

## CONTAGEM DA POPULAÇÃO BACTERIANA EM DIFERENTES AMOSTRAS DE SOLO

ISABELLA ANDRADE DA SILVA<sup>1</sup>; BEATRIZ AUGUSTA RAYMUNDO SOTÉRIO<sup>2</sup>;  
SIMONE ZARICHTA RAKULOSK<sup>2</sup>; EDUARDO BERNARDI<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Graduando em Ciências Biológicas - Universidade Federal de Pelotas - isabella.andrade2001@hotmail.com*

<sup>2</sup> *Graduando em Ciências Biológicas - Universidade Federal de Pelotas – beaaugusta18@gmail.com*

<sup>2</sup> *Graduando em Ciências Biológicas - Universidade Federal de Pelotas – simonezrakuloski@gmail.com*

<sup>3</sup> *Departamento de Microbiologia e Parasitologia/IB/UFPel - Universidade Federal de Pelotas – edu.bernardi@hotmail.com*

### 1. INTRODUÇÃO

O solo é um recurso natural vital para o funcionamento do ecossistema terrestre e representa um balanço entre as frações líquida, gasosa e sólida. A fração líquida é composta por água e materiais dissolvidos, a fração gasosa, por gases atmosféricos em diferentes proporções e a fração sólida, por minerais, raízes, macro e microrganismos metabolicamente ativos ou inativos e matéria orgânica em vários estádios de decomposição (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Os microrganismos realizam diversas funções essenciais para o funcionamento do solo, tais como, decomposição da matéria orgânica, liberação de nutrientes em formas disponíveis às plantas e degradação de substâncias tóxicas. Além disso, formam associações simbióticas com as raízes das plantas e atuam no controle biológico de patógenos, influenciam a solubilização de minerais e contribuem para a estruturação e agregação do solo (ARAÚJO, 2007).

O pH do solo representa importância determinante para a atividade e distribuição dos microrganismos. O pH de um solo ou de um micro-sítio dentro do solo é dependente de um grande número de fatores e processos, tais como, o material de formação do solo, o grau de adubação a exportação de bases trocáveis pelas plantas, a atividade microbiana de decomposição da matéria orgânica, entre outros, contribuem para a modificação deste pH.

O material de formação do solo, o grau de adubação, a exportação de bases trocáveis pelas plantas, a atividade microbiana de decomposição da matéria orgânica, entre outros, contribuem para a modificação do pH do solo.

As avaliações das populações microbianas de um solo podem ser efetuadas em meios de cultura, através de contagens das UFC (Unidades Formadoras de Colônias), ou por técnicas de estimativa do número mais provável com base na diluição à extinção, ou ainda por técnicas de contagem direta com o uso de microscópio (ALEXANDER, 1980). Estas técnicas são de grande valia para o conhecimento das relações entre os diferentes grupos microbianos.

As contagens realizadas em meios de cultura têm como princípio a diluição decimal de amostra de solo em solução salina isotônica ou em água destilada,



que posteriormente é agitada mecanicamente para promover a separação de estruturas microbianas. Considerando as condições do solo, seleciona-se as diluições com maior possibilidade de ocorrência das populações e inocula-se em meio de cultura específico para cada grupo microbiano. Esta técnica parte do princípio que cada colônia origina-se de uma única célula, esporo, hifa ou segmento da hifa (GRAY & WILLIAM, 1975). Segundo estes autores a grande desvantagem desta técnica é a subestimação da população, resultante da utilização dos meios de cultura e das condições de incubação que são seletivas. Além disso, deve-se considerar que, muitos esporos não germinam durante a diluição da amostra de solo, muitas células permanecem agregadas e aderidas às paredes das pipetas. A quantificação da população geralmente é expressa por grama de solo seco, sendo obtida em função da diluição do número de UFC por placa.

## 2. METODOLOGIA

As amostras de solo analisadas foram coletadas no Campus Capão do Leão da Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão - RS e na cidade de Herval - RS.

Posteriormente, foram realizados cálculos a respeito do preparo dos meios de cultura, para realização de diluição e plaqueamento em superfície. Como diluente foi utilizada água peptonada (0,1%) em alíquotas de 225 mL e tubos de ensaio com 9mL para diluições seriadas. Para plaqueamento foi utilizado meio de cultivo Ágar Para Contagem (APC). Assim, os diluentes e o meio de cultura foram autoclavados, para esterilização, por 20 minutos/121°C/1Atm.

Após os meios esterilizados, foram realizados os processamentos das amostras. Para isto, foram pesadas 25 g de amostras de solo, amostras essas frescas e secas, secas em estufa para análise posterior e adicionadas a 225mL de água peptonada, compreendendo a primeira diluição, em seguida e com o auxílio de micropipetas de 1000µl, foram feitas diluições seriadas nos tubos contendo 9 mL de água peptonada, sendo os tubos agitados com o Vortex. Após essa etapa, foi utilizada micropipeta de 100µl para transferências de alíquotas de 0,1 mL, de cada diluição, para as placas, em duplicata, com os meios de cultura, sendo as alíquotas espalhadas com uma alça de vidro flambada com álcool. Após, as placas foram incubadas em estufa 48 horas a 36°C. Após este período, com o auxílio de um Contador de colônias, foram feitas as contagens das Unidades Formadoras de Colônias (UFC), em cada uma das placas correspondentes às diluições semeadas, para posterior interpretação dos resultados.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de solo analisadas foram : amostra do Campus Capão do Leão/UFPel (31,80217°S 52,41336°O); amostra Mata Nativa, Herval (31.960193634033203°, 53.108333587646484°) amostra Pastagem Tifton, Herval (31.849361419677734°, 52.82373046875°). Após o período de incubação na estufa cumprindo as 48hrs, iniciou-se a contagem de colônias e para contabilizar foi utilizado uma tabela com a contagem das amostras frescas e secas (tabela 1).

A tabela (Tabela 1 ) apresenta a quantidade de unidades formadoras de colônias em cada uma das amostras. Para que a interpretação ocorra é necessário realizar o somatório das amostras que ficarem entre 30 e 300 UFC. A amostra de solo fresca da

FAEM (UFPel) apresentou  $3,85 \times 10^5$  UFC/g solo, a amostra seca FAEM (UFPel) apresentou  $3,65 \times 10^5$  UFC/g solo, amostra fresca da Mata Nativa apresenta  $9,1 \times 10^5$  UFC/g solo, amostra seca da Mata Nativa apresenta  $9,25 \times 10^5$  UFC/g solo e por fim as amostras Pastagem Tifton secas e frescas obtiveram contagens de +300 UFC/g solo em todas as diluições seriadas realizadas. Fazendo um comparativo sobre a população microbiana do solo no Parque Birigui de Curitiba, (DOSCIATI, R.C. População Microbiana do Solo no Parque Birigui. 2003), destaca-se que no ano de 2003 a ação antrópica foi relevante para determinar a qualidade do solo, juntamente com a umidade do local que foi determinante para o desenvolvimento dos fungos. (PIMENTEL, Ida C. ; DIONÍSIO, Jair A.; SIGNOR, Diana. , 2016.)

Assim como no delineamento experimental foram utilizados amostras de solo diferentes, tem-se também a contagem de fosfato em diferentes sistemas de cultivo, como foi comprovada a presença de microrganismos do solo com capacidade de solubilizar fosfatos naturais, propiciando fosfato solúvel além das suas necessidades, que é aproveitado pelas plantas. Esses resultados propiciaram o desenvolvimento de programas de inoculação de microrganismos solubilizadores de fosfatos, com resultados favoráveis (Young, 1990). O estudo de densidade e caracterização de bactérias tem como objetivo analisar a diversidade bacteriana, e a influência dos períodos secos e chuvosos em seus sistemas de produção. As amostras foram coletadas em março e setembro de 2012, sendo avaliadas também a área de pousio e de mata nativa, concluindo-se que a presença de bactérias solubilizadoras de fosfato variou conforme a época do ano ( A. R .B Zanco, et.al. 2020).

Trabalhos têm sido desenvolvidos em vários ambientes e sistemas de uso e manejo do solo, a fim de se modelar parâmetros que fomentem o conhecimento acerca da qualidade do solo. Barroso et al. (2012), descrevem que em monocultivo de milho, por exemplo, não há alteração na atividade microbiana do solo quando este recebe diferentes manejos na adubação. Assim, é perceptível que a atividade microbiana exerce forte influência na qualidade do solo, uma vez que esta atua também nos seus atributos químicos, físicos e biológicos (SILVA et al., 2019).

**Tabela 1. Contagem de unidades formadoras de colônias de bactérias pelo método de semeadura em superfície.**

Solos/ amostras	Diluições/UFC colônias									
	-1	-1	-2	-2	-3	-3	-4	-4	-5	-5
Fresca FAEM	+ 300	+ 300	+ 300	+ 300	09	68	4	0	0	0
Seca FAEM	+ 300	+ 300	+ 300	+ 300	30	43	4	52	25	4
Fresca M. Nativa	+ 300	+ 300	+ 300	+ 300	95	87	32	29	3	7
Seca M. Nativa	+ 300	+ 300	+ 300	+ 300	53	132	+ 300	1	+ 300	+ 300
Fresca Tifton	+ 300	+ 300	+ 300	+ 300	+ 300	+ 300	+ 300	82	+ 300	+ 300
Seca Tifton	+ 300	+ 300	+ 300	+ 300	+ 300	+ 300	+ 300	32	3	7

## 4. CONCLUSÕES

As amostras analisadas apresentaram contagem de  $10^5$  UFC de bactérias por grama de amostra. Entretanto, duas amostras apresentaram contagens superiores ao padrão referenciado, assim estas análises serão refeitas.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GOI, S.R. Diversidade de microrganismos do solo. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, RJ, v.13, n.02 , p. 46-65, 2006.

EMBRAPA Meio-Norte. **Ecologia Microbiana do Solo**. Teresina- PI 2007. Acesso em 23 agosto 2023. Online. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/69637/1/Doc164.pdf>

EMBRAPA. **Importância do Sistema de Semeadura Direta na População Microbiana do Solo**. Londrina - PR. Acesso em 19 agosto 2023. Online. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/460390/1/56.pdf>

AZEVEDO, J.L. Biodiversidade Microbiana e Potencial Biológico. In: MELO, I.S. de; Azevedo, J.L. de **Ecologia Microbiana**. Jaguariúna: Embrapa- CNPMA, 1998, p. 445-461.

CARDOSO, E. J. B. N. Ecologia microbiana do solo. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p. 33-57

CATTELAN, A.J.; VIDOR, C. **Flutuações na biomassa, atividade e população microbiana do solo, em função das variações ambientais**. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.14, p.133-142, 1990.

HUNGRIA, M.; ANDRADE, D.S.; COLOZZI-FILHO, A.; BALOTA, E.L.; SANTOS, J.c.F. **Ecologia microbiana em solos sob cultivo na Região Sul do Brasil**. In: HUNGRIA, M.; BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, E.; ANDRADE, D.S. eds. Microbiologia do solo: desafios para o Século XXI. Londrina: IAPAR/EMBRAPA-CNPSO, 1995. p.234- 270.

ANDRADE, D.S.; MIYAZAWA, M. & HAMAKAWA, P. J In: HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R. S. ed. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994.p. 227-236. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 46).

DOSCIATI, R.C. **População Microbiana do Solo no Parque Birigui**. 2003 . Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Curso de Pós Graduação em Agronomia- Área de Concentração "Ciência do Solo", Universidade Federal de Curitiba.

PIMENTEL, I. C. ; DIONÍSIO, Jair A.; SIGNOR, Diana. **Guia Prático de Biologia do Solo**. Curitiba: SBCS/NEPAR, 2016. Cap.3, p-17-22.