

## Biota do Solo após Aplicação de Lodo de Esgoto por 13 Anos Consecutivos <sup>(1)</sup>.

**Amanda Aparecida de Oliveira Neves Viana<sup>(2)</sup>; Wanderley José de Melo<sup>(3)</sup>; Ivanildo Evódio Marriel<sup>(4)</sup>; Gabriel Maurício Peruca de Melo<sup>(5)</sup>; Patrícia Gomes Silva<sup>(6)</sup>.**

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos da pós-graduação.

<sup>(2)</sup> Estudante de Doutorado; Univ. Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"; Jaboticabal, São Paulo; amandaneves1981@yahoo.com.br; <sup>(3)</sup> Professor; Univ. Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"; <sup>(4)</sup> Pesquisador, Embrapa Milho e Sorgo; <sup>(5)</sup> Professor; Univ. Camilo Castelo Branco; <sup>(6)</sup> Estudante de Doutorado; Univ. Federal de Minas Gerais.

**RESUMO:** Este estudo objetivou avaliar a diversidade estrutural e funcional de microrganismos do solo em plantio de milho em área tratada com lodo de esgoto por 13 anos consecutivos. Os experimentos foram conduzidos em Latossolo Vermelho eutroférico e Latossolo Vermelho distrófico com os tratamentos: T<sub>1</sub>= 0,0 t ha<sup>-1</sup> (adubação química); T<sub>2</sub>= 5 t ha<sup>-1</sup>; T<sub>3</sub>= 10 t ha<sup>-1</sup> e T<sub>4</sub>= 20 t ha<sup>-1</sup> LE, base seca. Foram quantificadas a população microbiana e sua diversidade metabólica. A aplicação de LE resultou em baixo efeito sobre as populações microbianas do solo (fungo, bactéria, actinomiceto) nos dois solos. Não se detectou diferença entre solo rizosférico e não rizosférico. O número de substratos utilizados e a soma da atividade de utilização dos substratos variaram conforme o tempo de incubação, dose de LE e tipo de solo amostrado. Quanto aos valores de diversidade metabólica (índice de Shannon (H), número de substratos utilizados, equitabilidade (E), e atividade total da população microbiana de amostras de solo após 72h de incubação, foram detectadas diferenças apenas para alguns tratamentos. Adição de LE promove a diversidade funcional da população microbiana do solo em LVef (solo rizosférico 20 t ha<sup>-1</sup>) e LVd (solo rizosférico 0,5 e 10 t ha<sup>-1</sup> e solo não rizosférico 10 e 20 t ha<sup>-1</sup>).

**Termos de indexação:** Zea mays, diversidade microbiana do solo, microrganismos do solo.

### INTRODUÇÃO

O uso agrícola do lodo de esgoto (LE) como fertilizante orgânico é uma alternativa promissora para disposição final deste resíduo. Além de representar benefício econômico, a prática representa benefício ambiental e social pela possibilidade de aumento da produtividade de culturas e menor impacto negativo sobre o ambiente (Poggiani et al., 2000). Em solos de regiões tropicais, muito intemperizados, onde a capacidade de troca catiônica (CTC) é extremamente dependente da matéria orgânica, o uso agrícola do LE é ainda mais atrativo (Melo et al., 1994).

Contudo, o LE apresenta em sua composição poluentes, como metais pesados e organismos patogênicos ao homem (Bettiol & Camargo, 2001), o que afetar a população microbiana do solo.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade estrutural e funcional de microrganismos do solo em plantio de milho cultivado em áreas que vêm recebendo diferentes doses de LE por 13 anos consecutivos.

### MATERIAL E MÉTODOS

As áreas experimentais localizam-se na Fazenda de Ensino e Pesquisa da UNESP - Câmpus de Jaboticabal - SP, cujo clima é classificado, segundo Köppen, como subtropical de inverno seco (Aw) (Volpe; Cunha, 2008)

Os experimentos foram conduzidos em Latossolo Vermelho eutroférico típico (LVef), textura argilosa, A moderado caulínítico-oxídico e Latossolo Vermelho distrófico típico (LVd), textura média, A moderado caulínítico (Embrapa, 2006).

O experimento foi instalado em condições de campo em parcelas com 60 m<sup>2</sup> em 1997, utilizando-se o delineamento experimental em blocos casualizados com 4 tratamentos e 5 repetições. Os tratamentos testados foram: T1= testemunha (sem aplicação de LE e com fertilização mineral baseada na análise de solo segundo Raij & Cantarella (1997); T2= 2,5 t ha<sup>-1</sup>; T3= 5 t ha<sup>-1</sup>, T4= 10 t ha<sup>-1</sup> de LE, base seca. A partir do quarto ano, a dose 2,5 t ha<sup>-1</sup> foi substituída por 20 t ha<sup>-1</sup>.

No décimo terceiro ano agrícola, que se refere a este trabalho, as doses de LE, obtido na ETE de Barueri, SP, foram 0 (testemunha, com fertilização mineral com base na análise de solo), 5, 10 e 20 t ha<sup>-1</sup> (base seca) e P 20,36 g kg<sup>-1</sup>, N 24,8 g kg<sup>-1</sup> e K 2,38 g kg<sup>-1</sup>. A planta teste foi o milho.

Foram realizadas coletas de solo rizosférico e não rizosférico para quantificação da população microbiana no período de florescimento da cultura do milho. Para tal, foram coletados os sistemas radiculares de quatro plantas por parcela. Amostras do solo rizosférico foram constituídas pelo solo

aderido às raízes das plantas. A amostra composta de solo não rizosférico foi constituída por quatro amostras obtidas aleatoriamente entre as linhas em cada parcela na profundidade de 20 cm.

O número de células viáveis (unidade formadora de colônia, UFC) de bactérias, actinomicetos e fungos, foi determinado em meio ágar-batata (Wollum, 1982), L-asparagina (Agar – amido) e Martin (Martin, 1950), respectivamente. As contagens de UFC foram realizadas quatro, oito e doze dias após o plaqueamento para bactéria, fungo e actinomiceto. Os dados de população microbiana foram utilizados para se estimar o efeito rizosférico (R/S), onde R representa o número de microrganismos (UFC g<sup>-1</sup> solo) na rizosfera e S, o número de microrganismos no solo controle (solo não rizosférico - NR).

A diversidade metabólica da comunidade microbiana foi medida utilizando-se BIOLOG microplates (Biolog Inc.) Foram utilizadas microplacas com 96 poços, que correspondem a 31 fontes de carbono (ácidos carboxílicos, carboidratos, polímeros, aminoácidos, aminas), um controle sem fonte de carbono e três repetições. As leituras das microplacas foram realizadas a cada 24 h e até 120 h por meio da medida da cor desenvolvida pela oxidação de substratos em espectrofotômetro leitor de microplacas (Labsystems, Multiskan, MS, EUA), a 590 nm. A leitura de 72 horas foi utilizada para cálculos dos componentes da diversidade funcional.

Os valores de AWCD (Average Well Colour Development) foram calculados por meio da divisão da atividade de utilização dos substratos em cada cavidade pelo valor médio da leitura da placa inteira (Garland & Mills, 1991). Os componentes da diversidade funcional, diversidade metabólica, equitabilidade e atividade total foram estimados de acordo com Zak et al., (1994).

Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando houve significância, as médias foram comparadas pelo teste de diferença mínima significativa (Fisher LSD,  $\alpha=0,05$ ), utilizando-se o programa SAS (SAS Institute, 2002).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação de LE não causou efeito significativo nas populações microbianas do solo (fungo, bactéria, actinomiceto) nos dois solos estudados. A aplicação de 5, 10 e 20 t ha<sup>-1</sup> de LE em solo não rizosférico determinou os maiores valores médios para densidade bacteriana (8,00, 8,07 e 7,91 log UFC\*g<sup>-1</sup>, respectivamente) e a aplicação de 0, 5 e 20 t ha<sup>-1</sup> de LE em solo rizosférico causou os maiores valores médios para densidade de fungos (5,48, 5,60 e 5,83 log UFC\*g<sup>-1</sup>, respectivamente) em LVef. Em LVd, o tratamento

20 t ha<sup>-1</sup>, em solo não rizosférico, causou o maior valor médio de densidade fúngica (5,49 log UFC\*g<sup>-1</sup>). Neste mesmo solo, foram encontradas densidades bacterianas de 7,85, 7,90 e 7,84 nos tratamentos 0, 5 e 20 t ha<sup>-1</sup> LE, respectivamente. Para a população de actinomicetos, não foram observadas diferenças para as doses de LE aplicadas nos dois solos. Quando considerada a população microbiana total (fungo, bactéria e actinomiceto), não foi detectado efeito da aplicação de LE tanto em LVef como em LVd. Quanto ao efeito rizosférico na população microbiana, não se detectou efeito significativo (P=0,584 e P=0,9858 para LVef e LVd, respectivamente).

O número de substratos utilizados variou conforme o tempo de incubação, a dose de LE e origem do solo (rizosférico e não rizosférico). A partir de 48 h, apareceram diferenças entre os extratos microbianos não rizosférico (SN) e rizosférico (SR) nos dois solos em estudo. Em LVef, houve diferença entre o número de substratos utilizados apenas para o solo rizosférico, sendo que o tratamento com 20 t ha<sup>-1</sup> LE usou o maior número de substratos. Para o solo LVd, houve diferença no número de substratos utilizados para o solo não rizosférico (10 e 20 t ha<sup>-1</sup> LE) e rizosférico (0, 5 e 10 t ha<sup>-1</sup>).

A soma de atividade para a utilização dos substratos variou conforme o tratamento aplicado e a origem do solo. Assim como para o número de substratos utilizados, não houve diferença na soma de atividade para o solo não rizosférico em LVef. Em LVef, solo rizosférico, a soma de atividade foi maior para o tratamento com 20 t ha<sup>-1</sup> LE. No solo não rizosférico, LVd, a soma de atividade foi maior no tratamento com 10 t ha<sup>-1</sup> LE. Para o solo rizosférico, as diferenças entre os tratamentos foram menores.

Quanto aos valores de diversidade metabólica (índice de Shannon, H), número de substratos utilizados, equitabilidade (E), e atividade total da população microbiana de amostras de solo quantificadas após 72 h de incubação, foram detectadas diferenças apenas para alguns tratamentos (Tabela 1). Para o solo não rizosférico, houve diferença apenas para a equitabilidade no solo LVd. Para o solo rizosférico, houve diferenças para o número de substratos utilizados e equitabilidade em LVef, e para Shannon, número de substratos utilizados, equitabilidade e atividade total em LVd.

Tabela 1. Diversidade metabólica (índice de Shannon, H), número de substratos utilizados, equitabilidade (E), e atividade total da população microbiana de amostras de solo não rizosférico (SN) e rizosférico (SR) em Latossolo Vermelho eutroférrico (LVef) e Latossolo Vermelho distrófico típico (LVd) tratados com lodo de esgoto por 13 anos consecutivos e cultivados com milho.

Latossolo Vermelho eutroférrico típico (LVef)								
Tratamento	Shannon(H)		Substratos utilizados		E		Atividade total	
	SN	SR	SN	SR	SN	SR	SN	SR
0 t ha <sup>-1</sup>	1,92a	3,03 a	11,0 a	22,00 ab	1,90 a	2,25b	2,74 a	5,19 a
5 t ha <sup>-1</sup>	2,70a	3,06 a	10,00 a	23,33 a	2,97 a	2,24b	2,27 a	5,16 a
10 t ha <sup>-1</sup>	3,09a	2,93 a	12,33 a	18,00 b	2,89 a	2,33b	4,32 a	4,27 a
20 t ha <sup>-1</sup>	2,70a	2,87 a	16,16 a	10,33 c	2,22 a	3,01 a	2,88 a	3,23 a

  

LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico (LVd)								
Tratamento	Shannon (H)		Substratos utilizados		E		Atividade total	
	SN	SR	SN	SR	SN	SR	SN	SR
0 t ha <sup>-1</sup>	2,79a	2,30c	10,00 a	6,66c	1,21 a	1,22a	3,23 a	2,72b
5 t ha <sup>-1</sup>	2,70a	2,59b	10,66 a	11,00b	1,14ab	1,08b	3,99 a	3,60ab
10 t ha <sup>-1</sup>	2,55a	2,64b	10,66 a	11,00b	1,08b	1,10b	3,29 a	3,23ab
20 t ha <sup>-1</sup>	2,67a	2,80a	10,00 a	15,66a	1,16ab	1,01b	3,54 a	4,71a

\*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

A aplicação de LE não influenciou a população total de microrganismos nos solos estudados. Santos et al., (2011) relatam que a aplicação de lodo não afetou negativamente os microrganismos do solo e suas atividades. A MO contida no LE, juntamente com a existente no solo, podem complexar os componentes tóxicos presentes no LE e, com isso, evitar efeito antagonico sobre a biota do solo. Relatos sobre a influência e incremento causados por LE na estrutura da comunidade microbiana são descritos por vários autores (Borjesson et al., 2012; Yang et al., 2012).

### CONCLUSÕES

A adição de LE não altera a população microbiana total do solo (fungos, bactérias e actinomicetos) em solo rizosférico e não rizosférico, mas promove a diversidade funcional da população em LVef (solo rizosférico 20 t ha<sup>-1</sup>) e LVd (solo rizosférico 0, 5 e 10 t ha<sup>-1</sup> e solo não rizosférico 10 e 20 t ha<sup>-1</sup>).

### AGRADECIMENTOS

A Capes pela concessão da bolsa ao primeiro autor e ao CNPq pela bolsa de pesquisador ao segundo autor. A Fapemig pela concessão de recursos financeiros.

### REFERÊNCIAS

BETTIOL, W. & CAMARGO, O.A. Reciclagem de lodo de esgoto na agricultura. In: MELO, I.S.; SILVA, C.; SCRAMIN, S. & SPESSOTO, A., eds. Biodegradação. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, 2001. p.93-113.

BÖRJESSON, G.; MENICHETTI, L.; KIRCHMANN, H.; KÄTTERE, T. Soil microbial community structure affected by 53 years of nitrogen fertilisation and different organic amendments. *Biol Fertil Soils* (2012) 48:245–257.

EMBRAPA, Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. Serviço de Produção de Informação, Brasília: Embrapa, 2006. 306 p.

GARLAND, J.L.; MILLS, A.L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community level sole carbon source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*, v.57, p.2351- 2359, 1991.

MARTIN, J. P. Use of acid, rose bengal, and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Sci*, 69: 215-232. 1950.

MELO, E.F.R.Q. Alterações nas características químicas do solo de uma área degradada em recuperação. In: Balensiefer, M.; Araújo, A.J.; Rossot, N.C. In: Simpósio Sul Americano. 1 e Simpósio Nacional Sobre Recuperação de Áreas Degradadas, 2,

1994, Curitiba. Anais... Curitiba: FUPEF, 1994. p.371-81.

POGGIANI, F.; GUEDES, M.C.; BENEDETTI, V. Aplicabilidade do biossólido em plantações florestais: 1-Reflexos no ciclo de nutrientes. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O.A. (Ed.). Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Jaguariúna: Embrapa, 2000. p.163-178.

RAIJ, B. van; CANTARELLA, H. Milho. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. Recomendação de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. 2. ed. Campinas: Instituto Agrônomo, p. 56 – 59. 1997. (Boletim Técnico 100).

SANTOS, J.A.; NUNES, L.A.P.L.; MELO, W.J.; ARAÚJO, A.S.F. Tannery sludge compost amendment rates on soil microbial biomass of two different soils. *European Journal of Soil Biology* 47 (2011) 146 e 151.

SAS INSTITUTE. SAS user's guide: statistics. Version 9.1. Cary: SAS Institute, 2002.

VOLPE, C. A.; CUNHA, A. R. Dados meteorológicos de Jaboticabal no período de 1971-2000. In: FÓRUM DE ESTUDOS DOS PROBLEMAS REFERENTES ÀS MUDANÇAS MESOCLIMÁTICAS NO MUNICÍPIO DE JABOTICABAL, 1., Jaboticabal, 2008. Relatório final. Jaboticabal, Comissão de Assuntos Relevantes da Câmara Municipal de Jaboticabal, 2008. CD-ROM.

WOLLUM, A. G. Cultural methods for soil microorganisms. In: PAGE, A. L.; MILLER, R. H.; KEENEY, D. R. Methods of soil analysis. Madison: Wisconsin, 781- 802, 1982.

YANG, Y.; WANG, X.; SHI, J.; LI, J. The influence of the discharging sewage on microbial diversity in sludge from Dongting Lake. *World J Microbiol Biotechnol* (2012) 28:421–430.

ZAK, J.C.; WILLIG, M.R.; MORRHEAD, D.L.; WILDMAN, H.G. Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. *Soil Biology and Biochemistry*, v.26, p.1101- 1108, 1994.