

## **ANÁLISE DE MÉTODOS QUANTITATIVOS DE ATIVIDADE MICROBIANA EM DIFERENTES SISTEMAS DE MANEJO**

**Caroline Amadori, Luis Gustavo Fumagalli, Nilvania Aparecida de Mello**

**Resumo** - A respiração do solo é um método muito comum para determinação da atividade microbiana, sendo quantificada através da captura do CO<sub>2</sub> liberado, pelo NaOH. Através da metodologia padrão para determinação da respiração microbiana é possível conhecer o máximo potencial do solo. Por isso, é necessário estabelecer métodos capazes de estimar a real situação de respiração microbiana no solo. Este trabalho teve como objetivo avaliar três métodos para determinação da respiração microbiológica, comparando área de mata e de cultivo. Foram testados três métodos: o padrão, amostras de solo agregado e amostras de solo estruturado. Verificou-se que a metodologia padrão obteve as maiores taxas de respiração microbiológica, seguida das amostras em solo agregado que não diferiram estatisticamente daquelas de solo estruturado, permitindo concluir que estes dois últimos métodos obtiveram índices mais próximos a real condição do solo.

**Palavras-Chave:** respiração microbiana, atividade microbiológica, metodologias

## **ANALYSIS OF QUANTITATIVE METHODS FOR MICROBIAL ACTIVITY IN SYSTEMS OF MANAGEMENT**

**Abstract**- The soil respiration is a very common method to evaluate soil microbial activity, being quantified through the capture of CO<sub>2</sub> by NaOH. By standard methodology for assessing microbial respiration is only possible to know the maximum potential of the soil. It is necessary to establish methods able to estimate the real situation of microbial respiration in the soil. This study aimed to evaluate three methods for determination of microbial respiration, comparing native vegetation and a tilled soil. Three methods were tested: standard, samples of aggregated soil, and samples of structured soil. The standard methodology achieved the highest rates of microbial respiration, followed by aggregates soil, which did not differ statistically from structured soil, allowing to conclude that aggregated soil and structured soil methods had microbial respiration index closer to actual condition of the soil than standard method.

**KeyWord:** microbial respiration, microbial activity, methodologies.

### **1. INTRODUÇÃO**

Um dos métodos mais conhecidos para quantificar a atividade microbiológica do solo é através da respiração dos microorganismos. A liberação de CO<sub>2</sub> no processo respiratório dos microorganismos aeróbicos pode ser determinada através da titulação, quando o CO<sub>2</sub> é capturado pelo NaOH. A respiração microbiana representa a respiração proveniente da atividade de bactérias, fungos, algas e protozoários no solo, incluindo as trocas gasosas que resultam de ambos os metabolismos aeróbio e anaeróbio (Anderson, 1982) durante o processo de decomposição de resíduos orgânicos, sendo

portanto um fator que correlaciona-se com a qualidade do solo e com a emissão de gases de efeito estufa, principalmente o CO<sub>2</sub> (Peña et. al, 2005).

Elevada taxa de respiração microbiana é indicativo de elevada atividade e conseqüentemente de alta taxa de mineralização da matéria orgânica do solo, o que indicaria que o sistema em análise não atua como dreno, mas sim como emissor de CO<sub>2</sub> para a atmosfera (Totóla e Chaer, 2002). A metodologia padrão para determinação da taxa de respiração microbiana estima o máximo potencial do solo, pois todas as condições necessárias aos microorganismos, como umidade, temperatura e

aeração, são fornecidas, mas não representa de fato os mecanismos de retenção da matéria orgânica, e portanto de seqüestro de CO<sub>2</sub> no solo.

O objetivo deste trabalho foi avaliar três métodos de quantificação da atividade microbiana, através da respiração microbiana, comparando um solo sob cultivo e outro solo de mata nativa e utilizando-se três formas de coleta de amostra, visando preservar a estrutura do solo, para simular a dinâmica microbiológica em sistemas conservacionistas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido na Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Pato Branco. As coletas de solo foram feitas na Área Experimental da UTFPR, e as análises no Laboratório de Física do Solo da UTFPR entre os meses de novembro e dezembro de 2008.

Foram escolhidas duas áreas para as coletas de solo, uma área sob plantio direto e uma área de mata nativa. Os métodos testados foram: o método padrão, o método com amostras agregadas e método cujas amostras são estruturadas. Para cada método foram realizadas três repetições, sendo os pontos de coleta escolhidos aleatoriamente dentro das áreas supracitadas.

### 2.1. Coleta e Preparação de Amostras

#### 2.1.1. Método padrão

Para a determinação da respiração dos microorganismos através do método convencional foram coletadas amostras de solo na profundidade de 0 – 10 cm, e então no laboratório, esse solo foi passado pela peneira de 2 mm de malha. Foram utilizados 50 g de solo peneirado.

#### 2.1.2. Método de amostras agregadas

Nesse método as amostras utilizadas são agregados indeformados do solo, sendo coletados entre a profundidade de 0 a 10 cm. Foi utilizada uma caixa de papelão de volume 10cm<sup>3</sup> como referência para o volume de solo a ser coletado.

#### 2.1.3. Método de amostras estruturadas

Foi utilizado um anel cilíndrico de PVC com 10 cm de diâmetro e 10 cm de profundidade, o qual foi introduzido no solo até a profundidade de 9 cm.

### 2.2. Incubação e Titulação das Amostras

Para a incubação das amostras foram utilizados potes plásticos nos quais foram adicionadas as amostras e em seguida adicionado um copo plástico com 30 mL de NaOH 0,5 M. Os potes foram fechados e vedados com fita adesiva. Depois disso, foram acondicionados em um local escuro e mantidos a temperatura ambiente. Para cada metodologia foi realizado uma amostra controle, que contém apenas o pote plástico com o copo plástico

com 30 mL de NaOH 0,5 M, sendo manipulado igual as demais amostras. O período de incubação das amostras foi de 30 dias. Para a metodologia padrão esse período foi dividido em duas etapas de 15 dias. Passados os primeiros 15 dias, ocorreu a titulação das amostras e na seqüência nova incubação. Após o período de incubação houve a titulação das amostras. Depois de abertos os potes plásticos, o conteúdo do copo plástico foi colocado em um erlenmeyer juntamente com 1 mL de BaCl<sub>2</sub> e 1 gota de fenolftaleína, e na seqüência titulado com HCl 0,5 M.

### 2.3. Cálculo

O cálculo da respiração microbiana foi feito utilizando-se o método da titulação com captura de CO<sub>2</sub> por NaOH pela seguinte fórmula:

$$\text{CO}_2 \text{ (mg kg}^{-1} \text{ de solo seco)} = ((V_b - V_a) * 1,1 * 1000) / \text{PSS}$$

V<sub>b</sub> = volume de HCl (mL), gasto na titulação do NaOH do controle; V<sub>a</sub> = volume de HCl (mL), gasto na titulação de NaOH da amostra; 1,1 = fator de conversão (1 mL de NaOH 0,5 M = 1 mg de CO<sub>2</sub>); PSS = peso do solo seco.

O delineamento estatístico adotado foi inteiramente casualizado.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a metodologia padrão obteve-se resultados de respiração microbiana altos, tanto na área de mata como na área sob plantio direto, o que confirma a idéia de que esse método exibe a máxima atividade microbiana do solo, devido as condições oferecidas aos microorganismos (Figura 01). A área PD apresentou maior respiração que a área MT. Esse resultado foi contrário ao observado por Silveira (2002), a qual constatou que a maior respiração microbiana se deu em área de vegetação nativa.

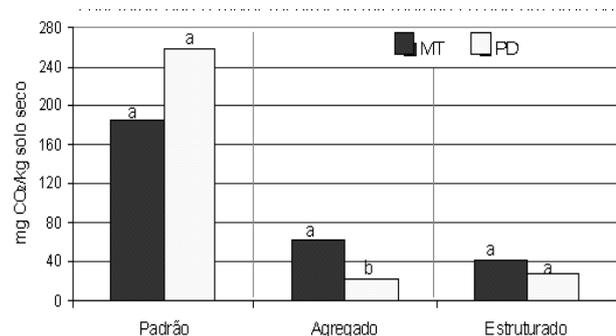


Figura 1 - Atividade microbiana em áreas de mata e cultivo (plântio direto) comparando três metodologias para obtenção de respiração microbiana (método padrão, solo agregado e solo estruturado). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, nos grupos de métodos, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

A metodologia de amostras com solo agregado obteve resultados bem abaixo dos encontrados pela metodologia padrão, porém com maior taxa de

respiração na MT. Estes resultados foram coerentes, pois a maior atividade microbiológica em áreas de mata deve-se a grande disponibilidade e variedade de resíduos orgânicos adicionados ao solo, favorecendo uma maior diversidade microbiana (SILVEIRA, 2002). Os resultados de atividade microbiana encontrados para as amostras com solo estruturado foram os menores, não havendo diferença estatística entre MT e PD, o que reforça a hipótese de que o método padrão simula um revolvimento no solo, que não ocorre em solos sob PD. Matsuoka (2006) afirma que um ponto negativo da metodologia padrão é o fato de que os resultados não apresentam uma tendência, além de possuir grandes variações, o que não permite utilizar esse método como um indicativo para avaliar a qualidade do solo.

Comparando-se os métodos de análise (Tabela 1) para os dois tipos de uso MT e PD, houve diferença estatística entre os métodos padrão e agregado e não houve entre os métodos agregado e estruturado, embora no método estruturado, no qual não ocorre nenhum tipo de revolvimento da amostra, não houve diferença estatística entre a MT e o PD.

Tabela 1 - Resultados obtidos para atividade microbiana considerando-se três metodologias diferentes (padrão, solo agregado e solo estruturado) para dois tipos de uso do solo (mata e cultivo - plantio direto)

	Padrão	Agregado	Estruturado
	mg CO <sub>2</sub> /kg solo seco		
Mata	191,8a	64,9b	42,9bc
Plantio Direto	255,6a	22,5c	31,3c

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

#### 4. CONCLUSÕES

Na metodologia padrão o teor de CO<sub>2</sub> encontrado foi mais elevado do que nos outros métodos. Sendo que a área sob cultivo teve índices de respiração microbiana maior do que a área de mata. Para a metodologia de amostras com o solo agregado a respiração microbiana se manteve em índices baixos, mas a área de mata teve maior respiração microbiana que a área de cultivo. Os menores valores de respiração microbiana foram obtidos na metodologia que usou solo estruturado. Este último método, porém apresenta maior dificuldade para obtenção das amostras.

#### REFERÊNCIAS

- ANDERSON, J.P.E. Soil respiration. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H.; KEENEY, D.R. (eds.). Method of analysis. 2ed. part 2. Madison, American Society of Agronomy. Soil Science Society of América. p.831-871, 1982.
- MATSUOKA, M. Atributos biológicos de solos cultivados com videira na região da serra gaúcha. Tese. Porto Alegre, 2006. 152 p. Doutorado (Ciência do Solo). Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).
- PEÑA, M.L.P.; MARQUES, R.; JAHNEL, M.C.; ANJOS, A. do. Respiração microbiana como indicador da qualidade do solo em ecossistema florestal. Curitiba, v. 32, n.1, jan/abr. 2005. Disponível em: <<http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/floresta/article/viewFile/2435/2037>>
- Acesso em: 30 mar. 2009.
- SILVEIRA, A. O. Atividades enzimáticas como indicadores biológicos de qualidade de solos agrícolas do Rio Grande do Sul. Dissertação. Porto Alegre, 2007. 81 p. Mestrado (Ciência do Solo). Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).
- TOTOLA, M.R.; CHAER, G.M. Microrganismos e processos microbiológicos com indicadores da qualidade do solo. IN: ALVAREZ, V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R.; BARROS, N.F.; MELLO, J.W.V.; COSTA, L.M. Tópicos em Ciência do Solo. Viçosa: SBCS, 2002, v.2, p.195-267, 2002.