

## EFEITO DE UMA *Pseudomonas sp.* OLIGONITRÓFILA NA ESTABILIDADE DE AGREGADOS DO SOLO\*

Emílio Gomide Loures  
Alcides Reis Condé  
José de Alencar\*\*

### 1. INTRODUÇÃO

A agregação de partículas do solo constitui uma propriedade que depende de diversos fatores envolvidos, como tipo de argila (3, 5, 7, 10), pH do solo (5, 10, 23), presença de óxidos de ferro e manganês (3, 5, 7, 10), íons de cálcio e magnésio (5, 10, 23), cobertura vegetal (10, 20), teor e natureza da matéria orgânica (3, 7, 10, 16), manejo do solo (10) e, em especial, a atividade microbiana no solo (1, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 25, 26, 28).

A participação microbiana como agente agregante pode ter como causa três fatores principais: a produção e exceção de mucilagens que funcionariam como agente de cimentação (15, 16, 17), o emaranhado de hifas de fungos e actinomicetos no solo (4, 8, 19) e a adsorção na qual as bactérias funcionariam como partículas coloidais com carga elétrica negativa (20). Na realidade, em condições normais de solo, torna-se difícil a separação dos agentes agregantes, considerando que os diferentes fatores atuam simultaneamente.

Em solos tropicais, têm sido realizados alguns trabalhos sobre a agregação do solo por microrganismos.

Todavia, no Brasil, pouco se tem pesquisado a este respeito. DOBEREINER e LEMOS (6) verificaram, em condições de casa-de-vegetação, o efeito de *Beijerinckia* e da sacarose na agregação do solo; concluindo que a adição de sacarose quando associada à inoculação de *Beijerinckia* favoreceu à agregação de partículas, e que *Beijerinckia indica* ter sido mais efetiva do que *Beijerinckia fluminensis*.

LOURES *et alii* (14), trabalhando com uma *Pseudomonas sp.*, isolada do solo, verificaram que esta bactéria em condições controladas de laboratório produzia abundante muco extracelular, em meio de cultura contendo como fonte de carbono a sacarose a 1,5%, e como fonte de nitrogênio o cloreto de amônio, resultando em uma relação C/N = 40.

Utilizando esta bactéria, procurou-se verificar o seu efeito como agente agregador do solo, em condições de cultura pura e em competição com os demais microrganismos do solo.

\* Recebido para publicação em 08-05-1974.

\*\* Respectivamente, Professores Adjuntos da Universidade Federal de Viçosa e Professor Titular da Universidade Federal de Minas Gerais.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram recolhidas amostras de três solos em terrenos da Universidade Federal de Viçosa (MG), as quais foram submetidas à análise textural, segundo o método citado por MOURA FILHO (24); sua classificação obedeceu a normas adotadas pela SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIAS DO SOLO (27).

A amostra do solo foi secada ao ar, peneirada em tamis de 2 mm, eliminando-se a fração retida. Foram determinados: pH em água 1:1 (p/v) por potenciómetria; a porcentagem de matéria orgânica e carbono, pelo método de Wolkey e Black (11); o nitrogênio total por Kjeldal, e a capacidade retentora de água destas amostras de solo segundo ALLEN (2).

Para cada amostra de solo, tomaram-se 12 copos de vidro, cada um com capacidade de 150 - 200 g. A superfície das amostras de solo, em cada copo, foi recoberta com um disco de papel de filtro, destinado a evitar a compactação destas amostras quando fosse adicionado o meio de cultura líquido, como também reduzir o efeito da evaporação durante o período de incubação. Cada copo foi vedado com uma tampa de papel de alumínio. Os copos que não seriam inoculados com a bactéria receberam 50 ml do meio básico de cultura empregado por LOURES *et alii* (14). Os inoculados com 25 ml do referido meio, contendo 1,5% de sacarose e relação C/N = 40, foram completados com água destilada, o volume líquido calculado para 60% da capacidade retentora do solo.

Estes copos foram divididos em 2 grupos, um destes foi esterilizado por autoclavagem a 120°C, durante 60 minutos, e o outro grupo não foi esterilizado. Dentro de cada grupo, 3 copos foram inoculados com 25 ml de uma cultura em meio líquido, de composição idêntica ao meio já adicionado ao solo com 72 horas de incubação; 3 copos não foram inoculados.

Após a inoculação, todos os copos foram incubados à temperatura ambiente que variou, durante este período, de 25° a 30°C.

O período de incubação de 35 dias foi o mesmo determinado por LOURES *et alii* (14), que correspondia «in vitro» ao máximo de produção de muco. Após este período, todos os copos foram destampados, removido o papel filtro, e os solos submetidos à secagem, durante 48 horas, numa estufa, a 40°C.

Para a análise de agregados, foram retirados de cada copo os primeiros 6 cm de profundidade. Este solo foi partido manualmente em pequenos torrões, com aproximadamente 10 mm de diâmetro, destinados à análise de agregados, realizada segundo o método de Yoder, citado por KEMPER (12, 13) e adotado pela Sociedade Americana de Agronomia.

Utilizaram-se 40 g do solo seco em cada análise, que foi umidecido por pulverização, durante 20 minutos, antes que a amostra fosse submetida à agitação durante 15 minutos.

Considerando que as amostras dos solos antes dos trabalhos haviam sido peneiradas em peneiras de 2 mm, tomou-se para análise estatística somente a fração retida na peneira de 2 mm, que foi secada a 105°C, durante 24 horas.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises físicas e químicas das amostras de solos encontram-se nos Quadros 1 e 2 e a determinação do efeito de agregação da *Pseudomonas sp.*, após o período de incubação, está representada no Quadro 3.

Estes resultados foram submetidos a análises estatísticas, sendo tidos como significantes, ao nível de 1%, as interações de primeira ordem: Solo, Esterilização, Inoculação e de segunda ordem Solo X Esterilização, Solo X Inoculação, Esterilização X Inoculação, não apresentando significância a interação de terceira ordem Solo X Esterilização X Inoculação (Quadro 4).

Desdobrando as interações de segunda ordem, obtiveram-se resultados significantes, ao nível de 1%, para todas as interações do tipo Solo X Esterilização (Quadro 5), e resultado idêntico foi obtido para Solo X Inoculação (Quadro 6).

Para a interação Esterilização X Inoculação, só foi obtido resultado significante, ao nível de 1%, no tratamento «inoculado dentro do esterilizado» (Quadro 7). A «inoculação dentro do não esterilizado» não foi significante.

Diante dos resultados obtidos, nota-se que a bactéria em estudo apresenta uma capacidade estabilizadora da agregação do solo acentuada quando este solo sofreu esterilização prévia; todavia, a bactéria, quando em presença de outros microrganismos do solo, não mostra alteração significante quanto à estabilidade da agregação.

QUADRO 1 - Análise granulométrica das amostras de solos. Viçosa (MG)

Solos	Areia grossa (2,0 - 0,2) mm	Areia fina (0,2 - 0,02) mm	Silte (0,2 - 0,002) mm	Argila (<0,002) mm	Classificação textural
Agronomia		21	20	23	36
Horta velha	55		21	14	10
Fundão	4	13	37	46	Argila

QUADRO 2 - Análise química das amostras de solos. Viçosa (MG)

Solos	pH	N total (%)	C %	M. org (%)	C/N
Franco argiloso	6,8	0,26	2,63	4,56	10,10
Areia franca	6,7	0,19	3,26	5,64	17,51
Argila	6,1	0,18	1,48	2,57	8,20

QUADRO 3 - Agregação do solo. Porcentagem de agregados superiores a 2 mm após incubação. Viçosa (MG)

Tratamentos	Amostras do solo		
	Franco argiloso	Areia franca	Argila
Inoculado	78,6	72,9	86,5
	68,1	71,8	69,6
	62,6	86,5	72,4
	69,8	77,1	76,2
	10,8	26,8	11,1
	8,9	37,5	2,9
Esterilizado	14,3	25,8	7,6
	11,3	30,0	7,2
	17,3	29,2	98,5
	18,9	30,8	98,4
	12,8	37,4	97,9
	16,3	33,4	98,2
Não esterilizado	16,9	41,3	93,4
	14,5	46,6	98,9
	24,3	49,0	98,0
	18,6	45,6	96,8
	médias		
Sem inocular	10,8	26,8	11,1
	8,9	37,5	2,9
	14,3	25,8	7,6
	11,3	30,0	7,2
	17,3	29,2	98,5
	18,9	30,8	98,4
Inoculado	12,8	37,4	97,9
	16,3	33,4	98,2
	18,9	30,8	98,4
	12,8	37,4	97,9
	16,3	33,4	98,2
	médias		
Sem inocular	10,8	26,8	11,1
	8,9	37,5	2,9
	14,3	25,8	7,6
	11,3	30,0	7,2
	17,3	29,2	98,5
	18,9	30,8	98,4
Não esterilizado	12,8	37,4	97,9
	16,3	33,4	98,2
	18,9	30,8	98,4
	12,8	37,4	97,9
	16,3	33,4	98,2
	médias		

QUADRO 4 - Análise de variância

Fontes de variação	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F
Tipo de solo	9958,83	2	4979,41	165,48 <sup>++</sup>
Esterilização	330,45	1	330,45	10,98 <sup>++</sup>
Inoculação	6439,25	1	6439,25	214,00 <sup>++</sup>
Int. solo x est.	11248,20	2	5624,11	186,91 <sup>++</sup>
Int. solo x ino.	509,80	2	254,90	8,47 <sup>++</sup>
Int. est. x inoc.	8876,46	1	8876,46	295,00 <sup>++</sup>
Int. solo x est. x ino.	24,96	2	12,48	0,415
Erro	772,14	24	30	
<b>TOTAL</b>	<b>38110,1</b>	<b>35</b>		
CV = 11,35%				

QUADRO 5 - Interação: solo/esterilização

Tipo de solo	Esterilização	
	Esterilizado	Não Esterilizado
1. Franco argiloso	243,42	104,82
2. Areia franca	321,44	234,26
3. Argila	250,24	285,10

  

Análise de variância			
	GL	SQ	F
Esterilização dentro do solo 1	1	1.600,83	53,20 <sup>++</sup>
Esterilização dentro do solo 2	1	633,36	21,05 <sup>++</sup>
Esterilização dentro do solo 3	1	9.344,27	310,55 <sup>++</sup>

QUADRO 6 - Interação: solo/inoculação

Tipo de solo	Inoculação	
	Inoculado	Sem Inoculação
1. Franco argiloso	258,41	89,82
2. Areia franca	328,64	277,06
3. Argila	523,32	312,02

  

Análise de variância			
	GL		
Inoculação dentro do solo 1	1	2.368,55	78,72 <sup>++</sup>
Inoculação dentro do solo 2	1	859,87	28,58 <sup>++</sup>
Inoculação dentro do solo 3	1	3.720,64	123,65 <sup>++</sup>

Estes resultados coincidem com os obtidos por McCalla (23), que estudando o efeito de agregação do solo por diferentes microrganismos, como bactérias do solo, actinomicetos, leveduras e fungos, verificou que algumas bactérias, quando introduzidas em uma amostra de solo estéril, aumentam a estabilidade de agregados, mas quando em presença de outros microrganismos, este efeito pode ou não se manifestar. Segundo o mesmo autor (22), Martin (16) e Martin *et alii* (18), o aumento de estabilidade de agregados do solo decorrente da atividade microbia-

QUADRO 7 - Interação: Inoculação dentro da esterilização

Esterilização	Inoculação		
	Inoculada	Sem inoculação	
Esterilizado	669,24	145,86	
Não esterilizado	441,13	483,04	
Análise de variância			
	GL	SQ	F
Inoculação dentro do esterilizado	1	15.218,15	505,76**
Inoculação dentro do não esterilizado	1	106,82	3,55

na é temporário, considerando que diversas substâncias agregantes produzidas pelos microrganismos podem servir de nutrientes e serem decompostas, reduzindo a capacidade de agregação.

#### 4. RESUMO

Foi testada «in vitro» a capacidade de agregação de partículas do solo por uma *Pseudomonas sp.* que apresentava características oligonitrofilas. Esta bactéria, em meio de cultura com relação C/N = 40, tendo sacarose a 1,5% como fonte de carbono, e cloreto de amônio como fonte de nitrogênio, produz abundante muco extracelular.

Foram utilizadas três amostras de solo retirada de terrenos da Universidade Federal de Viçosa, que se diferenciavam pela textura, pH, teor de matéria orgânica e relação C/N.

O experimento foi realizado em estufa, em fatorial  $3 \times 2^2$ , com delineamento inteiramente casualizado com 3 repetições. Pelo resultado das análises estatísticas, verificou-se que a referida bactéria produzia um efeito significante na agregação quando inoculada em solo esterilizado; todavia, quando inoculada em solo não esterilizado, sua participação na agregação do solo não apresentou resultado significante.

#### 5. SUMMARY

The capacity of a *Pseudomonas sp.* which showed oligonitrophilous features to aggregate soil particles was tested *in vitro*.

This bacterium, in a medium with C/N ratio of 40, using sucrose at 1,5% as a source of carbon and ammonium chloride as a source of nitrogen, produces copious extracellular mucus.

Three soil samples from U.F.V. land which differed in texture, pH, organic matter content and C/N ratio were used. The experiment was carried out in an

incubation chamber, with  $3 \times 2^2$  factorial design and outlines randomly drawn with three repetitions. As a result of statistical analysis, it was found that the bacterium produces a significant effect on aggregation when inoculated in sterilized soil, but it does not produce significant results when inoculated in unsterilized soil.

## 6. LITERATURA CITADA

1. ALEXANDER, M. *Introduction to soil microbiology*. Tokyo, Wiley, 1961. 472 p.
2. ALLEN, O.N. *Experiments in soil bacteriology*. 2 ed. Minneapolis, Burgess Publishing, 1959. 117 p.
3. BLACK, C.A. *Soil-plant relations*. 2. ed. New York, Wiley, 1968. 793 p.
4. BOND, R.D. *Ocurrence of microbiological filaments in soils*. Nature 184:744-745. 1959.
5. CHESTERS, G.; ATTOE, O.J. & ALLEN, O.N. *Soil aggregation in relation to various soil constituents*. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 21:272-277. 1957.
6. DOBEREINER, J. & LEMOS, P. *Ação da sacarose e Beijerinckia na fixação de nitrogênio e agregação do solo*. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 1958. 51 p. Boletim do Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícola, n. 20.
7. DOMMERGUES, Y. & MANGENOT, E. *Ecologie microbienne du sol*. Paris, Masson Editeur, 1970. 796 p.
8. GILMOUR, C.M.; ALLEN, O.N. & TRUOG, E. Soil Aggregation as influenced by the growth of mold species, kind of soil, organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 13:292-296. 1948.
9. GRIFFITHS, E. *Microorganisms and soil structure*. Biol. Rev. 40:129-142. 1965.
10. HARRIS, R.F.; CHESTERS, O. & ALLEN, O.N. Dynamics of soil aggregation. *Advances in Agronomy*. 18:107-169, 1966.
11. JACKSON, M.L. *Soil chemical analysis*. New York, Prentice Hall Inc., 1968. 498 p.
12. KEMPER, W.D. Aggregate stability. In: BLACK, C.A. ed. *Methods of soil analysis*. Madison, American Society of Agronomy, 1965. Part 1, p. 511-9. (Series of Agronomy, 9).
13. KEMPER, W.D. & CHEPIL, W.S. Size distribution of aggregation. In: BLACK, C.A. ed., *Methods of soil analysis*. Madison, American Society of Agronomy, 1965. Part 1, p. 499-510. (Series of Agronomy, 9).
14. LOURES, E.G.; ALENCAR, J. & TARDIEUX, P. Produção de muco extracelular por uma bactéria oligonitrófila. *Experientiae* 14:251-263. 1972.
15. MARTIN, J.P. Microorganisms and soil aggregation: I. Origin and nature of some of the aggregating substances. *Soil Science* 59:163-174. 1945.
16. MARTIN, J.P. Microorganisms and soil aggregation: II. Influence of bacterial polysaccharides on soil structure. *Soil Science* 6:157-166. 1946.
17. MARTIN, J.P.; ERVIN, J.O. & SHEPHERD, R.A. Decomposition and binding action of polysaccharides from *Azotobacter indicus* (Beijerinckia) and other bacteria in soil. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 29:397-400. 1955.

18. MARTIN, J.P. & WAKSMAN, S.A. Influence of microorganisms on soil aggregation and erosion. *Soil Science* 50:29-47. 1940.
19. MARTIN, T.L. & ANDERSON, D.A. Organic matter decomposition, mold flora and soil aggregation relationships. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 7:215-217. 1943.
20. McCALLA, T.M. Physico-chemical behavior of soil bacteria in relation to the soil colloid. *Jour. Bact.* 40:33-43, 1940.
21. McCALLA, T.M. Influence of microorganisms and some organic substances on soil structure. *Soil Science* 59:287-289, 1945.
22. McCALLA, T.M. Influence of some microbial groups on stabilizing soil structure against falling water drops. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 11:260-263. 1946.
23. MYERS, H.E. & McCALLA, T.M. Changes in soil aggregation in relation to bacterial numbers, hydrogen — ion concentration and length of time soil was kept moist. *Soil Science* 51:189-200. 1941.
24. MOURA FILHO, W. *Métodos de campo e laboratório*. Viçosa, Imprensa Universitária, 1964. 26 p. (mimeografado).
25. POCHON, J. & BARJAC, H. *Traité e microbiology des soils*. Paris, Dunod, 1958. 685 p.
26. RUSSEL, E.W. *Soil conditions and plant growth*. 9. ed. New York, Wiley. 1961. 689 p.
27. SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIAS DO SOLO. *Manual de métodos de trabalho de campo*. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 1967. 33 p.
28. WAKSMAN, S. *Soil microbiology*. New York, Wiley, 1961. 356 p.