

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

**POPULAÇÃO MICROBIANA COMO INDICADORA DE INTERFERÊNCIA DE
DIFERENTES MANEJOS DE SOLOS DE CERRADO COM CULTIVO DE SOJA**

CAMILA MENDES BERNARDES

MARIA AMELIA DOS SANTOS
(Orientadora)

Monografia apresentada ao Curso de
Agronomia, da Universidade Federal de
Uberlândia, para obtenção do grau de
Engenheira Agrônoma.

Uberlândia – MG
Março - 2006

**POPULAÇÃO MICROBIANA COMO INDICADORA DE INTERFERÊNCIA DE
DIFERENTES MANEJOS DE SOLOS DE CERRADO COM CULTIVO DE SOJA**

APROVADO PELA BANCA EXAMINADORA EM 08/03/2006

Prof. Dra. Maria Amelia dos Santos
(Orientadora)

Prof. Dr. Ednaldo Carvalho Guimarães
(Membro da Banca)

Prof. Dr. Armando Takatsu
(Membro da Banca)

Uberlândia – MG
Março - 2006

AGRADECIMENTOS

À Deus, especialmente, o Ser mais importante da minha vida.

À minha família querida, por compreender a minha ausência em momentos tão especiais e por ter investido em mais um dos meus sonhos.

À uma pessoa muito especial em minha vida, Décio, por ter me ajudado tanto.

À minha Orientadora tão especial, por ter se mostrado mais uma vez tão dedicada, competente e profissional em mais uma de suas orientações.

Aos meus amigos, por compreenderem a minha ausência e ainda assim, continuarem se lembrando de mim.

Aos amigos que me ajudaram nessa “batalha”: Adriana, Roosevelt, Ricardo Falqueto, Ademar, Marcos André, Cássio, Evellyn, Maristela, Luiz Zanão, Cecília, Prof. Armando, Marco Aurélio, Sr. Wilson, Sr. Antônio, Aires, Roberto e Prof. Ednaldo.

ÍNDICE

RESUMO	4
1.INTRODUÇÃO	5
2.REVISÃO DE LITERATURA	7
2.1.Actinomicetos	8
2.2.Bactérias do solo	10
2.3.Solubilizadores de fosfato	11
2.4.Leveduras	12
2.5.Celulolíticos	13
3.MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1.Caracterização do local do experimento	14
3.2.Instalação e condução do experimento no campo	15
3.3.Coleta das amostras de solo	15
3.4.Isolamento e contagem dos microrganismos do solo	16
3.4.1.Leveduras	16
3.4.2.Bactérias esporulante	17
3.4.3.Actinomicetos	17
3.4.4.Solubilizadores de fosfato	18
3.4.5.Celulolíticos	19
3.5.Análise estatística	19
4.RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5.CONCLUSÕES	26
6.REFERÊNCIAS	27

RESUMO

Conduziu-se o experimento na Fazenda do Glória e no Laboratório de Nematologia Agrícola do Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, com objetivo de isolar e quantificar actinomicetos, bactérias esporulantes, celulolíticos, leveduras e solubilizadores de fosfato presentes no solo. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com sete tratamentos e quatro blocos. Os tratamentos foram constituídos de sete diferentes combinações de modos de aplicação de calcário e/ou gesso com e/ou sem mecanização para a incorporação do calcário e gesso. As parcelas foram cultivadas com soja “Conquista” e avaliadas nas épocas de semeadura, estágio vegetativo e colheita. De cada amostra de solo coletada, dez gramas de solo foram adicionados a 90 mL de água, constituindo assim a diluição para celulolíticos (10^{-1}); posteriormente, diluiu-se para a concentração 10^{-2} que foi usada para solubilizadores de fosfato e leveduras, e para 10^{-3} , no isolamento de actinomicetos e bactérias esporulantes. A dinâmica da microbiota do solo estudada composta por bactérias esporulantes, celulolíticos, solubilizadores de fosfato e actinomicetos, não foi alterada pelos diferentes manejos adotados em qualquer das três épocas de avaliação. As alterações ocorreram em função das épocas avaliadas e podem ser relacionadas às características biológicas desses microrganismos associadas às condições químicas e físicas do solo. Apenas a população de leveduras teve o crescimento alterado em função não só das épocas de avaliação como também por algumas diferenças estatísticas entre alguns manejos na fase vegetativa.

1- INTRODUÇÃO

O solo constitui-se em um sistema muito dinâmico no qual fatores de natureza física, química e biológica interagem entre si, permitindo a manutenção da vida e o equilíbrio da biosfera.

Como meio para crescimento microbiano, o solo é um ambiente heterogêneo, descontínuo e estruturado, dominado pela fase sólida. As práticas agrícolas alteram as características físicas, químicas e biológicas determinantes das condições de solo, influenciando as diversas populações na comunidade microbiana.

As modificações ocorridas no solo refletem-se na composição, atividade e biomassa da comunidade microbiana, uma vez que a permanência de uma população no ecossistema fica condicionada à sua habilidade de adaptação e de resposta a essas mudanças ambientais (KIRCHNER; WOLLUM; KING, 1993; PEREIRA; NEVES; DROZDOWICZ, 1996).

A fertilidade natural do solo depende da dinâmica da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes, os quais são catalizados pela biomassa microbiana do solo (ALCANTARA, 1995). Assim, o declínio da atividade microbiana tem grande impacto na fertilidade natural do solo, produzindo grandes efeitos nos ecossistemas naturais (BROOKES, 1995).

As avaliações qualitativas e quantitativas das populações na comunidade microbiana nos solos são relevantes, tanto na caracterização das relações entre os diferentes grupos e espécies de microrganismos como na identificação de fatores ambientais que exercem influência no equilíbrio microbiológico dos solos. Isso evidencia a importância em se obter um maior conhecimento da influência do manejo do solo e da cobertura vegetal sobre a população microbiana.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a dinâmica da microbiota do solo pelo isolamento e quantificação de leveduras, actinomicetos, bactérias esporulantes, solubilizadores de fosfato e celulolíticos sob diferentes sistemas de manejo do solo cultivado com soja.

2- REVISÃO DE LITERATURA

No Brasil, mais especificamente em Minas Gerais, as matas naturais, ao longo dos anos, vêm sendo substituídas por culturas agrícolas, pastagens e espécies florestais de rápido crescimento. A mudança na vegetação causa um desequilíbrio no ecossistema e as qualidades intrínsecas da nova vegetação influenciam os processos físico-químicos e biológicos do solo, modificando algumas características como matéria orgânica, complexo argilo-húmico e capacidade de troca de cátions (VELASCO, 1968; VELASCO; LOZANO, 1979).

A cobertura vegetal atua sobre a atividade da microbiota dos solos e, conseqüentemente, sobre o processo de decomposição da matéria orgânica. As modificações no equilíbrio estabelecido entre as populações microbianas ocorrem principalmente em decorrência de alterações de pH, da umidade, da aeração, da temperatura e da disponibilidade de nutrientes orgânicos e inorgânicos, pelo efeito isolado ou do somatório de dois ou mais desses fatores (MADSEN, 1995). A acidez, representada por hidrogênio e alumínio trocável, tem sido reconhecida como uma das características químicas que mais influenciam a atividade biológica e, conseqüentemente, a decomposição

da matéria orgânica do solo (LOPES, 1977). Com relação aos organismos do solo propriamente ditos, tal influência pode ser atribuída diretamente ao efeito tóxico do alumínio e às concentrações de hidrogênio e, indiretamente, ao estado geral da fertilidade do solo, decorrente da alta saturação desses cátions no complexo de troca (DAVEY; DANIELSON, 1968; MUTATKAR; PRITCHETT, 1967).

O manejo agrícola contribui no tamanho e atividade da população microbiana (BOLTON JUNIOR et al., 1985; FRASER et al., 1988; KIRCHNER; WOLLUM; KING, 1993). Algumas populações podem ser consideradas indicadoras da qualidade do solo.

Silva Filho e Vidor (1984) observaram que a aplicação superficial do calcário corrigiu a acidez e adicionou bases em profundidades. Isto foi possível graças aos canalículos produzidos pelo sistema radicular em decomposição e à atividade dos microrganismos. O pH elevado também parece diminuir a atividade de inimigos naturais, especialmente fungos, responsáveis pelo parasitismo de ovos de vários fitonematóides (GINTIS; MORGAN-JONES; RODRIGUEZ-KABANA, 1983).

2.1. Actinomicetos

A maioria dos actinomicetos do solo é aeróbia e heterotrófica. Também são importantes agentes de controle biológico de fungos e bactérias fitopatogênicos. Os actinomicetos representam um grupo bastante heterogêneo de microrganismos com características de fungos e bactérias. Morfológicamente, assemelham-se aos fungos por apresentarem micélio e produzirem esporos assexuais (conídios) e às bactérias Gram negativas por possuírem núcleo primitivo, provocarem turvação em meio líquido, sensibilidade a vírus e produção de antibióticos. São da ordem Actinomycetales. Entretanto, nem todas as bactérias desta ordem são consideradas actinomicetos. No solo, eles

apresentam-se em forma filamentosa com hifas finas (0,5 – 1,2 µm de diâmetro). Sua presença no solo pode ser detectada pela produção de substâncias voláteis com cheiro rançoso característico. Os actinomicetos são mais abundantes em solos secos e quentes, e raros em solos turfosos e encharcados (SIQUEIRA; FRANCO, 1988).

Segundo Pereira (2005), em meio de cultura sólido, as colônias apresentam filamentos ramificados firmemente aderidos ao agar. Estas colônias são constituídas pelo micélio vegetativo submerso em meio de cultura e pelo micélio aéreo, cuja extremidade contém os conídios. Os conídios dão à colônia a aparência aveludada. Além disso, as colônias do gênero *Streptomyces* produzem pigmentos aderidos ao micélio aéreo ou excretados ao meio.

Os actinomicetos são encontrados em muitos habitats. No solo, são numericamente menos dominantes do que outras populações bacterianas, porém são mais numerosos do que populações fúngicas. O gênero *Streptomyces* predomina (70-90% das colônias desenvolvidas em meio de cultura sólido), *Nocardia* usualmente é segundo gênero mais abundante (5-30%), seguido do gênero *Micromonospora*, que ocorrem em frequências que variam de 1 a 15%.

A predominância de actinomicetos no solo é significativa quando os compostos prontamente disponíveis são metabolizados anteriormente. Enquanto que quando os nutrientes começam a ser limitantes e ocorre a pressão dos competidores mais efetivos, as populações desses microrganismos reduzem. Degradam substâncias normalmente não decompostas pelas populações de fungos e outras bactérias, como celulose, hemiceluloses, fenóis, quitina, queratina, ligninas e húmus. Os esporos são a forma predominante destes

microrganismos no solo. As hifas são mais sensíveis ao calor e à dessecação do que os esporos, que por sua vez, são menos resistentes que os endosporos bacterianos. Os esporos possibilitam a sobrevivência em condições ambientais adversas, como períodos de seca ou deficiência nutricional. A faixa ótima de pH para o desenvolvimento desses microrganismos está entre 6,5 e 8,0 sendo pH 5,0 limitante para o crescimento da maioria das espécies em meio de cultura. Eles atuam na decomposição da matéria orgânica e contribuem na estruturação do solo, através de ligações de suas hifas com as partículas do solo.

Alguns actinomicetos são fitopatógenos como o *Streptomyces scabies*, causador da sarna da batatinha. Representantes do gênero *Frankia* fixam o nitrogênio atmosférico através do estabelecimento de simbioses com espécies de angiospermas como *Alnus*, *Casuarina* e *Myrica*, a maioria de porte arbustivo e arbóreo.

A influência dos fatores antibióticos no equilíbrio microbiológico está condicionada à atividade dos microrganismos antagonistas no solo e à ação dos antibióticos sobre as populações sensíveis.

2.2. Bactérias do solo

Segundo (SIQUEIRA; FRANCO, 1988), são microrganismos procarióticos caracterizados pelo pequeno tamanho (0,5-2 x 1-8 μm) sendo, em geral, unicelulares, que se multiplicam por fissão binária e formam colônias. As bactérias do solo são, na maioria, heterotróficas, embora em algumas condições, haja predominância de bactérias autotróficas. Estima-se que existam no solo mais de 800 espécies de bactérias, sendo a maioria pertencente à ordem Eubacteriales, que vivem nos horizontes superficiais do solo, especialmente junto às partículas orgânicas e na rizosfera.

As bactérias constituem o grupo que ocorre em maior número no solo, embora representem apenas entre 25-30 % da biomassa microbiana total dos solos agrícolas. A densidade é máxima em solos úmidos, neutros e alcalinos e com elevado teor de matéria orgânica. Elas estão envolvidas em vários processos no solo, como: a) decomposição da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes; b) transformações bioquímicas específicas (nitrificação/desnitrificação, oxidação e redução do S e elementos metálicos); c) fixação biológica de nitrogênio; d) ação antagônica aos patógenos; e) produção de substâncias de crescimento.

As bactérias do solo são predominantemente pertencentes aos gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Achromobacter*, *Xanthomonas*, *Micrococcus*. Outros gêneros pouco representados, mas de grande importância, incluem representantes das bactérias quimiolitotróficas como *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Thiobacillus*, *Ferrobacillus*, *Hydrogenomonas*, *Dessulfovibrio*, *Methanobacillus* e *Carboxidomonas* que são responsáveis por processos bioquímicos de grande interesse para o sistema solo-planta e, conseqüentemente, para a agricultura. Além desses, são de grande interesse agrônomico representantes dos gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Azorhizobium*, que são fixadores de nitrogênio em simbiose com leguminosas e não-leguminosas do gênero *Parosponia*; *Azospirillum* que fixam nitrogênio em associação com gramíneas; *Beijerinckia*, *Azotomonas*, *Dexia* e *Azotobacter* que são fixadores de vida livre no solo; *Pseudomonas* e *Bacillus*, com ação antagônica aos patógenos.

2.3. Solubilizadores de fosfato

Com relação aos microrganismos solubilizadores de fosfato, as bactérias são potencialmente mais promissoras do que os fungos no processo de solubilização de fosfato.

A ausência da influência da adubação fosfatada sobre o número de bactérias de solos, cultivados ou não, foi notada por Sagardoy e Salerno (1983). Diferentemente, Nuenberg, Vidor e Stammel (1984) mostraram que o número de microrganismos foi dependente da adubação, obtendo-se maior população em solo com adubação mineral ou organomineral em relação ao controle (não adubado). Nahas e Assis (1991) mostraram que o número de fungos, diferentemente das bactérias, não se alterou em resposta à incorporação de nutrientes no solo. Utilizando-se diferentes sistemas de culturas, também não foi encontrada variação no número de fungos e nenhum efeito significativo pelo teor de P (CATTELAN; VIDOR, 1990).

2.4. Leveduras

Segundo (NITZKE; BIEDRZYCKI, 2005), a maioria das leveduras pertence à ordem Saccharomycetales, da classe dos Ascomycetes. Entre as 350 espécies conhecidas de leveduras, a mais comum, *Saccharomyces cerevisiae*, é usada no processo de fermentação para produzir, por exemplo, o álcool do vinho e o gás carbônico que causa o crescimento do pão. As leveduras são ricas em proteína, sais minerais, carboidratos, vitamina B e, por isto, também são usadas para enriquecer as dietas humana e animal. As leveduras são fungos geralmente unicelulares, de tamanhos (de 1-5 μm de diâmetro a 5-30 μm de comprimento) e formas variados. Apresentam características de seres eucarióticos. Têm membrana citoplásmica lipoprotéica a qual, regula as trocas com o meio ambiente. Possuem uma parede rígida, constituída principalmente por manana e glucana (ambos sacarídeos), além de proteínas e lipídeos. No citoplasma, além dos componentes normais, encontramos um ou mais vacúolos, mitocôndrias, retículo citoplasmático, ribossomos e, freqüentemente, grânulos de material de reserva (hidratos de carbono, gorduras e proteínas). O núcleo é

envolvido por uma membrana nuclear, característica dos organismos eucarióticos. Sua reprodução pode ser desenvolvida sexuada ou assexuadamente. A maioria das leveduras, porém, existe como uma parte selvagem do ambiente natural e cresce em plantas e animais ou dispersas pelo ar, água e solo.

2.5. Celulolíticos

A celulose é o polissacarídeo de maior ocorrência natural representando a maior parte do gás carbônico fixado pelas plantas. É o principal componente dos vegetais. A decomposição da celulose no solo ocorre por ação de enzimas (celulases) produzidas por uma vasta e diversa população fúngica (*Trichoderma*, *Chaetomium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* e *Phoma*) e bactérias aeróbicas e anaeróbicas. Nos solos úmidos, os fungos são os microrganismos predominantes que decompõem a celulose, ao passo que nos solos de regiões semi-áridas, as bactérias predominam. Outros fatores físicos e químicos, como pH, temperatura e oxigênio afetam a decomposição da celulose (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002).

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1- Caracterização do local do experimento

O experimento de campo foi conduzido na Fazenda Experimental do Glória, pertencente a Universidade Federal de Uberlândia, município de Uberlândia-MG, posição geográfica 18° 58' 0,7" latitude Sul e 48° 12' 24,6" longitude Oeste, altitude de 830 m, no período de dezembro de 2003 a maio de 2004, com cultivo de soja.

Segundo (KÖPPEN, 1948), o clima predominante é o Aw, que se caracteriza como um clima tropical chuvoso (clima de savana), megatérmico, com inverno seco. A temperatura do mês mais frio é superior a 18°C e a precipitação do mês mais seco é inferior a 60 mm. A precipitação pluviométrica média é de 1.550 mm anuais, caracterizada por um período chuvoso de seis meses (outubro a março), sendo que nos meses de janeiro e dezembro a quantidade precipitada pode atingir de 600 a 900 mm. Julho e agosto são os meses mais secos. O regime de umidade do solo de acordo com a Soil Taxonomy é o "ustic", caracterizado por apresentar a diferença entre as temperaturas médias do verão e do inverno inferior a 5°C e o número de dias acumulados secos, superior a 90 e inferior a 180 dias. A temperatura média do solo a 50 cm de profundidade está em torno de 22°C, sendo

classificado pela Soil Taxonomy como "Isohyperthermic" (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA-EMBRAPA, 1982). A unidade principal de solo é o LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico (EMBRAPA, 1999).

As parcelas no campo apresentaram dimensões de 11,2 x 25 m. O delineamento experimental foi de blocos casualizados com sete tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram: 1 - calcário + gesso incorporados com grade pesada ou arado; 2 - calcário incorporado com grade pesada ou arado; 3 - calcário + gesso aplicados superficialmente; 4 - calcário incorporado com arado escarificador; 5 - calcário + gesso incorporados com arado escarificador; 6 - calcário aplicado superficialmente; 7 - calcário + gesso incorporados com grade.

3.2- Instalação e condução do experimento no campo

Em 17 de dezembro de 2003 realizou-se a semeadura da cultivar de soja Conquista com a semeadora de plantio direto SHM17. As sementes foram fornecidas pelo grupo ABC. O espaçamento entre linhas foi de 0,45 m, com 18 plantas de soja por metro linear. A adubação de semeadura foi de 400 kg do formulado 04-30-16 + 0,2 kg/ha de Zn, correspondendo à aplicação de 16 kg/ha de N, 120 kg/ha de P₂O₅, 64 kg/ha de K₂O e 0,8 kg/ha de Zn. As sementes foram tratadas com 250 mL/100 kg do composto Carboxin-Thiram e inoculadas com 150 mL/ha de *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5019 – SEMIA 587).

3.3- Coleta das amostras de solo

Percorreu-se a parcela em zigue - zague, coletando-se três amostras simples. Em cada amostra simples, 500g de solo foram retirados ao longo dos 20 cm iniciais do perfil do solo. Posteriormente, ocorreu a homogeneização das amostras simples para obtenção de

uma amostra composta constituída de 500 g de solo por parcela. As coletas foram realizadas na semeadura da soja (17/12/03); no meio da fase vegetativa da soja (16/02/04); e na colheita da soja (19/05/04).

3.4- Isolamento e contagem dos microrganismos do solo

As amostras de solo foram processadas no Laboratório de Nematologia Agrícola do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia.

Segundo (EMBRAPA, 1998), cada amostra composta de solo foi homogeneizada e passada em peneira de 20 mesh, para que então fossem tomados 10 g de solo e adicionados a 90 mL de água destilada em frasco tampado. A seguir ocorreu agitação do frasco a 200 rpm por 15 min. Após agitação foi feita a série de diluições até a concentração de 10^{-3} . Posteriormente, foi realizado o plaqueamento com 0,1 mL por placa, cujo procedimento teve 3 repetições para cada uma das diluições correspondentes a cada grupo de microrganismos por amostra composta. O inóculo adicionado em cada placa foi espalhado uniformemente com auxílio da alça de Drigalski. As placas foram colocadas em incubadora a 25°C em posição invertida. A contagem das colônias foi feita após o período correspondente a cada grupo de microrganismos.

3.4.1- Leveduras

O meio de cultura utilizado foi YMA + cloranfenicol + tetraciclina, cuja composição constituiu-se de 1000 mL de água destilada; 3,0 g de extrato de levedura; 3,0 g de extrato de malte; 5,0 g de peptona; 10,0 g de glicose; 20,0 g de ágar. Após ter ocorrida a esterilização na autoclave, foram adicionados 100 mg de cloranfenicol e 100 mg de tetraciclina dissolvidos em água destilada esterilizada.

Os tubos de diluição 10^{-2} foram homogeneizados e 0,1 mL foi plaqueado em cada placa de Petri contendo o meio de cultura. A avaliação ocorreu 3 a 5 dias após o plaqueamento, com a observação e contagem de colônias de leveduras presentes, e determinou-se o número de unidades formadoras de colônias por grama de solo.

3.4.2- Bactérias esporulantes

O meio de cultura utilizado foi o Nutriente Ágar (NA), cuja composição constituiu-se de 1000 mL de água destilada; 5,0 g de peptona; 3,0 g de extrato de carne e 15,0 g de ágar bacteriológico.

Os tubos de diluição 10^{-3} sofreram choque térmico em banho maria a 85°C por 15min, antes que fossem plaqueados para que restassem apenas as bactérias esporulantes após o tratamento térmico. Vinte e quatro a 48h, foram observadas e contadas colônias opacas com superfície lisa e plana, e determinou-se o número de unidades formadoras de colônias por grama de solo.

3.4.3- Actinomicetos

O meio de cultura utilizado foi o Amido-Caseína-Ágar (ACA), cuja composição constituiu-se de 1000 mL de água destilada; 10,0 g de amido; 2,3 g de caseína; 2,0 g de nitrato de potássio; 2,0 g de cloreto de sódio; 2,0 g de fosfato de potássio diabásico; 0,05 g de sulfato de magnésio; 0,01 g de sulfato ferroso e 16,0 g de ágar.

Os tubos da diluição 10^{-3} sofreram choque térmico em banho maria a 50°C por 10min, antes do plaqueamento de 0,1 mL em cada placa de Petri. Após 5 a 7 dias, as colônias foram observadas no que diz respeito a serem compactadas, sem brilho e odor característico de terra molhada.

3.4.4- Solubilizadores de fosfato

O meio de cultura utilizado foi Glicose-Extrato de solo-Sais inorgânicos (GES), onde em cada 900 mL de água destilada foram acrescentados 15,0 g de fosfato tricálcio; 10,0 g de glicose; 100 mL de extrato de solo; 0,2 g de sulfato de magnésio; 0,02 g de cloreto de cálcio anidro; 0,1 g de cloreto de sódio; 0,1 g de nitrato de potássio; 2,0 mL de solução de micronutrientes; 4,0 mL de Fe – EDTA e 16,0 g de ágar. O extrato de solo foi obtido da seguinte maneira: coletou-se 1,0 Kg de solo de mata que foi peneirado, adicionado a 1 L de água destilada e autoclavado por 30 min. Realizou-se a filtração e completou-se o volume do filtrado para 1000 mL ajustando-se o pH em 7,2.

A solução de micronutrientes teve a composição de: 0,2 g de molibdato de cálcio; 0,235 g de sulfato de manganês; 0,28 g de ácido bórico; 0,08 g de sulfato cúprico; 0,024 g de sulfato de zinco e 200 mL de água destilada.

O Fe – EDTA teve a composição de: 0,11 g de sulfato ferroso; 0,14 g de EDTA e 100 mL de água destilada. Os ingredientes foram dissolvidos separadamente (50 mL de água para cada). Aqueceu-se a solução de EDTA (EDTA + 50 mL de água) e misturou-se à solução de sulfato ferroso a quente. Após o preparo, a solução foi armazenada em geladeira.

A diluição 10^{-2} foi usada para o plaqueamento de 0,1 mL em cada placa. Após 10 a 15 dias, foram contadas as colônias que formaram ao redor de si um halo transparente de solubilização do fosfato inorgânico adicionado ao meio de cultura que tornava-o branco e opaco (precipitado de fosfato insolúvel de cor leitosa ao meio agarizado).

3.4.5- Celulolíticos

O meio de cultura utilizado foi o Celulose–Asparagina–Ágar (CAA) que constituiu-se de 1000 mL de água destilada; 0,5 g de sulfato de amônio; 0,5 g de L-asparagina; 1,0 g de fosfato de potássio monobásico; 0,5 g de cloreto de potássio; 0,2 g de sulfato de magnésio; 0,1 g de cloreto de cálcio anidro; 0,5 g de extrato de levedura; 10,0 g de celulose microcristalina e 20,0 g de ágar.

Após a autoclavagem, adicionou-se 5 mL/litro da solução de Triton X-100 a 10%. A adição de Triton X-100 visou reduzir o tamanho das colônias de fungos e assim facilitar a visualização do halo de degradação da celulose. A diluição 10^{-1} foi usada para o plaqueamento de 0,1 mL. Após 10 a 15 dias, na avaliação considerou-se somente as colônias que formaram ao redor de si um halo transparente que correspondeu à celulose degradada. Para a contagem de colônias, foi utilizada a solução de Iodo (Lugol), cuja composição foi de 100 mL de água destilada; 1,0 g de iodo e 2,0 g de iodeto de potássio. A solução foi preparada em local escuro esmagando-se o iodo e o iodeto de potássio em almofariz de porcelana, onde foi adicionada a água lentamente. Continuou-se o esmagamento até obter uma solução. A solução foi armazenada em frasco completamente coberto com papel alumínio para que a mesma fosse mantida no escuro.

3.5. Análise estatística

As análises dos dados obtidos foram realizadas pelo programa estatístico SISVAR, realizando-se análise de variância em delineamento de blocos casualizados e teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para cada microrganismo avaliado, utilizou-se um esquema fatorial 7 x 3, correspondente aos tipos de manejo e às épocas de avaliação, respectivamente.

4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

O comportamento das populações de bactérias esporulantes, actinomicetos, leveduras, celulolíticos e solubilizadores de fosfato não foi alterado pelos diferentes manejos aplicados em qualquer das três épocas avaliadas. Já a época interferiu na dinâmica populacional desses microrganismos.

Em relação ao comportamento da população de actinomicetos (Tabela 1), observa-se que o maior crescimento ocorreu na fase vegetativa. Esse fato está diretamente relacionado à maior quantidade de biomassa e, conseqüentemente, de rizosfera, presente nessa época. Tal fato permitiu maior atuação dos actinomicetos. Além disso, tem-se observado que no cerrado, a densidade dessa população aumenta rapidamente após a calagem (COELHO; DROZDOWICZ, 1978). O cultivo da soja em solo do cerrado incrementa de maneira diferenciada a densidade da população de actinomicetos.

Deve-se ainda destacar que o número de esporos produzidos também pode estar associado com a diversidade da população de actinomicetos presentes no solo (VOBIS, 1997).

Tabela 1- Número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) x 10⁴/g de solo de actinomicetos em solo cultivado com soja e submetido a diferentes manejos. UFU, Uberlândia, 2004.

Manejos***	Semeadura	Fase vegetativa	Colheita	
M1	6,42*a**	237,75 c	20,75 b	88,31 A**
M2	6,58 a	189,83 b	14,50 a	70,31 A
M3	6,67 a	223,25 b	9,33 a	79,75 A
M4	5,83 a	204,92 c	13,75 b	74,83 A
M5	8,08 a	234,92 c	17,00 b	86,67 A
M6	8,08 a	150,75 b	10,92 a	56,58 A
M7	10,08 a	157,92 c	19,25 b	62,42 A
	7,39	199,90	15,07	

C.V.(%) = 22,6

* Médias originais. Para análise estatística, os dados foram transformados para log (x).

**Letras iguais maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

***M1 = calcário + gesso incorporados com grade pesada ou arado; M2 = calcário incorporado com grade pesada ou arado; M3 = calcário + gesso aplicados superficialmente; M4 = calcário incorporado com arado escarificador; M5 = calcário + gesso incorporados com arado escarificador; M6 = calcário aplicado superficialmente; M7 = calcário + gesso incorporado com grade.

Em se tratando do comportamento da população de bactérias esporulantes, observa-se que a maior população ocorreu na época da semeadura (Tabela 2), período onde havia considerável umidade no solo e menor competição entre os microrganismos. Um decréscimo significativo da densidade da população pode estar associado com a deficiência hídrica do solo, potencializado pelos efeitos resultantes das mudanças na cobertura vegetal do solo (DROZDOWICZ, 1991; MADSEN, 1995). Tal fato justifica o decréscimo da população na fase vegetativa e na colheita. Apesar de o solo estar úmido na fase vegetativa, observa-se um decréscimo na população, provavelmente em função da maior competição entre microrganismos. Na época da colheita, observa-se o menor crescimento, em função do período mais seco e redução de cobertura vegetal no solo. Em baixos potenciais hídricos, a maioria das bactérias é inativa, pois seu movimento é restringido. Fatores como a modificação da cobertura vegetal e o pH do solo também podem alterar o crescimento da

população de bactérias (CATELLAN; VIDOR, 1990; PEREIRA; NEVES; DROZDOWICZ, 1996; SÁ et al., 1983).

Tabela 2- Número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) x 10⁴/g de solo de bactérias esporulantes em solo cultivado com soja e submetido a diferentes manejos. UFU, Uberlândia, 2004.

Manejos***	Semeadura	Fase vegetativa	Colheita	
M1	233,58*Aa**	205,08 Aa	61,50 ABb	166,72
M2	234,00 Aa	123,83 Ab	63,17 ABc	140,33
M3	245,50 Aa	160,83 Ab	70,42 Bc	158,92
M4	237,25 Aa	183,00 Ab	34,42 Ac	151,55
M5	245,83 Aa	220,75 Aa	34,08 Ab	166,89
M6	291,92 Aa	166,58 Ab	54,25 ABc	170,92
M7	214,33 Aa	144,25 Ab	48,67 ABc	135,75
	243,20	172,05	52,36	

C.V.(%) = 22,6

* Médias originais. Para análise estatística, os dados foram transformados para log (x).

**Letras iguais maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

***M1 = calcário + gesso incorporados com grade pesada ou arado; M2 = calcário incorporado com grade pesada ou arado; M3 = calcário + gesso aplicados superficialmente; M4 = calcário incorporado com arado escarificador; M5 = calcário + gesso incorporados com arado escarificador; M6 = calcário aplicado superficialmente; M7 = calcário + gesso incorporado com grade.

Estatisticamente, pode-se dizer que houve diferença no crescimento da população de celulolíticos apenas entre a fase vegetativa e a colheita (Tabela 3). A maior população, em valores absolutos, ocorreu na época da colheita. Tal fato está associado ao maior teor de matéria seca nessa época, que significa maior quantidade de celulose disponível para a atuação desses microrganismos. Os celulolíticos transformam esse material vegetal em húmus, glicose e outros nutrientes utilizados pelas plantas e por microrganismos. O menor desenvolvimento da população desses microrganismos na fase vegetativa, pode estar associado à maior competição entre os microrganismos nessa época.

Tabela 3- Número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) x 10³/g de solo de celulolíticos em solo cultivado com soja e submetido a diferentes manejos. UFU, Uberlândia, 2004.

Manejos***	Semeadura	Fase vegetativa	Colheita	
M1	3,75*A**	4,17 A	5,08 AB	4,33
M2	3,67 A	3,75 A	4,83 AB	4,08
M3	3,58 A	2,67 A	5,42 AB	3,89
M4	3,75 A	2,83 A	4,00 AB	3,53
M5	3,75 A	4,00 A	2,17 A	3,31
M6	3,92 A	3,75 A	5,50 B	4,39
M7	3,58 A	4,17 A	4,08 AB	3,94
	3,71 ab	3,62 a	4,44 b	

C.V.(%) = 58,46

* Médias originais. Para análise estatística, os dados foram transformados para log (x).

**Letras iguais maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

***M1 = calcário + gesso incorporados com grade pesada ou arado; M2 = calcário incorporado com grade pesada ou arado; M3 = calcário + gesso aplicados superficialmente; M4 = calcário incorporado com arado escarificador; M5 = calcário + gesso incorporados com arado escarificador; M6 = calcário aplicado superficialmente; M7 = calcário + gesso incorporado com grade.

Não foram observadas diferenças entre as populações de leveduras tanto na época de semeadura como de colheita (Tabela 4). Na época de semeadura, a maior população se justifica pela presença de umidade no solo e menor competição entre os microrganismos. Na época da colheita, a maior população em relação à fase vegetativa, deve-se à maior atuação das leveduras no processo de decomposição da palhada. Já na fase vegetativa, onde também havia umidade no solo, ocorreu maior competição entre os microrganismos, promovendo um decréscimo na população de leveduras. A maior competição dos microrganismos na fase vegetativa pode ser explicada pelo fato de cada grupo atuar de maneira mais específica em seus substratos particulares.

Na fase vegetativa, o manejo 2 apresentou diferença estatística em relação aos manejos 1, 3, 4, 6 e 7. Nesse manejo, a população de leveduras se apresentou menor quando comparada aos demais manejos. Também o manejo 6, além de apresentar diferença

significativa em relação ao manejo 2, também a apresentou em relação ao manejo 5; em ambos os casos, a população de leveduras foi maior no manejo 6 quando comparada com as populações dos manejos 2 e 5.

Tabela 4- Número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) x 10³/g de solo de leveduras em solo cultivado com soja e submetido a diferentes manejos. UFU, Uberlândia, 2004.

Manejos***	Semeadura	Fase vegetativa	Colheita	
M1	113,50*Aa**	29,33 BCb	92,75 Aa	78,53
M2	113,50 Aa	15,75 Ab	79,67 Aa	69,64
M3	116,42 Aa	19,17 BCb	82,67 Aa	72,75
M4	125,67 Aa	19,58 BCb	111,58 Aa	85,61
M5	105,92 Aa	18,67 ABb	96,08 Aa	73,56
M6	119,17 Aa	32,58 Cb	124,17 Aa	91,97
M7	107,83 Aa	19,42 BCb	79,58 Aa	68,94
	114,57	22,07	95,21	

C.V.(%) = 24,01

* Médias originais. Para análise estatística, os dados foram transformados para log (x).

**Letras iguais maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

***M1 = calcário + gesso incorporados com grade pesada ou arado; M2 = calcário incorporado com grade pesada ou arado; M3 = calcário + gesso aplicados superficialmente; M4 = calcário incorporado com arado escarificador; M5 = calcário + gesso incorporados com arado escarificador; M6 = calcário aplicado superficialmente; M7 = calcário + gesso incorporado com grade.

Em relação ao comportamento da população dos solubilizadores de fosfato, estatisticamente não houve diferença no crescimento da população quanto às épocas de semeadura e fase vegetativa (Tabela 5). A multiplicação ocorreu, em termos absolutos, em ordem crescente desde a semeadura até a colheita. A maior atuação dos solubilizadores está diretamente relacionada à escassez de fósforo no solo disponibilizado pelo adubo químico. Na época da semeadura, como havia no solo maior disponibilidade de fósforo pelo adubo químico, a atuação dos solubilizadores foi menor. Já na fase vegetativa, onde começa o esgotamento do adubo químico, a população multiplicou-se mais intensamente para

disponibilizar fósforo para as plantas. Na época da colheita é que se pode observar o maior crescimento da população, resultante da atuação e conseqüente multiplicação do microrganismo. Também tem sido assinalado que o tipo de solo, a espécie e a idade da planta afetam o processo de solubilização (ODUNFA; OSO, 1978). Entre as plantas cultivadas, foi constatada maior presença de bactérias solubilizadoras em leguminosas do que em gramíneas (SYLVESTER-BRADLEY et al., 1982). O número de bactérias totais aumenta em decorrência da calagem (SAGARDOY; SALERNO, 1983). O número de fungos aumenta quando há o plantio de braquiária associado ao superfosfato ou na ausência de planta e adubo. Enquanto as bactérias se desenvolvem em uma estreita faixa de pH mais próxima da neutralidade, os fungos desenvolvem-se bem em ambiente ácido em uma faixa mais ampla de pH (ALEXANDER, 1977). Essas características explicam porque as bactérias respondem ao aumento do pH, ao passo que os fungos não respondem.

Tabela 5- Número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) x 10³/g de solo de solubilizadores de fosfato em solo cultivado com soja e submetido a diferentes manejos. UFU, Uberlândia, 2004.

Manejos***	Semeadura	Fase vegetativa	Colheita	
M1	4,25*	3,92	6,42	4,86 A**
M2	3,25	4,00	5,17	4,14 A
M3	3,67	4,08	5,00	4,25 A
M4	4,50	5,42	5,58	5,17 A
M5	4,17	3,50	5,17	4,28 A
M6	3,75	3,67	5,17	4,19 A
M7	3,67	5,17	4,83	4,56 A
	3,89 a	4,25 a	5,33 b	

C.V.(%) = 46,47

* Médias originais. Para análise estatística, os dados foram transformados para log (x).

**Letras iguais maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

***M1 = calcário + gesso incorporados com grade pesada ou arado; M2 = calcário incorporado com grade pesada ou arado; M3 = calcário + gesso aplicados superficialmente; M4 = calcário incorporado com arado escarificador; M5 = calcário + gesso incorporados com arado escarificador; M6 = calcário aplicado superficialmente; M7 = calcário + gesso incorporado com grade.

5- CONCLUSÕES

A dinâmica da microbiota do solo estudada composta por bactérias esporulantes, celulolíticos, solubilizadores de fosfato e actinomicetos, não foi alterada pelos diferentes manejos adotados em qualquer das três épocas de avaliação. As alterações ocorreram em função das épocas avaliadas e podem ser relacionadas às características biológicas desses microrganismos associadas às condições químicas e físicas do solo. Apenas a população de leveduras teve o crescimento alterado em função não só das épocas de avaliação como também por algumas diferenças estatísticas entre alguns manejos na fase vegetativa.

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCANTARA, R. M. C. M. **Propriedades químicas e bioquímicas e suas inter-relações em solos sob vegetação de mata e campo adjacentes.** 1995. 84 f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1995.

ALEXANDER, M. **Introduction to soil microbiology.** New York: J. Wiley, 1977. 467 p.

BOLTON JUNIOR, H.; ELLIOTT, L. F.; PAPENDICK, R. I.; BEZDICEK, D. F. Soil microbial biomass and selected soil enzyme activities: effect of fertilization and cropping practices. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 17, n. 3, p. 297-302, 1985.

BROOKES, P. C. The use of microbial parameters in soil pollution by heavy metals. **Biology and fertility of soils**, Berlin, v. 19, n. 4, p. 269-279, mar., 1995.

CATTELAN, A. J.; VIDOR, C. Sistemas de culturas e a população microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 14, n. 2, p. 125-132, mai., 1990.

COELHO, R. R. R.; DROZDOWICZ, A. The occurrence of actinomycetes in a Cerrado soil in Brazil. **Révue d'Ecologie et de Biologie du Sol**, Montrouge, v. 15, n. 4, p. 459-473, 1978.

DAVEY, C. B.; DANIELSON, R. M. Soil chemical factors and biological activity. **Phytopathology**, Worcester, v. 58, p. 900-908, 1968.

DORAN, J. W. Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 44, n. 4, p. 765-771, 1980.

DROZDOWICZ, A. G. Microbiologia ambiental. In: ROITMAN, I.; TRAVASSOS, I.R.; AZEVEDO, J.L. (Ed.). **Tratado de microbiologia**. Rio de Janeiro, 1991. v. 2, p. 1-102.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. **Levantamento de reconhecimento de média intensidade dos solos e avaliação da aptidão agrícola das terras do Triângulo Mineiro**. Rio de Janeiro, 1982. 526 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Meio Ambiente. **Metodologias de análise para estudo de impacto do manejo agrícola sobre a microbiota do solo**. Jaguariúna, 1998. 80 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, 1999. 412 p.

FRASER, D. G.; DORAN, J. W.; SAHS, W. W.; LESOING, G. W. Soil microbial population and activities under conventional and organic management. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 17, n. 1, p. 585-590, 1988.

GINTIS, B. O.; MORGAN-JONES, G.; RODRIGUEZ-KÁBANA, R. Fungi associated with several developmental stages of *Heterodera glycines* from an Alabama soybean field soil. **Nematropica**, v. 13, n. 2, p. 181-200, 1983.

KIRCHNER, M. J.; WOLLUM, A. G.; KING, L. D. Soil microbial populations and activities in reduced chemical input agroecosystems. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 57, n. 5, p. 1289-1295, sep., 1993.

KÖPPEN, W. **Climatologia**: con un estudio de los climas de la tierra. Fondo de Cultura Economica, Mexico, 1948.

LOPES, D. N. **Influência do calcário, fósforo e micronutrientes na mineralização da matéria orgânica e características físico-químicas de material de três solos de**

Altamira (Pará). 1977. 74 f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1977.

MADSEN, E. L. Impacts of agricultural practices on subsurface microbial ecology. In: SPARKS, D. L. (Ed.). **Advances in Agronomy**. San Diego: Academic Press, 1995. v. 54, p. 1-67.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2002. 626 p.

MUTATKAR, V. K.; PRITCHETT, W. L. Effects of added aluminum on some soil microbial processes and the growth of oats (*Avena sativa*) in arredondo fine sand. **Soil Science**, Baltimore, v. 103, p. 39-45, 1967.

NAHAS, E.; ASSIS, L. C. Efeito da adição ao solo de fosfato solúvel obtido por via microbiológica a partir de fluorapatita. **Revista Latinoamericana de Microbiologia**, México, v. 33, n. 2/3, p. 225-229, 1991.

NITZKE, J. A.; BIEDRZYCKI, A. **Leveduras**. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/Alimentus/pao/fermentacao/levedura.htm>>. Acesso em: 13 mar. 2006.

NUENBERG, N. J.; VIDOR, C.; STAMMEL, J. G. Efeito de sucessões de culturas e tipos de adubação na densidade populacional e atividade microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 8, n. 2, p. 197-203, mai., 1984.

ODUNFA, V. S. A.; OSO, B. A. Bacterial population in the rhizosphere soils of cowpea and sorghum. **Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol**, Paris, v. 15, n. 4, p. 413-420, 1978.

PEREIRA, J. C. **População de actinomicetos como componentes da comunidade bacteriana nos solos**. Disponível em: <<http://www.cnpab.embrapa.br/servicos/baby/actino.html>>. Acesso em: 19 set. 2005.

PEREIRA, J. C.; NEVES, M. C. P.; DROZDOWICZ, A. **Quantificações das populações de bactérias em geral, de bactérias resistentes a antibióticos e de actinomicetos em solos**. Seropédica : Embrapa-CNPAB, 1996. 20 p. (Documentos, 26).

SÁ, N. M. H.; SCOTTI, M. R. M. M. L.; VARGAS, M. A. T.; DÖBEREINER, J. Resistência natural à estreptomicina e eficiência de estirpes de *Rhizobium* nativas nos cerrados associadas a *Stylosanthes*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 3, p. 213-218, mar. 1983.

SAGARDOY, M. A.; SALERNO, C. M. Number, distribution, and characterization of heterotrophic bacteria in some Argentine soils. **Anales de Edafologia y Agrobiologia**, Madrid, v. 42, p. 2069-2081, 1983.

SILVA-FILHO, G. N.; VIDOR, C. As práticas de manejo de solo na população microbiana. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Campinas, v. 8, n. 3, p. 291-296, set., 1984.

SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. **Biotechnology do solo: fundamentos e perspectivas**. Brasília: MEC Ministério da Educação, ABEAS; Lavras: ESAL, FAEPE, 1988. 236 p.

SYLVESTER-BRADLEY, R.; ASAKAWA, N.; LA TORRACA, S.; MAGALHÃES, F. M. M.; OLIVEIRA, L.; PEREIRA, R. M. Levantamento quantitativo de microorganismos solubilizadores de fosfatos na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 12, n. 1, p. 15-22, mar., 1982.

VELASCO, F. P. Variaciones en la composición y naturaleza de lãs substancias humica de um suelo climax de *Quercus toza* Bosc. Producidas por la implantación de *Pinus pinaster*. **Anales de Edafologia y Agrobiologia**, Madrid, v. 28, p. 389-398, 1968.

VELASCO, F. P.; LOZANO, J. M. Câmbios sincológicos de la microflora telúrica associados a los repoblaciones florestales con espécies exóticas. **Anales de Edafologia y Agrobiologia**, Madrid, v. 37, p. 871-878, 1979.

VOBIS, G. Morphology of actinomycetes. In: MIYADOH, S. (Ed.). **Atlas of actinomycetes**. Tokyo: Asakura, 1997. p. 180-191.