



## VIABILIDADE DE ARMAZENAMENTO DO EXTRATO DO CARBONO DA BIOMASSA MICROBIANA EM FUNÇÃO DO TEMPO

Stallone da Costa Soares<sup>1</sup>, Fabiane Machado Vezzani<sup>2</sup>, Carolina Scaburi Ballestrin<sup>3</sup>, Nerilde Favaretto<sup>4</sup>, Gabriel Barth<sup>5</sup>

**RESUMO:** O presente trabalho teve como objetivo analisar as concentrações do carbono do extrato do carbono da biomassa microbiana ao longo do tempo, a fim de avaliar a viabilidade de armazenamento. O solo utilizado foi proveniente de área experimental manejada com dejetos líquidos bovinos (DLB) para produção de grãos distribuído superficialmente desde 2005 nas seguintes doses: 0, 60, 120 e 180 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>, localizada em Campo Demonstrativo Experimental (CDE) da Fundação ABC, Ponta Grossa-Paraná. O procedimento metodológico se deu pela leitura do carbono da biomassa microbiana (CBM) em zero, 28, 77 e 129 dias após a obtenção do extrato pelo método de extração-fumigação. Na análise de zero dia após a obtenção do extrato, os valores do CBM variaram de 69 a 124 mg C kg<sup>-1</sup>, 28 dias após os valores variaram de 28 a 44 mg C kg<sup>-1</sup>, em 77 e 129 dias os valores foram negativos. O conteúdo do CBM teve uma diminuição de 42 a 65 % entre zero e 30 dias após a obtenção do extrato. Logo, o armazenamento de extrato para a determinação do CBM pelo método fumigação-extração não é viável, uma vez que o carbono no extrato é perdido.

**PALAVRAS-CHAVE:** fumigação-extração, variação temporal do extrato, dejetos líquidos bovinos.

### INTRODUÇÃO

O carbono da biomassa microbiana (CBM) é um dos indicadores sensíveis que pode ser utilizado no monitoramento de alterações na funcionalidade do solo (Epelde et al., 2014). A sua estimativa é útil para avaliar alterações em ecossistemas com interferência antrópica. Para sua quantificação, diversas metodologias são utilizadas, e a mais frequentes

<sup>1</sup>Mestrando em Ciência do Solo, Departamento de Solos e Engenharia Agrícola/UFPR. E-mail: stallonesoares@hotmail.com.

<sup>2</sup>Docente, Departamento de Solos e Engenharia Agrícola/UFPR. E-mail: vezzani@ufpr.br.

<sup>3</sup>Mestranda em Ciência do Solo, Departamento de Solos e Engenharia Agrícola/UFPR. E-mail: carolinascaburi@gmail.com.

<sup>4</sup>Docente, Departamento de Solos e Engenharia Agrícola/UFPR. E-mail: nfavaretto@ufpr.br.

<sup>5</sup>Coordenador de pesquisa do Setor de Solos e Nutrição de Plantas da Fundação ABC. E-mail: gabrielbarth@fundacaoabc.org.

são fumigação-incubação (Jenkinson & Powelson, 1976), fumigação-extração (Vance et al., 1987) e irradiação-extração (Islam & Weil, 1998).

A fumigação-extração envolve a eliminação dos microrganismos pelo clorofórmio. O carbono liberado pela morte dos microrganismos é determinado pela extração química ou digestão. As etapas do procedimento metodológico consistem em realizar a agitação, a centrifugação e a filtragem em papel filtro para obter o extrato a ser analisado. Entretanto, por ser um procedimento demorado, em situações com número elevado de amostras, é necessário mais de um dia para realizar a leitura do carbono no extrato. Nestes casos, o armazenamento do extrato é imprescindível.

Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo analisar as concentrações do carbono do extrato do carbono da biomassa microbiana ao longo do tempo, a fim de avaliar a viabilidade de armazenamento.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi conduzido a partir de solo proveniente de área experimental manejada com dejetos líquidos bovinos (DLB) para produção de grãos distribuído superficialmente desde 2005 nas seguintes doses: 0, 60, 120 e 180 m<sup>-3</sup> ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>, localizada em Campo Demonstrativo Experimental (CDE) da Fundação ABC, Ponta Grossa-Paraná, pelo método de fumigação-extração de Vance et al. (1987). Após a obtenção do extrato, o procedimento metodológico se deu pela leitura do CMB em zero, 28, 77 e 129 dias após a extração, em duplicata.

Após a extração, a alíquota ficou armazenada em - 4 °C. A cada leitura, a alíquota foi colocada em temperatura ambiente até seu descongelamento e assim realizada a leitura do carbono pelo método fumigação-extração. O efeito do armazenamento do CBM foi analisado pelo teste de Tukey em nível de 5 % de significância utilizando o programa estatístico ASSISTAT BETA 7.7.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A tabela 1 apresenta os valores da análise de variância do CBM em função do tempo. Não foi possível obter análise estatística dos 77 e 129 dias porque os valores foram negativos.



Tabela 1. Carbono da biomassa microbiana em função do tempo de avaliação do extrato.

		Dias após extração			
		0	28	77	129
Fator		CMB (mg C kg <sup>-1</sup> )			
Doses	0	69	28	VN	VN
	60	72	42	VN	VN
	120	90	48	VN	VN
	180	124	44	VN	VN
Profundidade	0-5 cm	75	34	VN	VN
	5-10 cm	124	47	VN	VN

VN =valores negativos.

Verificou-se a diminuição do conteúdo do CBM ao longo do tempo. Na dose de 0 m<sup>3</sup> DLB ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> da leitura com 30 dias após a obtenção do extrato houve uma diminuição de CBM em cerca de 60 % em relação a zero dia após a extração. Houve diminuição também nas demais doses. O decréscimo foi de 42 %, 47 % e 65 % nas doses de 60, 120 e 180 m<sup>3</sup> DLB ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>, respectivamente, entre zero e 28 dias de avaliação. Em relação à profundidade, a mesma tendência se apresentou. De 0-5 cm, o CBM diminuiu em 55 % de zero a 28 dias após a extração, e na profundidade de 5-10 cm, essa diminuição foi de 63 %.

Para as análises dos 77 e 129 dias após a extração, os valores do CBM foram negativos, o que releva a perda do conteúdo de carbono presente no extrato.

Alguns trabalhos relatam a variabilidade dos atributos microbiológicos com o armazenamento de solo. Winter et al. (1994) concluíram que o armazenamento de solo congelado a -15 °C por até 170 dias não afetou o CBM determinada pelo método da fumigação-extração. Porém, não recomendaram o uso de amostras previamente congeladas na determinação da biomassa microbiana em função do método testado, uma vez que a mortalidade microbiana pode ter sido mascarada pelo aumento da eficiência do método provocado pela desagregação do solo congelado.

Trabalho similar foi feito com solo por Cernohlávková et al. (2009). Esses autores avaliaram o efeito das condições de armazenamento até 32 semanas sobre o CBM e identificaram que não houve efeito significativo pelo armazenamento até 4 semanas. A

<sup>1</sup>Mestrando em Ciência do Solo, Departamento de Solos e Engenharia Agrícola/UFPR. E-mail: stallonesoares@hotmail.com.

<sup>2</sup> Docente, Departamento de Solos e Engenharia Agrícola/UFPR. E-mail: vezzani@ufpr.br.

<sup>3</sup> Mestranda em Ciência do Solo, Departamento de Solos e Engenharia Agrícola/UFPR. E-mail: carolinascaburi@gmail.com.

<sup>4</sup> Docente, Departamento de Solos e Engenharia Agrícola/UFPR. E-mail: nfavaretto@ufpr.br.

<sup>5</sup> Coordenador de pesquisa do Setor de Solos e Nutrição de Plantas da Fundação ABC. E-mail: gabrielbarth@fundacaoabc.org.

diminuição do CBM foi observada entre 8-16 semanas.

MacLeod e Calcott (1976) afirmaram que fatores como temperatura de armazenamento, taxa de congelamento e descongelamento, tempo de armazenamento podem interferir na mortalidade microbiana em amostra armazenadas sob refrigeração ou congelamento. Acredita-se que esses fatores podem ter causado a perda de viabilidade do extrato no presente estudo.

## CONCLUSÕES

A partir deste estudo, concluiu-se, a partir de análises laboratoriais, que o armazenamento do extrato para determinação do carbono da biomassa microbiana pelo método fumigação-extração não é viável. Recomenda-se, assim, que as análises sejam realizadas logo após a extração.

## REFERÊNCIAS

- Cernohlávková J1, Jarkovský J, Nesporová M, Hofman J. Variability of soil microbial properties: effects of sampling, handling and storage. **Ecotoxicol Environ Saf.** 2009. v;72(8):2102-8. doi: 10.1016/j.ecoenv.2009.04.023.
- Epelde L, Burges A, Mijangos I, Garbisu C. Microbial properties and attributes of ecological relevance for soil quality monitoring during a chemical stabilization field study. **Applied Soil Ecology.** 2014.v. 75, p.1-12. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.10.003>.
- Islam KR & Weil RR. Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. **Biol. Fertil. Soils**, 27:408-416, 1998. <https://doi.org/10.1007/s003740050451>.
- Jenkinson DS & Powlson DS. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v.8, p.209-213, 1976. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(76\)90005-5](https://doi.org/10.1016/0038-0717(76)90005-5).
- MacLeod RA & Calcott PH. Cold shock and freezing damage to microbes. In: GRAY, T.R.G.; POSTGATE, J. R. **The survival of vegetative microbes**. Cambridge: Cambridge University Press, 1976. p. 81-109. <https://doi.org/10.1002/jobm.19770170517>.
- Vance ED, Brookes PC, Jenkinson DS. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology & Biochemistry.** 1987;19:703-707. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(87\)90052-6](https://doi.org/10.1016/0038-0717(87)90052-6).
- Winter JP, Zhang Z, Tenuta M, Voroney RP. Measurement of microbial biomass by fumigation-extraction in soil stored frozen. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 1994. v. 58, p. 1645- 1651. DOI: 10.2136/sssaj1994.03615995005800060010x.