



Atributos microbiológicos de solos artificialmente e naturalmente infestados com *Ralstonia solanacearum* tratados com diferentes bokashis⁽¹⁾.

Mariana Rodrigues Fontenelle⁽²⁾; Carlos Alberto Lopes⁽³⁾; Carlos Eduardo Pacheco Lima⁽³⁾; Daiane Costa Soares⁽⁴⁾; Daniel Basílio Zandonadi⁽³⁾; Ronessa Bartolomeu Souza⁽³⁾.

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos da Embrapa.

⁽²⁾ Pesquisador; Embrapa Hortaliças/CNPH, Brasília, DF, E-mail: mariana.fontenelle@embrapa.br; ⁽³⁾ Pesquisador; Embrapa Hortaliças/CNPH; ⁽⁴⁾ Estudante, ICESP-Promove.

RESUMO: Os micro-organismos são usados como inóculos em biofertilizantes e compostos orgânicos auxiliando na disponibilização de nutrientes, na ativação da microbiota do solo e até mesmo na supressão de doenças. O objetivo desse trabalho foi avaliar os atributos microbiológicos do solo em dois solos (artificialmente e naturalmente infestados com *Ralstonia solanacearum*) cultivado com tomate *Solanum lycopersicum* cv. San Vito, e fertilizado com três diferentes bokashis (da Embrapa Hortaliças-BE, de cama de aviário-BA e de esterco de gado-BG). Foi avaliado nesse trabalho os teores de Carbono da Biomassa Microbiana (CBM), Carbono Orgânico Total, Respiração basal (RB), coeficiente metabólico (qCO_2) e coeficiente microbiano ($qMIC$). O experimento foi implantado em casa de vegetação, com delineamento inteiramente casualizado e esquema fatorial 2 (dois solos) x 3 (três bokashis). O cultivo do tomate se deu em caixas plásticas com capacidade para 10 kg de solo. Os teores de COT foram maiores no solo artificialmente infestados comparados ao solo naturalmente infestado, o que deve estar ligado às características dos solos. O $qMIC$ apresentou maior valor para o solo infestado naturalmente, havendo maior contribuição da biomassa microbiana nesse solo. Maiores taxas de RB e qCO_2 foram observadas para o solo naturalmente infestado sendo que o BG apresentou as maiores taxas, indicando, provavelmente, alto nível de estresse causado pela doença.

Termos de indexação: adubação orgânica, biomassa microbiana, respiração basal.

INTRODUÇÃO

Os micro-organismos do solo são de extrema importância na ciclagem de nutrientes (Gomes & Pacheco, 1988). A utilização de adubos orgânicos como os bokashis, que possuem em sua composição macro e micronutrientes que serão disponibilizados para as plantas (Fornasieri Filho, 1992), pode estimular o aumento da biomassa microbiana em cultivos de hortaliças, melhorando a qualidade do solo em vários aspectos, inclusive na

proteção contra doenças. O bokashi é composto de materiais orgânicos farelados e fermentados utilizando-se inóculos obtidos de serapilheira, rica em micro-organismos como bactérias, leveduras, actinomicetos e outros organismos ocorrentes naturalmente no ambiente (Camatti Sartori et al., 2011). Na preparação do bokashi os micro-organismos agem sobre a matéria orgânica, fermentando-a, com a consequente ocorrência de produção de ácidos orgânicos, vitaminas, enzimas, aminoácidos e polissacarídeos importantes para o crescimento vegetal (Higa & Wididana, 1991). A aplicação de compostos orgânicos resulta em uma melhoria da biomassa microbiana e de sua atividade comparada com o uso de fertilizantes químicos ou na sua ausência (Vinhai-Freitas et al., 2010; Hu & Qi, 2011; Chaudhry et al., 2012).

A biomassa, a atividade e a diversidade microbiana são parâmetros usados para caracterizar o componente biológico dos solos. Na biomassa microbiana estão presentes fungos, bactérias, actinomicetos, entre outros, que apesar do tamanho reduzido, representam cerca de 2 a 5% do carbono orgânico total dos solos (Jenkinson & Ladd, 1981). A avaliação da biomassa microbiana em conjunto com a determinação do estado metabólico da comunidade de micro-organismos fornece informações úteis sobre os níveis da atividade microbiana.

O conhecimento do tamanho da comunidade microbiana no solo sob o tratamento de diferentes bokashis nos permitirá inferir sobre os fluxos de balanço de carbono na agricultura orgânica, além de elucidar parte dos processos neles envolvidos. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os teores de Carbono da Biomassa Microbiana, a Respiração Basal microbiana, Carbono Orgânico Total, coeficiente metabólico e coeficiente microbiano em dois solos infestados artificialmente e naturalmente com *Ralstonia solanacearum*, cultivados com tomate (*Solanum lycopersicum* cv. San Vito) e adubados com três diferentes bokashis.



MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação na Embrapa Hortaliças, situada na área rural do Gama, Distrito Federal, nas coordenadas geográficas 15°56' S e 48°08' W e altitude de 997,6 m. O clima da região segundo a classificação de Koppen é do tipo Aw (tropical de savana com concentração de chuvas no verão). Ele foi conduzido no outono de 2013. Para condução do experimento foi utilizada a cultura do tomateiro, cultivar "San Vito" (*Solanum lycopersicum* cv. San Vito).

A condução do experimento se deu em bandejas de plástico de 40 x 20 x 10 cm, com capacidade para aproximadamente 10 kg de solo. O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro repetições em esquema fatorial 2x3, sendo dois solos (artificialmente e naturalmente infestado com *Ralstonia solanacearum*) e três bokashis (Bokashi de esterco de Gado- BG, Bokashi de cama de Aviário- BA e Bokashi anaeróbico produzido na Embrapa Hortaliças- BE).

O artificialmente infestado foi primeiramente esterilizado e, posteriormente, inoculado com um isolado de *Ralstonia solanacearum*. A infestação artificial se deu pela borrifação de uma suspensão bacteriana contendo aproximadamente 10^8 UFC/mL do isolado RS 489 (biovar 1, Borrazópolis, PR) sobre as mudas utilizadas na condução do experimento. As mudas inoculadas foram imediatamente transplantadas. O naturalmente infestado foi coletado em campo cultivado com tomateiro onde ocorria severa epidemia de murcha-bacteriana. O uso de solos infestados diferentemente teve como objetivo a realização de estudos fitopatológicos e de microbiologia do solo. Neste último, objeto desse trabalho, objetivava-se a verificação do efeito da adição de diferentes bokashis sobre o CBM e a atividade microbiana em diferentes solos com ocorrência natural e artificial do referido patógeno.

Os bokashis de esterco de Gado e Cama de aviário foram adquiridos de terceiros e utilizam em sua composição restos vegetais, micro-organismos eficientes (EM) e esterco que são diferenciados quanto à origem, bovinos e de aves, respectivamente. O bokashi produzido na Embrapa é fruto de decomposição anaeróbica de restos orgânicos, composto por restos vegetais, EM e cama de aviário, além de outros compostos orgânicos como farinhas de ossos, torta de mamona, entre outros.

A quantidade de Bokashi adicionada foi determinada com base nos teores de N dos bokashis, bem como do requerimento da cultura do tomateiro, utilizada para condução do experimento.

Foram adicionados 450 g/caixa de BE, 460 g/caixa do BA e 650 g/caixa do BG por parcela experimental. Ressalta-se, portanto, que foi adicionada a mesma quantidade desse insumo para todas as parcelas experimentais. A coleta dos solos foi realizada após dois ciclos de cultivo do tomate.

A umidade de cada uma das amostras foi determinada por diferença gravimétrica calculada entre amostras com umidade natural e secas por 72 h em estufa a 110 °C. Foram pesadas então amostras de 20 g de solo. Três dessas amostras foram fumigadas (F) e outras três não o foram (NF). Posteriormente, foi adicionada água visando à manutenção da umidade a 100% da capacidade de campo. O Carbono da Biomassa Microbiana (CBM) foi determinado pelo método clorofórmio-fumigação-incubação (Jenkinson & Powlson, 1976b; a). A determinação dos teores de Carbono Orgânico Total (COT) foi realizada pelo método Walkley-Black. A evolução de C-CO₂ foi determinada em mg de C/ kg de solo seco a partir do volume gasto na titulação das amostras não fumigadas (NF). O coeficiente metabólico (qCO₂) foi calculado pela razão entre o C-CO₂ e o CBM por dia (Anderson & Domsch, 1993) e o coeficiente microbiano (qMIC) foi calculado pela razão entre o CBM e o COT (Sparling, 1992). A estatística foi realizada, primeiramente verificando se dos dados seguiam a distribuição normal. Quando confirmada tal distribuição, eles foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), ao nível de 5% de significância. Os dados referentes à Respiração Basal não seguiram a distribuição normal e, portanto, foram transformados utilizando-se a função $y = \log(x)$, anteriormente à realização da ANOVA. Quando significativa a ANOVA, as médias foram testadas utilizando-se o teste de Scott-Knott a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram observados efeitos das fontes de variação sobre os teores de CBM (Tabela 1). Observaram-se efeitos apenas dos tipos de solos sobre os teores de COT e a relação qMIC. Efeitos das fontes de variação tipo de solo e bokashis foram observados também para respiração basal.

Os teores de CBM não diferiram entre si para ambos os fatores avaliados. É possível que a condução de dois ciclos curtos com o tomateiro, nas condições experimentais utilizadas, não tenha sido suficiente para que as diferenças estatísticas fossem detectadas, sendo sua resposta mais intensa em experimentos de longo prazo (Silva et al., 2010).



Tabela 1 - Carbono da Biomassa Microbiana e Respiração Basal de um solo artificialmente infestado e um naturalmente infestado, adubados com bokashis e cultivados com tomateiro.

Fonte de variação	CBM (mg C . kg ⁻¹ solo)	Respira- ção Basal (C-CO ₂ *) (mg C . kg ⁻¹ solo)	COT (g, kg ⁻¹)	qMIC (mg . g ⁻¹ C solo)
Solos				
Solo Artificial- mente Infestado	242,73ns	11,52 b	118,8 a	2,08 b
Solo Natural- mente Infestado	273,01ns	19,81 a	80,02 b	3,46 a
Bokashi				
BA	235,47ns	15,25 b	95,66 ^{ns}	2,75 ^{ns}
BE	302,53ns	12,75 b	105,03 ^{ns}	2,95 ^{ns}
BG	235,60ns	18,98 a	97,54 ^{ns}	2,59 ^{ns}
CV (%)	32,3	19,82	15,39	30,07

Médias seguidas pela mesma letra (coluna) não são diferentes pelo teste de Scott-Knott a 5% ns- Não significativo pelo teste F a 5% *Dados transformados pela função $y = \log(x)$ para análise. BE - bokashi da Embrapa Hortaliças); BA - bokashi de aves; BG - bokashi de gado; CBM - Carbono da biomassa microbiana.

Observaram-se ainda maiores teores de COT no solo artificialmente infestado quando comparado ao solo artificialmente infestado. Esses resultados devem estar ligados aos tipos de solos, um Latossolo Vermelho e um Cambissolo Distrófico, respectivamente. Os latossolos apresentam comumente elevados teores de oxihidróxidos de Fe e Al e estrutura forte e granular (Schaefer et al., 2008). O coeficiente microbiano (qMIC), um índice expresso pela relação entre o CBM e o COT (Wardle, 1994), apresentou maior valor para o solo naturalmente infestado comparado ao artificialmente infestado. Nesse solo, embora o COT seja menor, o carbono associado à biomassa microbiana é maior, assim como observado por Powlson, et al. (1987). Dessa forma, a contribuição da biomassa microbiana para a composição da matéria orgânica do solo foi maior naquele naturalmente infestado. A maior biomassa microbiana nesse solo pode estar associada à maior população microbiana previamente existente no solo.

Efeitos dos solos e dos bokashis, isoladamente, foram observados sobre a respiração basal. Dessa forma, observou-se que as maiores taxas de respiração basal foram observadas para o solo

naturalmente infestado. Já na análise dos efeitos dos bokashis sobre essa variável, verificou-se que o BG apresentou as maiores taxas, seguido de BA e BE, que mantiveram valores estatisticamente iguais. Para o qCO₂ foram observados efeitos da interação entre os fatores estudados (Tabela 2). Dessa forma, observou-se que o maior qCO₂ foi encontrado quando o solo naturalmente infestado foi tratado com o BG. Cabe ressaltar que para esse mesmo solo foram observados os maiores valores de qMIC. Também, para esse mesmo solo e bokashi, isoladamente, foram observados os maiores valores de respiração basal. Ainda, a adição dos BA e BE não proporcionou diferentes valores de qCO₂ no solo naturalmente infestado, enquanto nenhum dos três bokashis influenciou sobre os valores dessa variável no solo artificialmente infestado. O qCO₂ é um índice que expressa a relação entre a respiração basal do solo e a quantidade de biomassa microbiana (Anderson & Domsch, 1978). O aumento dos valores dessa variável pode indicar que em situações de estresse, nesse caso relacionado à ocorrência da murcha-bacteriana, a maior parte do C está sendo utilizada para fornecer energia ao invés de ser assimilado e convertido em nova biomassa microbiana, evidenciando maior demanda por C (Anderson & Domsch, 2010).

Tabela 2 – Quociente metabólico de um solo artificialmente infestado e um naturalmente infestado, adubados com bokashis e cultivados com tomateiro.

	Quociente metabólico (qCO ₂) (mg C-CO ₂ .mg ⁻¹ CBM.dia ⁻¹)		
	BA	BE	BG
Solo Artificialmente Infestado	0,066 aA	0,038 aA	0,057 bA
Solo Naturalmente Infestado	0,064 aB	0,054 aB	0,122 aA
CV (%) = 30,28			

Médias seguidas pela mesma letra minúscula (coluna) e maiúscula (linha) não são diferentes pelo teste de Scott-Knott a 5%. BE - bokashi da Embrapa Hortaliças); BA - bokashi de aves; BG - bokashi de gado; CBM - Carbono da biomassa microbiana.

CONCLUSÕES

Não houve diferença estatística no CBM entre os solos analisados e os bokashis avaliados, embora o qMIC apresentou-se mais elevado no solo naturalmente infestado, indicando maior biomassa nesse solo.

A respiração basal foi maior quando da adição do bokashi de gado. Também, o coeficiente metabólico foi maior quando o bokashi de gado foi adicionado



ao solo naturalmente infestado, evidenciando ocorrência de maior estresse nessas situações.

AGRADECIMENTOS

À FAP-DF que forneceu apoio financeiro para a participação no XXXV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, J.P.E., DOMSCH, K.H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 10, p. 215-221, 1978. ISSN 0038-0717.
- ANDERSON, T.; DOMSCH, K. The metabolic quotient for CO₂ (qCO₂) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental- conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 25, n. 3, p. 393-395, 1993. ISSN 0038-0717.
- ANDERSON, T.H.; DOMSCH K.H. Soil microbial biomass: the eco- physiological approach. *Soil Biology and Biochemistry*, v.42, p.2039- 2043, 2010.
- CAMATTI-SARTORI, V.; RIBEIRO, R. T. S.; SCUR, L.; VENTURIN, L.; RUPP, L. C. D. Cartilha para agricultores: adubação verde e compostagem. Estratégias de manejo do solo para conservação das águas. / org. Valdirene Camatti Sartori... [et al.]. - Dados eletrônicos. - Caxias do Sul, RS: Educs, 2011. Disponível em:http://www.ucs.br/site/midia/arquivos/Aduba%C3%A7%C3%A3o_e_Compostagem_2.pdf Acesso em: 04 de dezembro de 2014.
- FORNASIERI FILHO, D. A cultura do milho. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 273p.
- CHAUDHRY, V.; REHMAN, A.; Mishra, A.; CHAUHAN, P. S. Changes in Bacterial Community Structure of Agricultural Land Due to Long-Term Organic and Chemical Amendments. *Microbial Ecology*, v. 64, n. 2, p. 450-460, 2012. ISSN 0095-3628.
- GOMES, W.R.; PACHECO, E. Composto orgânico. Lavras: Escola Superior de Agricultura de Lavras, 1988.11p. Boletim Técnico, 11.
- HIGA, T.; WIDIDANA, G.N.. The concept and theories of effective microorganisms. In: Parr, S.B. Hornick, and C.E. Whitman (ed.) *Proceedings of the First International Conference on Kyusei Nature Farming*. U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C., USA, p. 118-124,1991.
- HU, C.; QI, Y.C. Soil biological and biochemical quality of wheat-maize cropping system in long-term fertilizer experiments. *Experimental Agriculture*, v. 47, n. 4, p. 593-608, 2011. ISSN 0014-4797.
- JENKINSON, D. S.; POWLSON, D. S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil- V. A method for measuring soil biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 8, n. 3, p. 209-213, 1976a. ISSN 00380717.
- JENKINSON, D. S.; POWLSON, D. S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil-I. Fumigation with chloroform. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 8, n. 3, p. 167-177, 1976b. ISSN 00380717.
- JENKINSON, D.S.; LADD, J.M. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: PAUL, E. A.; LADD, J.M. (Ed.). *Soil biochemistry*. New York: Marcel Dekker, 1981. v. 5, p. 415-471.
- POWLSON, D.S.; BROOKES, P.C.; CHRISTENSEN, B.T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in the total soil organic matter due to straw incorporation. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 19, p. 159–1641, 1987.
- SCHAEFER, C. E. G. R. ; FABRIS, J. D. ; KER, J. C. . Minerals in the clay fraction of brazilian latosols (Oxisols): a review. *Clay Minerals*, v. 43, p. 1-18, 2008.
- SILVA, R.R.; SILVA, M.L.N.; CARDOSO, E.L.; MOREIRA, F.M.S.; CURI, N. & ALOVISI, A.M.T. Biomassa e atividade microbiana em solo sob diferentes sistemas de manejo na região fisiográfica Campos das Vertentes - MG. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 34, p. 1585-1592, 2010.
- SPARKLING, G. P. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. *Australian Journal of Soil Research*, v. 39, p. 195-207, 1992.
- VINHAL-FREITAS, I.; WANGEN, D. R. B.; FERREIRA, A. S.; CORRÊA, G. F.; WENDLING, B. Microbial and enzymatic activity in soil after organic composting. *Rev. Bras. Cienc. Solo*, v. 34, p. 757-764, 2010. ISSN 0100-0683.
- WARDLE, D. Metodologia para quantificação da biomassa microbiana do solo. In: Hungria, M.; Araújo, R.S. (Ed.). *Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola*. Brasília: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1994. p. 419-436. (Embrapa-CNPAF. Documentos, 46).

**XXXV Congresso
Brasileiro de
Ciência do Solo**

CENTRO DE CONVENÇÕES - NATAL / RN



**O SOLO E SUAS
MÚLTIPLAS FUNÇÕES**
02 a 07 DE AGOSTO DE 2015