

## DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE BACTÉRIAS DO SOLO PELO MÉTODO DE PLAQUEAMENTO POR GOTAS EM CULTIVADO DE FEIJÃO-CAUPI SUBMETIDOS A DIFERENTES DOSES DE NITROGÊNIO

Luciano Lopes Queiroz<sup>1</sup>; Nicarla da Silva Bispo<sup>2</sup>; Fernando Araújo da Cruz<sup>2</sup>; Geraldo Rodrigues dos Santos Neto Oliveira<sup>2</sup>; Luiz Carlos Ferreira<sup>3</sup>

**Resumo:** As bactérias do solo são organismos muito importantes no ambiente, porém, pouco estudadas a interferência da adubação química com a quantidade das mesmas no solo. Com isso o objetivo desse trabalho foi avaliar a variação da quantidade de bactérias do solo submetidas a diferentes doses de nitrogênio em cultivado do feijão caupi, utilizando a técnica microgotas. O experimento foi desenvolvido em campo e laboratório do IFNMG campus Januária, onde foi colhidas porções de solo ao longo do ciclo da cultura e feita às análises laboratoriais utilizando a técnica citada. A análise de variância mostrou que houve significância para doses de nitrogênio sobre as quantidades de bactérias. A análise de regressão mostrou uma resposta linear negativa para o número de bactérias em relação às doses crescentes da adubação nitrogenada.

**Palavras-chave:** Microgotas. Bactérias do solo. Nitrogênio

### Introdução

A partir de análises microbiológicas que quantifiquem a biomassa microbiana do solo é possível avaliar a alteração do solo sem a necessidade de recorrer a longos e dispendiosos experimentos de campo (BROOKES, 1995). A técnica genericamente denominada de microgotas tem sido extensivamente usada por permitir enorme economia de tempo, de material, assim como por tornar possível a realização concomitante de um grande número de repetições (ROMEIRO, 2014). A contagem em microgotas otimiza a utilização de material, principalmente meio de cultura e placas de Petri. Neste sentido o objetivo deste trabalho foi aplicar um método simplificado de contagem de bactérias do solo, pelo método de plaqueamento por gotas, em cultivado de feijão-caupi submetidos a diferentes doses de nitrogênio.

### Material e Métodos

---

1 Acadêmico do curso de Agronomia do IFNMG, Campus Januária. Bolsista de Iniciação Científica da FAPEMIG. Email: luciano-queiroz-10@hotmail.com

2 Estudante do curso de Agronomia do IFNMG, Campus Januária. Email: nsbnicarla@hotmail.com; fcaraujo16@hotmail.com; gerrodri13@yahoo.com.br

3 Docente do IFNMG, Campus Januária. Curso de Ciências Biológicas. Email: luiz.ferreira@ifnmg.edu.br

O experimento foi realizado em campo e em laboratório no IFNMG- Campus Januária, no município de Januária-MG. Montou-se o experimento em parcelas de 15 m<sup>2</sup> subdivididas, com 5 diferentes doses de nitrogênio 0, 25, 50, 75, 100 kg.ha<sup>-1</sup> com cinco repetições onde foi plantado o feijão caupi. Utilizou-se ureia com 43% de N como fonte de nitrogênio para os testes. No mesmo período do ciclo do feijão que varia de 60 a 75 dias foi avaliado o número de bactérias do solo pelo método de plaqueamento por gotas, onde as avaliações foram feitas de 15 em 15 dias a contar desde dia da semeadura do feijão, totalizando 4 quantificações nos respectivos tratamentos e repetições no ciclo do feijão. Para as avaliações coletou-se porções de solo próximo a raiz de três plantas nas fileiras centrais de cada parcela e homogeneizadas em um Erlenmeyer esterilizados e em seguida encaminhou-se para o laboratório de microbiologia onde prosseguiu as avaliações como descreve o método de plaqueamento por gotas, utilizando-se o meio de cultura ágar nutriente para determinação de bactérias.

Os tubos de ensaio, após receber em 9 mL de água peptonada 0,1% estéril, foram autoclavados por 20 minutos a 120°C a 1 atm de pressão onde efetuou-se a série de diluições. Foram obtida uma suspensão em frasco Erlenmeyer utilizando-se 10 g de terra e 90 mL de água peptonada 0,1% estéril, a partir dessa suspensão, foram realizadas diluições sucessivas com alíquotas de 1 mL nos tubos de ensaio que continham 9 mL de água peptonada 0,1% estéril.

Realizou-se o plaqueamento com o auxílio de micropipeta, em capela de fluxo laminar, com 3 gotas de 0,02 mL em placas de Petri esterilizadas com meio de cultura ágar nutriente. As placas foram incubadas em estufa para D.B.O. (demanda bioquímica de oxigênio) a 28°C por um período de 10 h. Após o período de incubação, foi feito a contagem das colônias de bactérias e feito os cálculos de N° UFC/g de solo: n° colônias x f.d / alíquota(mL).

## Resultados e Discussão

A análise de variância mostrou que houve significância para doses de nitrogênio sobre a variável avaliadas que são as bactérias (Tabela 1). Isto indica que o nitrogênio interferiu na massa microbiana nativa daquele solo.

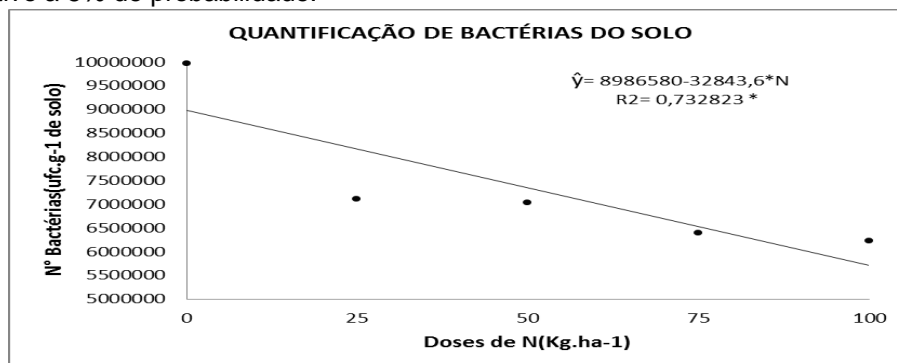
Tabela 1. Quadro de Análise de variância da quantificação de bactérias nativas do solo submetidas a diferentes doses de nitrogênio.

<i>FV</i>	<i>GL</i>	<i>QM</i>
<b>N</b>	<b>4</b>	<b>6,89x10<sup>12</sup> ***</b>
<b>Blocos</b>	<b>2</b>	<b>3,94x10<sup>11</sup> NS</b>
<b>Resíduo</b>	<b>8</b>	<b>3,64x10<sup>11</sup></b>
<b>CV (%)</b>	<b>8,266</b>	

A análise de regressão mostrou uma resposta linear negativa para o número de unidades formadoras de colônias (UFC) de bactérias em relação as doses crescentes da adubação nitrogenada (Figura 1).

Figura 1. Quantificação de bactérias nativas do solo submetidas a diferentes doses de nitrogênio em cultivado de feijão caupi, análises feitas aos 15, 30, 45 e 60 dias após a semeadura (DAS).

\*: significativo a 5% de probabilidade.



Quanto maior a dose de nitrogênio menor foi a quantidade de (ufc) por gramas de solo, isso indica que o elemento químico interferiu significativamente sobre as bactérias do solo. Essa diminuição pode estar atrelada a diversos fatores sendo um deles o efeito salino sobre os microrganismos.

## Conclusões

A quantidade de bactérias nativas do solo foi reduzida de maneira significativa quando feitas as análises microbiológicas pelo plaqueamento microgotas em áreas adubadas com nitrogênio, quanto maior foi a dose aplicada na área menor foi a quantidade de bactérias, isso mostra uma sensibilidade das bactérias ao nitrogênio, confirmando a necessidade de estudos buscando a ver com mais abundância essa relação dos microrganismos com os adubos químicos.

## Referências

BROOKES, P.C. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. **Biology and Fertility of Soils**, v. 19, p. 269-279, 1995.

ROMEIRO, R. S. Técnica de microgota para contagem de células bacterianas viáveis em uma suspensão. Laboratório de Bacteriologia de Plantas. Disciplina FIP- 640. **Bactérias Fitopatogênicas. Roteiro das aulas práticas.** Aula 08 Unidade 09 Técnica da microgota. Disponível em < <http://dc247.4shared.com/doc/Oy2uUTUh/preview.html> >. Acesso em: 15 maio de 2014.

## Agradecimentos

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais FAPEMIG pela concessão da bolsa, ao Instituto Federal do Norte de Minas Gerais – IFNMG campus Januária pela disponibilização das instalações e equipamentos, e ao meu orientador Luiz Carlos Ferreira pelo apoio e dedicação com os seus orientados.