na avaliação das características químicas de um biofertilizante utilizado em uma horta agroecológica, Silva *et al.*, (2007), observaram aumento da concentração de Mg e S com maior tempo de maturação do composto, já com os outros elementos não houve aumento nem

decréscimo em seus teores.

Também segundo Valdebenito–Sanhueza (2000) a disponibilidade de nutrientes no solo depende fundamentalmente da população de leveduras, o que vem de encontro com os resultados alcançados neste trabalho e permitem a comparação da atuação benéfica do uso de compostos sob os cultivos agrícolas.

No trabalho realizado por Sediya *et al.*, (2008) observou-se, ao longo do período de fermentação de dejetos de suínos, elevação no teor dos nutrientes N, P, K, Ca, Mg e S com o aumento do tempo de fermentação. De modo geral, maiores concentrações de nutrientes N, P, K, Ca, Mg e S no esterco ocorreram com 60 dias de fermentação, período semelhante àquele em que se deu a estabilização da temperatura indicando maturidade do esterco.

O teor de umidade do biofertilizante Bokashi (Fig. 1) teve uma redução significativa durante o período de avaliação, sendo no início de 50% e passando para 30% no final da avaliação. Isto pode ser explicado devido à intensa atividade microbológica no composto com grande produção e liberação de enzimas, antibióticos e nutrientes, com o processo de maturação do composto.

O teor de umidade é um fator importante a ser controlado, pois é a água que promove o transporte de nutrientes dissolvido. Um teor entre 50% é considerado bom para a compostagem, abaixo de 35-40% de umidade a decomposição da matéria orgânica é fortemente reduzida e abaixo de 30% praticamente é interrompida, enquanto que a umidade acima de 65% resulta em decomposição lenta, pois prevalecem as condições anaeróbicas e pode ocorrer lixiviação de nutrientes (Kiehl, 1998).

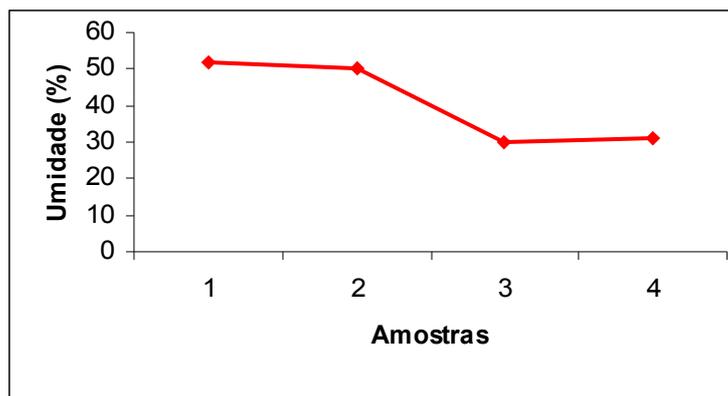


Fig. 1: Teor de umidade das amostras de Bokashi em diferentes fases de maturação

Os esterco quando submetidos à fermentação aeróbica, perdem exclusivamente carbono, na forma de CO₂, e água, na forma de vapor, resultando em resíduo final de melhor qualidade para uso como adubo orgânico em função do menor teor de umidade, da mineralização do nitrogênio e da solubilização parcial de alguns nutrientes, desta forma, quando aplicados ao solo esses esterco ou adubos orgânicos são eficientes em promover a nutrição das plantas e podem substituir, em parte, ou eliminar a necessidade do uso de adubos minerais na agricultura (Sediyama *et al.*, 2008).

A compostagem é um processo bio-oxidativo controlado, que em condições adequadas de humidade, produz a degradação de resíduos heterogêneos por ação de uma flora microbiana variada. Durante a compostagem, os microrganismos degradam aerobicamente parte da fração orgânica a dióxido de carbono, água e sais minerais e outra parte sofre um processo de humificação resultando num composto estável que possui características apropriadas para a utilização como biofertilizante (De Bertoldi & Schnappinger, 2001).

O pH das amostras do biofertilizante Bokashi (Fig. 2) teve um leve aumento durante o período de avaliação, atingindo o valor da ordem de 8.6, demonstrando que o pH estabilizou-se a partir do 60º dia, indicando que o composto já estava no final do seu processo de maturação. O valor de pH encontrado é considerado ótimo, pois não interfere na microbiota e

nem mesmo nas plantas.

À medida que o processo de maturação progride, as condições físicas e a composição química do meio tendem a uma estabilização. Dessa maneira, é de se esperar que a estrutura da comunidade microbiana se estabilize com estas mudanças e que a atividade enzimática acompanhe essa tendência, como foi relatado por Soares & Switzenbaum (1996).

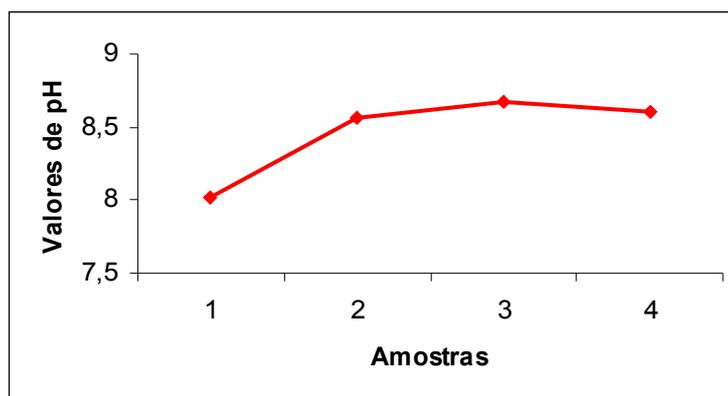


Fig. 2 Valores de pH das amostras de Bokashi nas diferentes fases de maturação

Conforme Pereira Neto (1989), durante a compostagem o pH tende a ficar na faixa alcalina, variando de 7.5 à 9.0, no entanto, esta é a faixa ótima de pH para bactérias e fungos. Segundo Brandão (1992), as características do solo, tais como: temperatura, pH, umidade, teor de oxigênio e nutrientes irão determinar a composição da comunidade biológica do solo tanto qualitativa quanto quantitativamente.

O pH do composto pode ser indicativo do estado da compostagem dos resíduos orgânicos. Jimenez & Garcia (1989), indicaram que durante as primeiras horas de compostagem, o pH decresce até valores de aproximadamente 5 e posteriormente, aumenta gradualmente com a evolução do processo de compostagem e estabilização do composto, alcançando finalmente valores entre 7 e 8. Assim, valores baixos de pH são indicativos de falta de maturação devido à curta duração do processo ou a ocorrência de processos

anaeróbios no interior da pilha da compostagem.

À medida que os fungos e as bactérias digerem a matéria orgânica libertam-se ácidos que se acumulam e acidifica o meio. Este abaixamento do pH favorece o crescimento de fungos e a decomposição da celulose e da lenhina. Posteriormente esses ácidos são decompostos até serem completamente oxidados.

4.2 Análise quantitativa e qualitativa da microbiota do biofertilizante Bokashi em diferentes fases de maturação

Foi possível quantificar as unidades formadoras de colônias (UFCs) e identificar os microrganismos fúngicos presentes no biofertilizante Bokashi.

Conforme Miller (1992), o processo de compostagem é marcado por uma contínua mudança das espécies de microrganismos envolvidos devido à contínua mudança nas condições ambientais. Durante a maturação do composto as temperaturas variam entre 50°C-70°C, para assegurar que morram todos os microrganismos patogênicos. Neste processo, altas temperaturas tendem a inibir a estratégia da atividade metabólica microbiana onde a prática da ventilação ou reviramento da leira constitui uma estratégia importante para a manutenção da microbiota aeróbica.

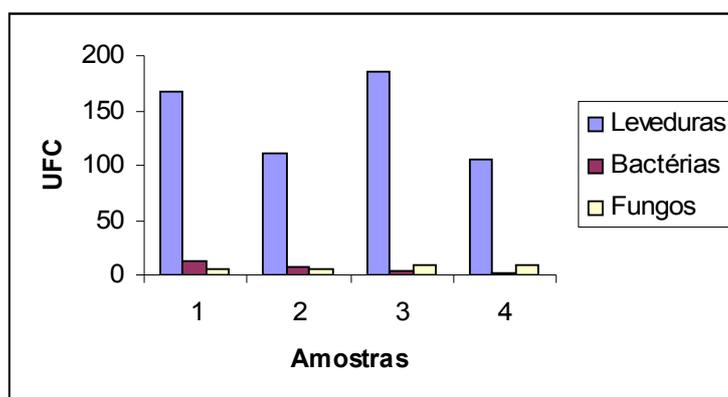


Fig. 3 Unidade formadora de colônia (UFC) do biofertilizante Bokashi em diferentes fases de maturação

Os resultados demonstrados nas Figuras 3 e 4, indicam que o biofertilizante Bokashi apresenta uma microbiota diversificada, com a presença de um grande número de UFCs de leveduras, seguida das UFCs de bactérias e de fungos filamentosos.

As leveduras fazem parte do ambiente no qual também as plantas se desenvolvem (Boddy & Winpenny, 1992), e foram os microrganismos que apareceram em maior número com predominância em todas as fases de maturação, principalmente nas amostras 1 e 3.

As UFCs de bactérias (Fig. 3) tiveram uma redução ao longo do tempo de avaliação das amostras, e as UFCs de fungos mantiveram-se presentes em todas amostras analisadas, porém, concordando com os estudos de Yanko (1988), foram detectados em baixas concentrações (Fig. 3).

Segundo Dias (1999) os fungos constituem um grupo de microrganismos que possuem crescimento, colorações diferentes variando (verde, cinza, marrom, café-escuro, branco e negro), com colônias lisas, rugosas e flocosas. Todos estes representam vários organismos fúngicos morfologicamente diversificados, responsáveis pelo processo de degradação biológica da matéria orgânica.

A população de fungos isolados e identificados (Tabela 2) é constituída de fungos filamentosos dematiáceos (com hifas pretas, verdes ou marrons), e não dematiáceos (com hifas hialinas ou brancas). Os fungos dematiáceos constituem um grupo grande e heterogêneo, cuja principal característica é a pigmentação escura da parede celular das células vegetativas e reprodutivas (Vicente, 2000).

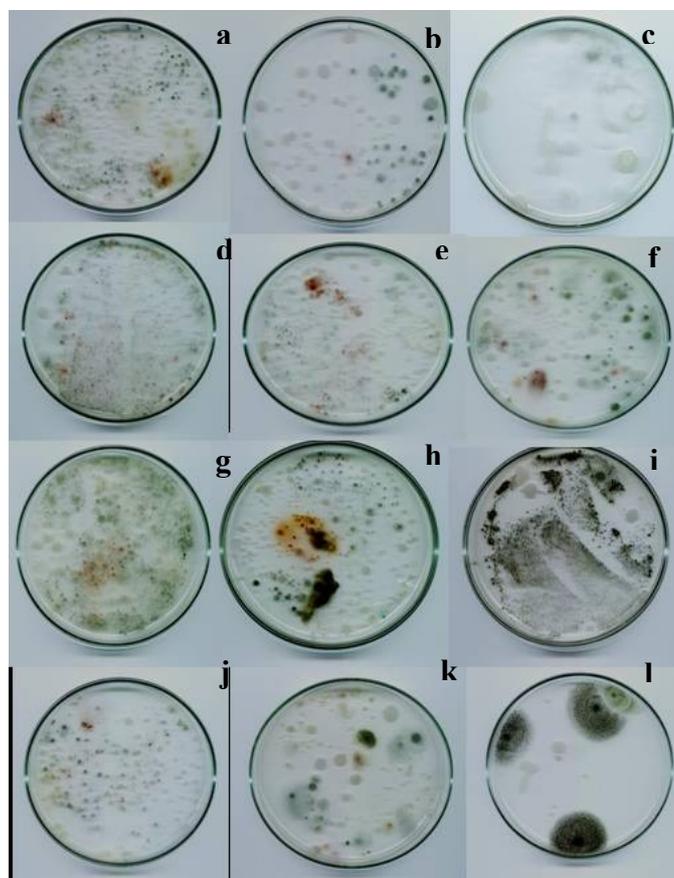


Fig. 4 Aspecto macroscópico das colônias de microrganismos isolados das amostras de Bokashi com 15 dias (a,b,c); 30 dias (d,e,f); 60 dias (g,h,i) e 85 dias (j,k,l) nas 1, 2 e 3^o diluições respectivamente.

O processo de decomposição da matéria-orgânica para a formação do composto envolve a participação de grande variedade de gêneros de fungos (Tabela 2). Estes fungos produzem enzimas extracelulares que degradam a celulose presente no resíduo orgânico, convertendo-a em metabólitos assimiláveis e tornando-os disponíveis às plantas.

Segundo Pelczar (1981), os fungos são organismos heterotróficos, obtendo sua alimentação a partir da matéria orgânica inanimada. Como saprófitas, decompõem resíduos complexos de plantas e animais, transformando-os em formas químicas mais simples, que retornam ao solo. Tais substâncias são, então, absorvidas pelas gerações de vegetais subsequentes. Desse modo, a atividade fúngica é amplamente responsável pela fertilidade do

solo.

Nas amostras analisadas, observou-se uma menor ocorrência de fungos filamentosos, entretanto, foi possível diagnosticar a presença dos gêneros mais comuns, como *Aspergillus* sp. e *Rhizopus* sp. em todas amostras analisadas e *Penicillium* sp., nas amostras 1, 2 e 3. Resultado semelhante ao encontrado por Aragão *et al.*, (2000) ao isolarem amostras de compostagem de resíduos sólidos de frutas e verduras da CEASA.

Somente na amostra 1, foi encontrado o fungo dematiáceo *Mycelia sterilia* e nas amostra 2 e 3 observou-se a presença de alguns gêneros fitopatogênicos, como *Fusarium* sp. e *Curvularia* sp., sendo que estes foram eliminados ao decorrer da última fase de maturação. Alguns fungos identificados são considerados contaminantes, isto é, podem ser isolados facilmente de diferentes ambientes por serem transportados pelo ar atmosférico.

O grupo de fungos identificados é constituído por saprófitos e decompositores de celulose, como o gênero *Penicillium* sp., já outros possuem capacidade de degradar açúcares simples, como o *Rhizopus* sp., e os gêneros *Fusarium* sp. e *Cladosporium* sp. possuem reconhecida capacidade de degradar celulose e lignina.

A amostra nº 4 com 85 dias de maturação representa a fase mais adequada para ser aplicada nos solos, visto que a população microbiana consiste na menos agressiva às plantas, sendo isso importantíssimo, pois é o período em que o produtor aplica este composto em suas plantações, visto que, o biofertilizante Bokashi não representa perigo para as culturas.

Tabela 2: Isolados fúngicos identificados nas amostras de Bokashi em diferentes fases de maturação

Gêneros de fungos	Amostras			
	1	2	3	4
<i>Aspergillus</i> sp.	X	X	X	X
<i>Cladosporium</i> sp.			X	
<i>Curvularia</i> sp.			X	
<i>Dactylium</i> sp.				X
<i>Fusarium</i> sp.		X	X	
<i>Mycelia sterilia</i>	X			
<i>Penicillium</i> sp.	X	X	X	
<i>Rizhopus</i> sp.	X	X	X	X

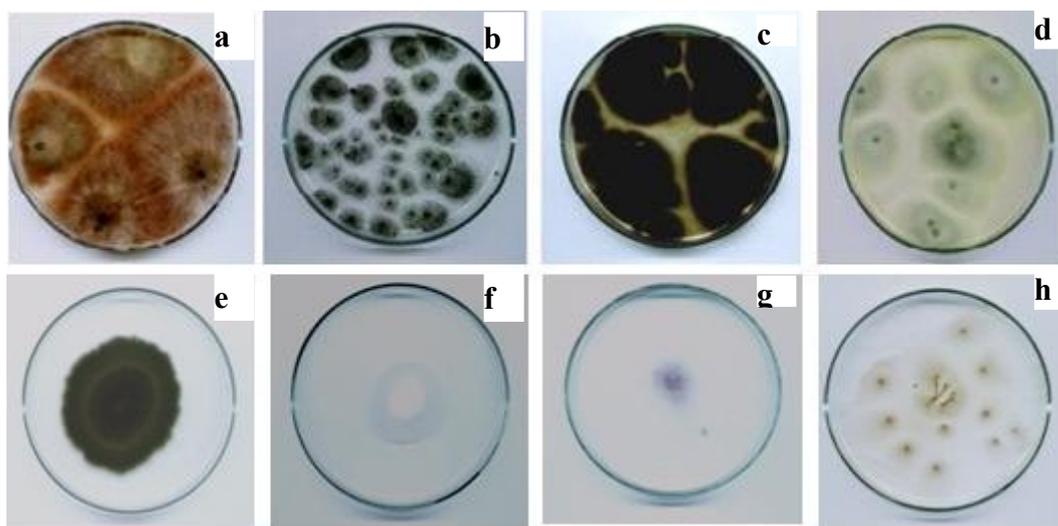


Figura 5: Fungos identificados nas diferentes fases de maturação do biofertilizante Bokashi. *Fusarium* sp. (a); *Rhizopus* sp. (b); *Cladosporium* sp. (c); *Penicillium* sp. (d); *Curvularia* sp. (e); *Mycelia sterilia* (f); *Dactylium* sp.(g) e *Aspergillus* sp. (h).

5. CONCLUSÕES

O biofertilizante Bokashi produzido por um produtor rural do município de Torres, apresenta uma grande quantidade de macro e micronutrientes, dos quais a maioria teve seu pico no composto com 60 dias, demonstrando que neste período ocorre maior degradação da matéria orgânica com maior liberação de nutrientes.

Os valores de pH mantiveram-se constantes na ordem de 8.6 a partir da terceira amostra com 60 dias.

O parâmetro teor de umidade no final do processo de compostagem foi de 30%, demonstrando que este fertilizante alternativo está maduro.

A microbiota se manteve constante e variada, constituída de um grande número de UFCs de leveduras, em menor quantidade bactérias e fungos filamentosos.

A quantidade de UFCs dos microrganismos identificados oscila durante as fases de maturação, por causa das mudanças de temperatura, pH e umidade, devido à intensa atividade biológica e a degradação da matéria orgânica.

Os gêneros de fungos fitopatogênicos *Fusarium* sp. e *Curvularia* sp. identificados estiveram presentes somente na amostra 3 com 60 dias, não ocorrendo na última amostra com 85 dias.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Altieri, M. (2004). **Agroecologia**: A dinâmica produtiva da agricultura sustentável. 4ªed. Porto Alegre: Editora da UFRGS.

Alves, E.U.; OLIVEIRA, A. P.; BRUNO, R. L.; SILVA, J. A.L.; GONÇALVES, E. P. (1999). Avaliação da produtividade e da qualidade de sementes de feijão-vagem, cultivado com matéria orgânica. **Revista Brasileira de sementes**. 21:232-237.

Alves, G.S. (2006). Nutrição mineral e produtividade de pimentão (*Capsicum annum* L.) em resposta a diferentes biofertilizantes líquidos no solo. **Dissertação de Mestrado**. UFPB, Areia, PB, BRASIL, 80p.

Aragão, J.M.S; Santos, S.M.; Araújo, J.M. (2000). Ocorrência de actinomicetos com atividade antifúngica em compostagem de resíduos sólidos. In: XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. **Anais**. pp. 1-6.

Barnett, H.L. & Hunter, B.B. (1972). **Illustrated genera of imperfect fungi**. 3ª ed. Minneapolis, Burgess Publishing Company.

Barros, L.E.O; Filho, L.J. (2008). Composto Orgânico sólido em suspensão na cultura do feijão mungo-verde (*Vigna radiata*L. Wilkzeck). **Revista Verde**. 3:114-122.

Bettiol, W.; Tratch, R. (1997). Efeito de biofertilizantes sobre o crescimento micelial e a germinação de esporos de alguns fungos fitopatogênicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**.

32: 1131-1139.

Bettiol, W.; Tratch, R.; Galvão, J. A. H. (1998). **Controle de doenças de plantas com biofertilizantes**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 22p.

Bokashi, hi no tsukurikata tsukaikata (1992) – 12 .ed. ToKyo, Noubunkyou.

Brandão, E.M. (1992). Os componentes da comunidade microbiana do solo. In: Cardoso, J.B.N.; Tsai, S.M., Neves, M.C.P. **Microbiologia do Solo**. Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, Campinas, p. 1-15.

Brasil (2005). Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Instrução Normativa nº 23, 31 de agosto de 2005. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 08 de set. de 2005. Seção 1 p. 12. **Disponível (online):** <http://www.agricultura.gov.br>. (Acessado em 06 de novembro de 2008)

Brewer, L.J., Sullivan D.M. (2001). A Quick Look at Quick Compost Stability Tests. **Biocycle**. 42:53-55.

Carvalho, N.M. & Nakagawa, J. (1980). **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Campinas: Fundação Cargill, 224p.

Castro, C.M.; Santos, A.C.V.; Akiba, F.B. (1992). *Bacillus subtilis* isolado do biofertilizante “Vairo” com ação fungistática e bacteriostática para alguns fitopatógenos. In: Simposio de Controle Biológico, 3., 1992, Águas de Lindóia. **Anais**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, p.291.

Chaboussou, F. (2006). **Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos: a teoria da trofobiose**. 1 ed. São Paulo: Expressão Popular, 320p.

Chanyasak, V., Katayama, A., Hirai, M.F., *et al.* (1983). Effects of compost maturity on growth of komatsuna (*Brassica rapa* var. *pervidis*) in Neubauers's pot. I. Comparison of growth in compost treatment with that in inorganic nutrient treatments as controls. **Soil Science Plant Nutrition**. 29:239-250.

Collard, F.H.; Almeida, A.; Costa, M.C.R.; Rocha, M.C. (2001). Efeito do uso de biofertilizante Agrobio na cultura do maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.). **Revista Biociências**. 7:15-21.

De Bertoldi, M.; Schnappinger U. (2001). Designing composting plants with teamwork. **Biocycle**. 42:78-80.

Deleito, C.S.R.; Carmo, M.G.F.; Fernandes, M.C.A.; Abboud, A.C.S. (2005). Ação do biofertilizante Agrobio sobre a mancha-bacteriana e desenvolvimento de mudas de pimentão. **Horticultura Brasileira**. 23:117-122.

Deleito, C.S.R.; Carmo, M.G.F.; Fernandes, M.C.A.; Abboud, A.C.S. (2005). **Ação bacteriostática do biofertilizante Agrobio *in vitro***. **Horticultura Brasileira**. 23:281-284.

Dias, P.F.; Souto, S.M.; Leal, M.A.A.; Schmidt, L.T. (2003). Efeito do biofertilizante líquido na produtividade e qualidade da alfafa (*Medicago sativa* L.), no município de Seropédica –RJ. **Agronomia**. 37:16-22.

Dias, S.M.F & Carvalho, M.C. (1999). Fungos em pilhas de compostagem aeróbica. **Anais**. 20° Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. p.1726-1733.

Diniz, I.A. (1995). Cultivo do feijão guandu (*Cajanus cajan*) em solo salinizado tratado com matéria orgânica e drenagem. **Dissertação de Mestrado**, UFPB, Areia, PB, Brasil, 50p.

Fidalgo, O; Bononi, V.L.R. (1989). Técnica de Coleta, Preservação e Esterelização de Material Botânico. **Instituto de Botânica**. Secretaria do Meio Ambiente, Governo do Estado de São Paulo, SP.

Finstein, M.S. & Miller, F.C. (1985). Principles of composting leading to maximization of the decomposition rate, odour control, and cost effectiveness. In: Gasser, J.K.R. Composting of agricultural and other wastes. **Elsevier Applied Science**. London and New York, pp.13-26.

Frost, D.I., Toth, B.L., Hoitink, H.A.J. (1992). **Compost Stability**. **Biocycle**. 33:62-66.

Gomes, W.R. da; Pacheco, E. (1988). **Composto orgânico**. Lavras: Escola Superior de Agricultura de Lavras, 11p. (Boletim Técnico, 11).

Haag, P.H. (1987). A nutrição mineral e o ecossistema. In: Castro, P.R.C.; Ferreira, S.O.; Yamada, T. **Ecofisiologia da produção agrícola**. Piracicaba. Associação Brasileira para a Pesquisa de Potassa e do Fosfato. p.49-68

Haugh, R.T. (1993). Composting Engineering. **Lewis Pub**, Boca Raton, Florida.

Higa, T.; Wididana, G.N. (1991). Changes in the soil micoflora induced by effective microrganism. In: International Conference on Kyusei Nature Farming, 1, Khon Kaen, 1989. **Proceedings**. Washington: Agricultural Research Service/USDA, p.153-162.

Jiménez, E.I. & Garcia, V.P.(1989). Evaluation of city refuse compost maturity: **A review**. **Biol. Wastes**. 27:115-142.

Kern, M.E.; Blevins, K.S. (1999). **Micologia Médica**. 2^a ed. São Paulo: Editora Premier, p. 256.

Kiehl, E.J. (1985). **Fertilizantes Orgânicos**. Ed. Agronômica Ceres: São Paulo. 492p.

Kiehl, E.J. (1998). **Manual de compostagem: maturação e qualidade do composto**. Piracicaba, E.J. Kiehl.

Kiss, J. (2004). Terra em transe. **Globo Rural**, 223:34-42.

Magro, D. (1994). Supermagro: a receita completa. **Boletim de Associação de Agricultura Orgânica**. 16:3-4.

Medeiros, M.B.; Alves, S.B.; Berzagui, L.M. (2001). Efeito do biofertilizante na fecundidade do ácaro *T. urticae*. In: **Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP**, 8., Esalq/USP: Piracicaba.

Medeiros, M.B.; Wanderley, P. A.; Franklin, F.; Fernandes, F. S.; Alves, G. R.; Dantas, P.;

Cordão, R. P.; Wendell, M. R. X.; Neto, J. S. L. (2004). **Uso de biofertilizantes líquidos no manejo ecológico de pragas agrícolas**. Bananeiras. Disponível (online)

<http://www.prac.ufpb.br/meae/Anais%20II%20Encontro%20Tem>

%E1tico/trabalhos/BIOFERTILIZANTES.doc (Acessado em 21 de março de 2007).

Medeiros, M. B.; Lopes, J.S. (2006). Biofertilizantes líquidos e sustentabilidade agrícola. **Bahia Agrícola**. 7:24-26.

Mesquita, E. F. (2005). Biofertilizante na produção de mamão—qualidade de frutos, composição mineral e fertilidade do solo. **Tese de doutoramento**. UFPB, Areia, PB, Brasil.

Miller, F. C. (1992). Composting as a process based on the control of ecologically selective factors. In: Meeting, F. B. (Editor). **Soil Microbial Ecology**. 18: 515-543.

Pelczar, R.C. (1981). **Microbiologia**. Vol. II, editora McGran-Hill do Brasil, São Paulo.

Pereira Neto, J.T. (1989). Conceitos modernos de compostagem. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro.

Pinheiro, S.; Barreto, S. B. (1996). **Agricultura sustentável, trofobiose e biofertilizantes**. Canoas: Gráfica La Solle, 273p.

Pare, T.; Dinel, H.; Schinitzer, M; Dumontet, S.(1998). Transformations of carbon and nitrogen during composting of animal manure and shredded paper. **Biology and Fertility of Solis**. 26:173-178.

Riffaldi, R., Levi-Minzi, R. Saviozzi, A. (1983). Humic Fractions of Organic Wastes. **Agriculture, Ecosystems, and Environment**. 10:353-359.

Santos, A.C.V. (1992). **Biofertilizante líquido, o defensivo da natureza**. Niterói: EMATER-Rio, 16p. (Agropecuária Fluminense, 8)

Santos, D.M.M. (2004) Nutrição Mineral. Jaboticabal. UNESP. **Disponível (on line)** <http://www.fcav.unesp.br/download/deptos/biologia/durvalina/TEXT0-02.pdf> . (Acessado em 06 de agosto de 2008).

Santos, G. D. (2004). Avaliação do maracujazeiro – amarelo sob biofertilizantes aplicados no solo de forma líquida. **Dissertação de Mestrado**. UFPB, Areia, PB, Brasil, 74p.

Sediyama, M.A.M; Vidigal, S.M.; Pedrosa, M.W; Pinto, C.L.O.; Salgado, L.T. (2008). Fermentação de esterco de suínos para uso como adubo orgânico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. 12:638-644.

Seixas, J; Folle, S. & Machetti, D. (1980). **Construção e funcionamento de biodigestores**. Brasília: Embrapa-DID, 60p. (Embrapa-CPAC. Circular Técnica, 4).

Shintani, M.; Leblanc, H.; Tabora, P. (2000). **Bokashi (Abono Orgânico Fermentado)**. Tecnologia tradicional adaptada para una agricultura sostenible y un manejo de deechos modernos. Guia para uso práctico. 1ed. Costa Rica: Earth. 25p.

Silva, A.F., Coelho, A.I. de I., Ramos, J.B., Santana, L.M.de., França, C.R.R.S. (2007).

Características químicas e aceitação de biofertilizante preparado e utilizado em horta agroecológica do Semi-Árido Nordeste. **Revista Brasileira de Agroecologia**. 2: 962-965.

Silva, F. A. de Melo. (2005). Qualidade de compostos orgânicos produzidos com resíduos do processamento de plantas medicinais. **Tese de doutoramento**. Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp. Botucatu, SP, Brasil.

Silva, P.S.V.L. (2003). Desenvolvimento do maracujazeiro-amarelo em substrato envasado e aplicação de biofertilizantes. **Trabalho de Conclusão de Curso**. UFPB, Areia, PB, Brasil, 24p.

Soares, H.M.& Switzenbaum, M. S. (1996). **Avaliação de métodos para medir o grau de estabilidade de produtos da compostagem**. Joinville, SC & Amherts, USA.

Souza, J.L. (1998). **Agricultura Orgânica: tecnologias para a produção de alimentos saudáveis**. Vitória: ENCAPA.

Souza, J.J. (2000). Nutrição orgânica com biofertilizantes foliares na cultura do pimentão em sistema orgânico. **Horticultura Brasileira**. 18:14-19.

Taiz, L.; Zeiger, E. (2004). **Fisiologia Vegetal**. 3.ed. Porto Alegre, Artmed.

Tauk, S. M. (1990). Biodegradação de resíduos orgânicos no solo. **Revista Brasileira de Geociências**. 20:299-301.

Tedesco, M. J., Gianello, C., Bissani, C. A., Bohnen, H. & Volkweiss, S.J. (1995). **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 174p. (Boletim técnico, 5).

Trani, P.E.; Pedro Júnior, M.J.; Bovi, O.A.; Tamiso, L.G.; Berton, R.S.; Abramides, P.L.G; Purquério, L.F.V.; Tivelli, S.W. Produção orgânica de hortaliças e medicinal sob cultivo protegido, 2006. **Disponível (on line)** http://www.infobibos.com/Artigos/2006_2/ProdOrganica/index.htm. (Acessado em 18 de agosto de 2008).

Vicente, V. A. (2000). Isolamento e caracterização de fungos da cromoblastomicose. **Tese de doutoramento**. ESALQ, São Paulo, SP, Brasil, 181 p.

Yanko, W.A.(1988). **Occurrence of pathogens in distribution and marketing municipalsludge**, US EPA/600/1-37/014. US EPA, Washington, DC.

ANEXO 1:**Biofertilizante Bokashi****Ingredientes:**

1500 Kg de esterco de gado

2 sacos de fosfato natural

100 kg de cinza

100 kg de casca de café

Resíduos de moinho – soja/milho/arroz

5 Kg de melado de cana

4 litros de fermento EM

10 litros de soro de queijo

A produção do composto Bokashi acontece em três fases, sendo:

Fase A – Preparação do Inóculo (Fermento): Elaborado a partir de microorganismos nativos, esta fase tem como objetivo a inoculação de microorganismos nativos a partir de serapilheira (esta etapa diz respeito ao fermento para as etapas seguintes). Deixar fermentar por aproximadamente 30 dias.

Ingredientes:

- 40 kg de serapilheira; 40 kg de farelo de trigo; 5 litros de melaço ou açúcar mascavo; 5 litros de leite ou soro de queijo sem sal

Fase B: fermentação líquida

Para cada kg da Fase A (fermento), acrescenta-se 1kg de farelo de arroz ou de trigo, 1 kg de melaço e 1L de leite, e finalmente adiciona-se 10L de água. Deixar fermentando por aproximadamente 15 dias.

Fase C: fermentação sólida

200 Kg de terra virgem; 60 Kg de torta de tungue; 160 Kg de esterco de galinha (seco)
40 Kg de fosfato natural; 30 Kg de farelo de trigo; 5 kg de cinza; 1 kg de fonte de amido

Modo de preparar a fermentação sólida (fase C)

Juntar todos os ingredientes e misturar até atingir a umidade de 40 a 50%. Amontoar e cobrir com sacos de aniagem. É necessário manejar a mistura, pois, após 24 horas este composto pode atingir até 65 °C. Quando isso ocorre é necessário repicar a pilha. Aos 7 dias o bokashi estará estabilizado e pronto para o uso. O biofertilizante poderá ser armazenado em sacos de aniagem, quando seco a 12% de umidade.

Modo de usar:

O bokashi pode ser utilizado imediatamente após o seu preparo, ou depois de armazenado. Quando aplicado no sulco, põe-se 150 g por metro linear. Pode ser aplicado também a lanço, à base de 600 a 1000 g por metro quadrado.

ANEXO 2:**Análise de Cálcio, Ferro, Magnésio, Zinco e Potássio (MÉTODO 3050 B – EPA)**

Central Analítica – Universidade de Caxias do Sul

- Pesar 1g de amostra seca.
- Adicionar 10mL HNO₃ 1:1, tampar com vidro relógio.
- Aquecer a amostra em 95 °C e refluxar por 15 minutos, sem ferver.
- Deixar a amostra resfriar.
- Adicionar 5 mL de HNO₃ concentrado, tampar com vidro relógio.
- Refluxar por 30 minutos, até isenção de fumos marrons.
- Deixar a amostra evaporar até 5mL, ou aquecer à 95 °C por 2 horas, sem ferver.
- Mantenho o vidro relógio sobre o frasco da reação em todas as etapas.
- Resfriar a amostra, adicionar 2mL de água deionizada e 3mL de água oxigenada 30%.
- Adicionar 1mL de água oxigenada 30% (até no máximo 10mL) até que a efervescência seja mínima (amostra incolor).
- Aquecer a amostra até reduzir o volume a 5mL ou por 2 horas, em 95 °C.
- Adicionar 10mL de HCl concentrado, tampar com vidro relógio.
- Refluxar por 15 minutos, em 95 °C.
- Filtrar a amostra e coletar em balão volumétrico de 100mL.
- Fazer a leitura dos metais na absorção atômica com chama.