



Foto: José Ernani Schwengber

COMUNICADO
TÉCNICO

361

Pelotas, RS
Novembro, 2018

Embrapa

Efeito da Estratégia de Compostagem Laminar e da Associação de Cultivos sobre a Microbiota Geral Residente no Solo

Daniela Pimentel Rodriguez
Gabriela Xavier Giacomini
Yasmin Santos Lourenço
Glaucia de Figueiredo Nachtigal
José Ernani Schwengber
Gustavo Schiedeck
Carlos Augusto Posser Silveira
Daniel Lopes de Lima

Efeito da Estratégia de Compostagem Laminar e da Associação de Cultivos sobre a Microbiota Geral Residente no Solo¹

¹ Daniela Pimentel Rodriguez, bióloga, mestre em Fitossanidade, doutoranda em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, Universidade Federal de Pelotas, RS; Gabriela Xavier Giacomini, gestora ambiental, mestre em Química, doutoranda em Química, Universidade Federal de Pelotas, RS; Yasmin Santos Lourenço, gestora ambiental, mestre em Ciências, doutoranda em Manejo e Conservação do Solo e da Água, Universidade Federal de Pelotas, RS; Glaucia de Figueiredo Nachtigal, engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS; José Ernani Schwengber, engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS; Gustavo Schiedeck, engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS; Carlos Augusto Posser Silveira, engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS; Daniel Lopes de Lima, biólogo, mestre em Fitossanidade, assistente da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

Considerações Iniciais sobre a Prática de Compostagem Laminar

Dentre as diversas práticas de manejo desenvolvidas para a produção de base ecológica, a compostagem laminar destaca-se por promover dinamismo e complexidade à produção agrícola. Consiste em processo dirigido de decomposição de resíduos orgânicos na superfície do solo, à semelhança do que ocorre com a degradação da serrapilheira nas matas (Schwengber; Schiedeck, 2011). A decomposição do material orgânico ocorre na superfície do solo, onde os processos fermentativos são

aeróbios, de modo a gerar ambiente propício para o desenvolvimento da microbiota presente no solo, com ganhos na biodiversidade funcional local. A prática tem sido utilizada tanto em canteiros para a produção de hortaliças quanto em pomares de frutas, nos quais é efetuada na área de projeção da copa das plantas, mantendo-se um distanciamento do tronco de aproximadamente 0,5 m de raio (Schwengber et al., 2007).

Microbiota Benéfica e as Interações com as Espécies Vegetais

A biomassa microbiana corresponde à fração viva da matéria orgânica presente no solo e se configura como o

principal fator responsável por todos os processos biológicos e bioquímicos, que estão em constante alteração devido às condições do meio ambiente. A biomassa microbiana do solo é constituída, principalmente, por bactérias, fungos, actinobactérias e microfauna, formando uma extensa comunidade no solo.

Estima-se que a comunidade microbiana perfaça um volume de menos de 5% do espaço poroso do solo (Siqueira et al., 1994). Nesse ambiente, diferentes relações são estabelecidas entre os microrganismos, de fundamental importância para a manutenção da vida e do equilíbrio do ecossistema. Vários são os fatores desencadeantes dessas inter-relações, com destaque para a exsudação radicular (Rudrappa et al., 2008). A quimiotaxia é um fenômeno que resulta de um sinal bioquímico pelo qual as plantas recrutam os microrganismos na rizosfera, por meio da liberação de hidratos de carbono e aminoácidos específicos (Somers et al., 2004). Tal fato sugere que as plantas sejam capazes de moldar a composição da microbiota na sua rizosfera (Bais et al., 2006; Berg, 2009; Garbeva et al., 2011; Micallef et al., 2009), ou seja, a planta pode determinar a composição da microbiota da raiz por secreção ativa de compostos, os quais estimulam ou reprimem especificamente alguns membros da comunidade microbiana (Doornbos et al., 2012). Alguns compostos exsudados de cultivos puros de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*), pepino (*Cucumis sativus*) e pimentão (*Capsicum annum*), tais como ácidos orgânicos, ácido cítrico,

ácido succínico e ácido málico, são vistos como ativadores de grupos microbianos específicos no solo que, após receberem esses compostos, passam a ocupar a rizosfera dessas plantas (Kamilova et al., 2006; Haichar et al., 2008).

A atividade de grupos microbianos específicos na rizosfera ocorre de forma indireta, por meio da disponibilização de nutrientes via degradação de compostos orgânicos, a exemplo dos microrganismos com potencial para fixação de nitrogênio e solubilizadores de fósforo, ativação do sistema de defesa vegetal, produção de agentes quelantes e produção de moléculas análogas a fitormônios. Diferentemente, a interação direta mediada entre plantas e certos microrganismos habitantes da rizosfera ocorre pela inibição do desenvolvimento de pragas e fitopatógenos, pela produção de compostos antibacterianos e antifúngicos capazes de impedir a infecção por fitopatógenos (Vasconcellos; Cardoso, 2009). É assim que certos exsudatos possuem a capacidade de influenciar a motilidade flagelar em algumas bactérias e actinobactérias na rizosfera (De Weert et al., 2002), de modo que o patógeno originário do solo precisa crescer saprofiticamente na rizosfera e alcançar um número de propágulos suficiente para que possa infectar o tecido da planta e escapar da zona de atuação dos agentes antagonísticos.

Com base nas importantes funções que os microrganismos desempenham no solo, fica clara a necessidade de se compreender as relações ecológicas

e seus mecanismos de sobrevivência nesse ambiente, a fim de otimizar a microbiota benéfica, com vistas à sustentabilidade e à produtividade nos agroecossistemas.

Microbiota Benéfica Presente em Agroecossistema Manejado por Compostagem Laminar

Avaliações das densidades populacionais na comunidade microbiana de agroecossistemas manejados por meio de compostagem laminar são importantes, tanto na identificação de fatores que exercem influência no equilíbrio microbiológico, quanto na caracterização das relações entre os diferentes grupos e espécies de microrganismos (Pereira et al., 1996). No entanto, tal diversidade microbiana é, ainda, pouco conhecida, constituindo foco de ações de pesquisa empreendidas na Embrapa Clima Temperado nos últimos anos. Foco tem sido direcionado em encontrar variáveis relacionadas à atividade de microrganismos do solo que indicam a influência da sequência de cultivos em solo manejado pela estratégia de compostagem laminar (Figura 1).

Uma área experimental instalada na Estação Experimental Cascata, inicialmente adubada com pó de rocha do tipo Migmatito (fonte de cálcio, magnésio e



Foto: José Ernani Schwengber

Figura 1. Canteiros manejados com pó de rocha Migmatito e compostagem laminar, submetidos ao plantio de hortaliças na Estação Experimental Cascata, Embrapa Clima Temperado.

potássio), nas doses $2.000 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, $4.000 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ e $6.000 \text{ Kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, dividida em canteiros manejados com compostagem laminar e cultivo de hortaliças (Figura 1) e, sequencialmente, por meio de pousio (vegetação natural e feijão-miúdo) e, por fim, palhada oriunda dos resíduos do cultivo anterior, com acréscimo de 2 kg por m^2 de esterco bovino curado, foi monitorada, ao longo de dois anos, quanto à população de actinobactérias e fungos, incluindo *Trichoderma* spp. Coletas de solo, à profundidade de até 20 cm , foram realizadas ao término do cultivo das hortaliças (02 de agosto de 2016), durante o período de pousio (21 de novembro de 2016) e, novamente, durante período de acréscimo de esterco e palhada ao solo (24 de julho de 2017). As avaliações foram efetuadas com base na técnica de diluições seriadas de suspensão de volume conhecido de solo, em solução salina a $8,5\%$ (v/v) ou água destilada esterilizada, e posterior

plaqueamento em meios solo-ágar (Pramer; Schmidt, 1964) e meio Martin modificado (Martin; Lewis, 1997), com vistas à determinação da densidade populacional específica, expressa por unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de solo (Figura 2).

Os resultados permitiram inferir, ainda que com ressalvas, a participação exercida por espécies de plantas na mediação da microbiota a elas associadas.



Foto: Daniela Rodriguez

Figura 2. Unidades formadoras de colônias (UFC) oriundas do plaqueamento em meio seletivo solo-ágar aos 15 dias de incubação sob temperatura de 25 °C.

De fato, a densidade populacional fúngica presente no solo diminuiu entre a época relacionada ao pousio, com cultivo de feijão-miúdo e vegetação natural, e a nova introdução de palhada e esterco bovino nos canteiros destinados ao cultivo de hortaliças. Já a densidade populacional de actinobactérias sofreu incremento no período de deposição de esterco bovino e palhada aos canterios, em comparação àquela verificada com o cultivo de hortaliças (Tabela 1).

As plantas investem uma considerável fração de seu carbono fotossintético em exudatos radiculares, uma coleção

de compostos de baixo peso molecular liberados na rizosfera (Bais et al., 2006). Os dados foram incipientes, contudo, para afirmar que as espécies vegetais foram responsáveis pela mediação de grupos específicos de microrganismos, a exemplo de *Trichoderma* spp. e de actinobactérias, conforme foco inicial do trabalho, uma vez que ambos desempenham a função de agentes de controle biológico de fitopatógenos e também estimulantes do crescimento de plantas (Harmann et al., 2004; Sharma et al., 2005).

De acordo com Elad et al. (1981), quantificar *Trichoderma* spp. no solo é frequentemente difícil, devido ao crescimento relativamente rápido de outros microrganismos fúngicos do solo. Da mesma forma, actinobactérias envolvem contaminação com outros microrganismos do solo (Dhingra; Sinclair, 1985), quando plaqueados em meios de cultivo destinados à estimativa de propágulos.

Aparentemente, o suplemento de esterco bovino teve uma contribuição expressiva para o incremento na densidade de propágulos de actinobactérias na terceira coleta, independentemente da quantidade de pó de rocha utilizada, fato que tendeu a seguir as variações sazonais de umidade, típicas das condições de inverno e verão para o local amostral. De fato, a umidade, oriunda das chuvas que acometem a região amostral no inverno, pode ter afetado diferencialmente a decomposição da matéria orgânica mediada pelas actinobactérias, com a consequente dissolução de nutrientes.

Tabela 1. Determinação da população de fungos e actinobactérias em área de produção de hortaliças com manejo por compostagem laminar, Estação Experimental Cascata, Embrapa Clima Temperado, 2016/2017.

Tratamentos	Fungos (x103) g-1 solo				Actinomicetos (x106) g-1 solo			
	21 nov. 2016		24 jul. 2017		2. ago. 2016		24. jul. 2017	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp	Média	dp
Controle	2,0	0,4	0,0	0,0	6,0	3,2	9,5	1,6
2x10³ kg	1,8	0,5	0,3	0,3	3,3	1,9	6,3	3,6
4x10³ kg	1,3	0,5	0,3	0,3	1,5	0,9	5,8	0,8
6x10³ kg	2,5	0,9	0,0	0,0	1,5	0,9	10,3	1,4

Os dados, avaliados à luz da quantidade de pó de rocha, colocada anteriormente à primeira data de coleta, permitiram inferir que o pó de rocha pouco afetou a densidade de propágulos fúngicos detectados em cada época de coleta, diferentemente do observado para actinobactérias. Maior densidade de propágulos obtidos para actinobactérias na primeira coleta foi encontrada quando utilizou-se 2 mil Kg, e os menores valores com o uso de 6 mil Kg de pó de rocha, diferentemente do encontrado para a densidade populacional de actinobactérias na terceira coleta. Há de se considerar, no entanto, o distanciamento da terceira coleta em relação à deposição de pó de rocha na área experimental.

Pouco é conhecido sobre a variabilidade espacial e temporal de microrganismos no solo. Isso torna a estimativa do tamanho populacional pelo método aleatório de amostragem de solo grosseiramente subestimada, e com reflexos na alta variabilidade entre repetições,

além da baixa capacidade de análise estatística dos dados (Klironomos et al., 1999), conforme também comprovado pelos resultados obtidos neste trabalho. De fato, as comunidades microbianas podem ter nichos em vários níveis de organização, com dependência de diferentes propriedades do solo. As comunidades microbianas existem em escalas tão diminutas que, possivelmente, 10 g de solo amostrado, conforme ocorrido neste trabalho, podem resultar em dados não fidedignos, com favorecimento para a detecção de populações dominantes (Grundmann; Gourbiere, 1999). Esses autores sugerem que a amostragem de solo necessita ser realizada em microescala, com mais amostras para assegurar a diversidade microbiana em micro-habitats no solo. Soma-se a isso a imensa diversidade genética e fenotípica das comunidades microbianas do solo, possibilitando a obtenção de somente uma minoria da população de fungos e actinobactérias, fruto da impossibilidade de cultivo dos demais. Problemas relacionados à determinação

da diversidade e funcionalidade microbiana estão relacionados à hiperdensidade e hiperdiversidade de microrganismos por grama de solo, o que indica inexistir método que possa abranger todos os microrganismos presentes no solo (GARCIA de SALAMONE, 2012). Além disso, dada a pequena porção cultivável de microrganismos do solo, qualquer estudo de biodiversidade fica limitado (Muller et al., 2002), impossibilitando uma recomendação confiável a respeito da comunidade microbiana de *Trichoderma* spp. e de actinobactérias oriundas de cultivos sequenciais sob manejo por compostagem laminar. Para se obter um panorama mais completo e realístico de informações qualitativas e quantitativas, uma associação de técnicas moleculares e de cultivo seria mais adequada.

Referências

- BAIS, H. P.; WEIR, T. L.; PERRY, L. G.; GILROY, S.; VIVANCO, J. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. **Annual Review of Plant Biology**, v. 57, p. 233-266, 2006.
- BERG, G. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 84, p. 11-18, 2009.
- DE WEERT, S.; VERMEIREN, H.; MULDER, I. H. M.; KUIPER, I.; HENDRICKX, N.; BLOEMBERG, G. V.; VANDERLEYDEN, J.; MOT, R. de; LUGTENBERG, B. J. J. Flagella-driven chemotaxis towards exudate components is an important trait for tomato root colonization by *Pseudomonas fluorescens*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 15, n. 11, p. 1173-1180, 2002.
- DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic plant pathology methods**. Boca Raton: CRC Press, 1985. 261 p.
- DOORNBOS, R. F.; VAN LOON, L. C.; BAKKER, P. A. H. M. Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 32, p. 227-243, 2012.
- ELAD, Y.; CHET, I.; HENIS, Y. A selective médium for improving quantitative isolation of *Trichoderma* spp. from soil. **Phytoparasitica**, v. 9, p. 59-67, 1981.
- GARBEVA, P.; SILBY, M. W.; RAAIJMAKERS, J. M.; LEVY, S. B.; BOER, W. D. Transcriptional and antagonistic responses of *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1 to phylogenetically different bacterial competitors. **The ISME Journal**, New York, v. 5, p. 1-13, 2011.
- GRUNDMANN, L. G.; GOURBIERE, F. A micro-sampling approach to improve the inventory of bacterial diversity in soil. **Applied Soil Ecology**, v. 13, p. 123-126, 1999.
- HAICHAR, F. Z.; FARRÉ-ARMENGOL, G.; LLUSIÀ, J.; PEÑUELAS, J. Plant host habitat and root exudates shape soil bacterial community structure. **The ISME Journal**, New York, v. 2, p. 1221– 1230, 2008.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species, opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Review Microbiology**, v. 2, p. 43-56, 2004.
- KAMILOVA, F.; KRAVCHENKO, L. V.; SHAPOSHNIKOV, I. A.; LUGTENBERG, B. Organic acids, sugars, and L-tryptophane in exudates of vegetables growing on stonewool and their effects on activities of rhizosphere bacteria. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 19, n. 3, p. 250–256, 2006.
- KLIRONOMOS, J. N.; RILLING, M. C.; ALLEN, M. F. Designing belowground Field experiments with the help of semi-variance and power analyses. **Applied Soil Ecology**, v. 12, p. 227-238, 1999.
- MARTIN, J. E.; LEWIS, J. S. Selective Culture screening for penicillinase producing *Neisseria gonorrhoeae*. **Lancet**, n. 2, p. 605-606, 1997.
- MICALLEF, S. A.; SHIARIS, M. P.; COLON-CARMONA, A. Influence of *Arabidopsis thaliana*

accessions on rhizobacterial communities and natural variation in root exudates. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 60, p. 1729-1742, 2009.

MULLER, A. K.; WESTERGAARD, K.; CHRISTENSEN, S.; SORENSEN, S. J. The diversity and function of soil microbial communities exposed to different disturbances. **Microbial Ecology**, v. 44, p. 49-58, 2002.

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. 21 p.

PRAMER, D.; SCHMIDT, E. L. **Experimental Soil Microbiology**. Minnesota: Burgess, 1964. 107 p.

RUDRAPPA, T.; CZYMMEK, K.T.; PARE, W. P.; BAIS, H. P. Root-secreted malic acid recruits beneficial soil bacteria. **Plant Physiology**, Washington, v. 148, p. 1547-1556, 2008.

SCHWENGBER, J. E.; SCHIEDECK, G. Compostagem laminar: vivificação do solo visando a transição agroecológica. **Base Ecológica Estação Experimental Cascata**, ano 1, n. 1, jan. 2011.

SCHWENGBER, J. E.; SCHIEDECK, G.; GONÇALVES, M. M. **Compostagem laminar: uma alternativa para o manejo de resíduos orgânicos**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007. 4 p. (Embrapa Clima Temperado. Comunicado Técnico, 169).

SHARMA, S.; ANEJA, M. K.; MAYER, J.; MUCH, J. C.; SCHLOTTER, M. Characterization of bacterial community structure in rhizosphere soil of grain legumes. **Microbial Ecology**, v. 49, p. 407-415, 2005.

SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; GRISI, B. M.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. **Microrganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental**. Brasília, DF: Embrapa, 1994. 142 p.

SOMERS, E.; VANDERLEYDEN, J.; SRINIVASAN, M. Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. **Critical Reviews in Microbiology**, Boca Raton, v. 30, p. 205-240, 2004.

VASCONCELLOS, R. L. F.; CARDOSO, E. J. B. N. Rhizospheric streptomycetes as potential biocontrol agents of *Fusarium* and *Armillaria* pine rot and as PGPR for *Pinus taeda*. **Biocontrol**, v. 54, p. 807-816, 2009.

Embrapa Clima Temperado

BR 392 km 78 - Caixa Postal 403
CEP 96010-971, Pelotas, RS
Fone: (53) 3275-8100
www.embrapa.br/clima-temperado
www.embrapa.br/fale-conosco

1ª edição

Obra digitalizada (2018)

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Clima Temperado

Presidente

Ana Cristina Richter Krolow

Vice-Presidente

Ênio Egon Sosinski

Secretária-Executiva

Bárbara Chevallier Cosenza

Membros

Ana Luiza B. Viegas, Fernando Jackson,
Marilaine Schaun Pelufé, Sônia Desimon

Revisão de texto

Bárbara Chevallier Cosenza

Normalização bibliográfica

Marilaine Schaun Pelufé

Editoração eletrônica

Nathália Santos Fick (estagiária)

Foto da capa

José Ernani Schwengber