



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Agrobiologia  
Ministério da Agricultura e do Abastecimento  
Caixa Postal 74505 - CEP 23851-970 - Seropédica, RJ  
Fone (021) 682-1500 Fax (021) 682-1230  
E-mail: acn@cnpab.embrapa.br

# COMUNICADO TÉCNICO

Nº 31, out/99, p.1-10



## TRANSFORMAÇÕES BIOLÓGICAS E MICROBIOLÓGICAS OCORRIDAS NO SOLO DE UM CAFEZAL CONVENCIONAL EM CONVERSÃO PARA ORGÂNICO

Marta dos Santos Freire Ricci<sup>1</sup>  
Adriana Maria de Aquino<sup>1</sup>  
Eliane Maria Ribeiro da Silva<sup>1</sup>  
João Carlos Pereira<sup>1</sup>  
Verônica Massena Reis<sup>1</sup>

O café é o principal produto de exportação do Brasil. Entretanto, ao longo de sua história, foi responsável por grandes áreas desmatadas, mananciais poluídos, desaparecimento de espécies de plantas e animais e outros danos ambientais. Este fato decorre da falta de sustentabilidade do manejo empregado. A partir de 1961, deu-se a implantação da adubação mineral, intensificando-se até 1970, quando surgiu a ferrugem do café, provocada pelo fungo *Hemileia vastatrix*, considerada ainda hoje, a principal doença da cultura. Estabeleceu-se a partir desta época, uma nova cafeicultura voltada para o uso de fertilizantes industrializados de alta concentração e de defensivos químicos, isto é, deu-se a introdução dos “pacotes tecnológicos”, aparentemente simples, eficientes e convenientes. Consequentemente, mudanças consideráveis ocorreram no rumo das pesquisas com café, que hoje estão fortemente associadas a utilização de tais “pacotes”.

Além do impacto sobre o custo final do produto, deve-se considerar também os danos ambientais, evidenciado pela perda dos recursos genéticos, pelo empobrecimento dos solos e aumento crescente de pragas e doenças resistentes, pela contaminação de rios e geração de um produto de qualidade duvidosa para a saúde humana.

Em todo o mundo cresce a oferta de alimentos livres de resíduos de agrotóxicos, pressionada pela existência de demanda de um mercado consumidor atento à saúde e às questões ambientais e sociais. A imagem de um comércio ético (fair trade) tem sido ligada à imagem da agricultura orgânica e da agricultura sustentável. Na França, 16% da população consome regularmente produtos livres de agrotóxicos (Viglio, 1996).

Os ecossistemas naturais caracterizam-se pela alta diversidade de espécies vegetais e alta diversidade genética dentro de cada espécie. Associados a essa diversidade encontram-se inúmeros seres vivos representantes da fauna e dos microorganismos, responsáveis direta ou indiretamente pela decomposição da matéria orgânica, transformadores e fixadores de nitrogênio, produtores de antibióticos

<sup>1</sup> Pesquisadores da Embrapa *Agrobiologia*, Caixa Postal 74505, CEP 23.851-970 Seropédica, RJ.

e de uma infinidade de metabólitos, além dos fitopatógenos (Akiba, 1999). Em áreas de cultivo agrícola, essas relações são modificadas pela utilização de práticas tais como mecanização, irrigações e adubações excessivas, uso abusivo de pesticidas e existência de extensas áreas de monocultivo.

O objetivo deste trabalho foi monitorar as transformações biológicas e microbiológicas ocorridas no solo de um cafezal convencional em conversão para orgânico.

O trabalho foi conduzido em área de produtor em São Sebastião do Paraíso, sul de Minas Gerais. Foi escolhida uma área com 6.500 plantas de café (*Coffea arabica*), cultivar Rubi, implantado em dezembro/95, no espaçamento 2,0 x 0,7m. A área foi dividida em dois talhões. Um talhão continuou recebendo o manejo convencional ou químico e o outro, manejo orgânico.

A partir de novembro/96, foi suspensa a utilização de qualquer tipo de agroquímico no talhão orgânico, passando a ser utilizado como fertilizante, 2 litros de esterco de galinha por planta. Como complemento nutricional, foi utilizado um biofertilizante preparado na fazenda enriquecido com micronutrientes. Este biofertilizante foi aplicado via foliar a 4%, num intervalo de aproximadamente 45 dias. Tal mistura além de fornecer macro e micronutrientes à planta, serviu como agente preventivo no controle de pragas e doenças e estimulador de crescimento. No controle de pragas e doenças foi utilizado também as caldas bordalesa e sulfocálcica.

Os talhões convencional e orgânico foram subdivididos em quatro subáreas a fim de melhor orientar as coletas ou monitoramentos, que foram realizados nos meses de março, junho, agosto e novembro, durante os anos de 1997 e 1998. As variáveis observadas ou monitoradas foram: densidade de minhocas, populações de actinomicetos e de bactérias e fungos em geral, diversidade de fungos micorrízicos e de população de bactérias diazotróficas.

A avaliação da densidade de minhocas foi feita a partir de 12 blocos de solo de 25 x 25 x 30 cm amostrados em 12 pontos ao longo de um transecto determinado ao acaso, de acordo com a recomendação do Tropical Soil Biology and Fertility (Anderson & Ingram, 1993). Os blocos de solo retirados serão examinados, separando-se as espécies de invertebrados, as quais serão identificadas, contadas e pesadas para determinação da biomassa.

Para a avaliação das densidades das populações microbianas nos solos, quatro amostras compostas de solo rizosférico foram coletadas de cada talhão na profundidade de 15 cm, para a contagem de UFC (Unidades Formadoras de Colônias). Diluições seriadas das suspensões do solo foram feitas para a contagem de colônias em placas de Petri, contendo meios de cultura descrito por Thornton (1922) e por Waksman (1961) e Menzies (1965). As diluições decimais foram obtidas a partir da suspensão inicial, através da transferência de alíquotas de 0,1 mL da diluição específica para as placas, onde foram espalhadas superficialmente no meio de cultura com auxílio de uma alça de Drigauski. As placas foram incubadas a 28°C por sete dias. Para cada amostra foram utilizadas três placas réplicas das diluições  $10^3$ ,  $10^4$  e  $10^5$ . As densidades dessas populações são expressas em Log UFC/g solo seco.

Para a avaliação do número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares, as amostras foram coletadas segundo metodologia de Balota (1989). Os esporos foram separados por peneiramento úmido de acordo com Gerdemann & Nicolson (1963). As espécies de FMA encontradas nas amostras foram identificadas através das características morfológicas dos esporos.

O isolamento e caracterização de estirpes de *Acetobacter diazotrophicus* foi feito em raízes de café imersos em cloramina T a 1% por 5 minutos. As amostras foram maceradas em solução salina no liquidificador, diluídas e inoculadas em meio LGI-P semi-sólido. Os vidros com crescimento positivo foram repicados para novo meio semi-sólido para a confirmação do crescimento. A seguir a células crescidas nos vidros positivos foram transferidas para placas de meio sólido LGI-P (Döbereiner et al., 1995) e após 7-10 dias observou-se a presença desta bactéria. As colônias foram transferidas para meio LGI-P semi-sólido e após 5 dias foram purificadas em placas de meio batata-P (Döbereiner et al., 1995). Os isolados foram caracterizados de acordo com a utilização de fontes de carbono. O teste foi feito em meio LGI líquido pH 6,0. As fontes de carbono foram adicionadas por filtração na concentração de 10

mM. As diversas estirpes foram crescidas em meio rico por 48 horas e 20 µl das culturas foram inoculadas no meio. Após 48 hs foi avaliado o crescimento pela medida da densidade ótica (492 nm).

As variáveis foram analisadas conjuntamente por meio da técnica de análise de componentes principais (Mardia, 1979). Esta técnica procura um pequeno número de combinações lineares que serão usadas para resumir os dados. Tem como propósito: 1) examinar as correlações entre variáveis, 2) resumir um grande conjunto de caracteres que pouco contribuem para a variação geral, 3) permitir agrupar indivíduos similares, através de exames visuais em dispersão gráfica bi ou tridimensional.

Como esperado, as maiores densidades e biomassa das minhocas foram observadas no cultivo orgânico, provavelmente em função do input de matéria orgânica e ausência de agrotóxicos (Figuras 1 e 2). Apesar da magnitude ser bem diferente, a flutuação da densidade populacional foi similar em ambos os cultivos e possivelmente relacionada às condições climáticas (Figura 1). As maiores densidades variaram entre 145 a 309 ind.m<sup>2</sup> no manejo orgânico e entre 3 e 40 ind.m<sup>2</sup>, no convencional. A biomassa das minhocas diminuiu entre novembro de 97 e junho de 98 no orgânico e teve um comportamento contrário no convencional. Nessa época houve um período de seca intenso atribuído ao efeito “el ninõ”; é bem provável que pelo fato da população de minhocas ser muito alta no orgânico, os efeitos se associaram e a competição por alimento tenha sido maior que no convencional o que pode explicar o declínio da biomassa.

O cultivo orgânico do café não favoreceu a diversidade das minhocas. A única espécie encontrada foi a *Pontoscolex corethrurus* Mull em ambos os cultivos. A *P. corethrurus* é uma espécie de minhoca muito disseminada nos meios antropogênicos, tendo uma capacidade de colonização maior que as nativas. Já no solo de uma capoeira próxima à área experimental foi registrada a ocorrência além dessa espécie também de *Glossoscolex (Glossoscolex) giganteus* e *Pheretima indica*.

A diversidade de um grupo indicador pode estar relacionada, entre outros, com a diversidade de seus recursos no ambiente e, sendo a capoeira mais diversificada que uma monocultura de café, promove condições para o estabelecimento de outras espécies de minhocas. O papel das minhocas nessas áreas do café merece estudos mais aprofundados, pois já foi evidenciado em certos casos que o excesso de sua atividade pode provocar severa compactação dos solos (Duboisset, 1995, citado por Lavelle et al., 1997). O estabelecimento de um manejo que possa favorecer a diversidade dos invertebrados é fundamental nos sistemas orgânicos.

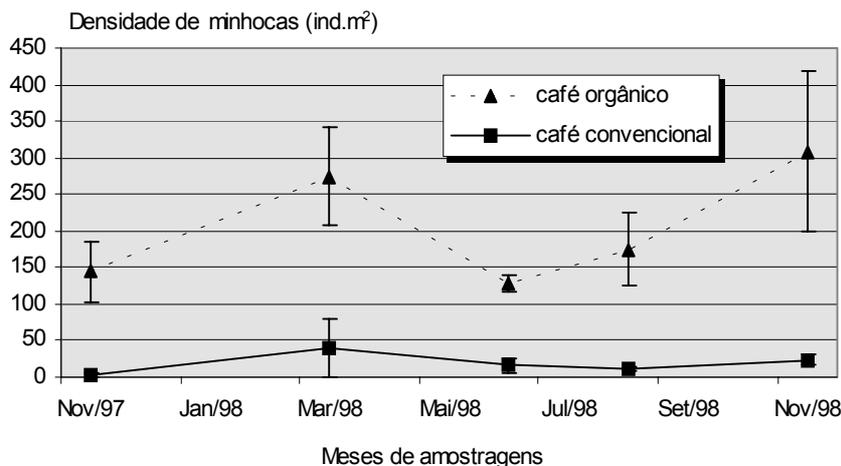


Figura 1. Densidade de minhocas na profundidade de 0-30 cm no solo dos talhões de café convencional e orgânico. São Sebastião do Paraíso, MG

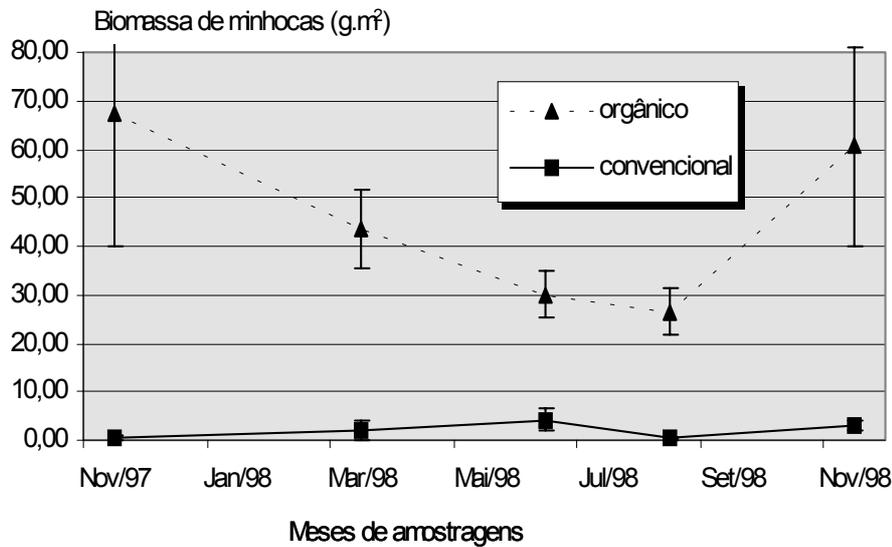


Figura 2. Biomassa de minhocas na profundidade de 0-30 cm no solo dos talhões de café convencional e orgânico. São Sebastião do Paraíso, MG.

A dinâmica das populações de bactérias em geral, de actinomicetos e de fungos em solos rizosférico está sendo avaliada em área de cultivo de café convencional e orgânico, através de diluições seriadas das suspensões do solo com contagens das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) em placas de Petri, contendo meios de cultura descrito por Thornton (1922) e por Waksman (1961) e Menzies (1965). As densidades dessas populações são expressas em Log UFC/g solo seco.

Observa-se que a dinâmica dessas populações nas áreas de cultivo orgânico e convencional são semelhantes (Figura 3), evidenciando que as influências dos fatores ambientais são de mesma origem. Verifica-se também, diferenças acentuadas no comportamento das populações de bactérias em geral em função do tipo de manejo do solo. Na área cultivada com café orgânico as densidades dessas populações foram superiores a área com café convencional, enquanto que este efeito não é observado para as populações de actinomicetos e da fungos. Estes resultados podem estar associados com o pH do solo, que variou de 4,4 a 3,9 na área de cultivo convencional e de 5,9 a 5,7 no cultivo orgânico. Tem-se observado que as populações bacterianas são mais sensíveis a baixos valores de pH e que o tamanho das populações está inversamente relacionada com a concentração iônica do hidrogênio no solo (Drozdowicz, 1991; Pereira, 1995).

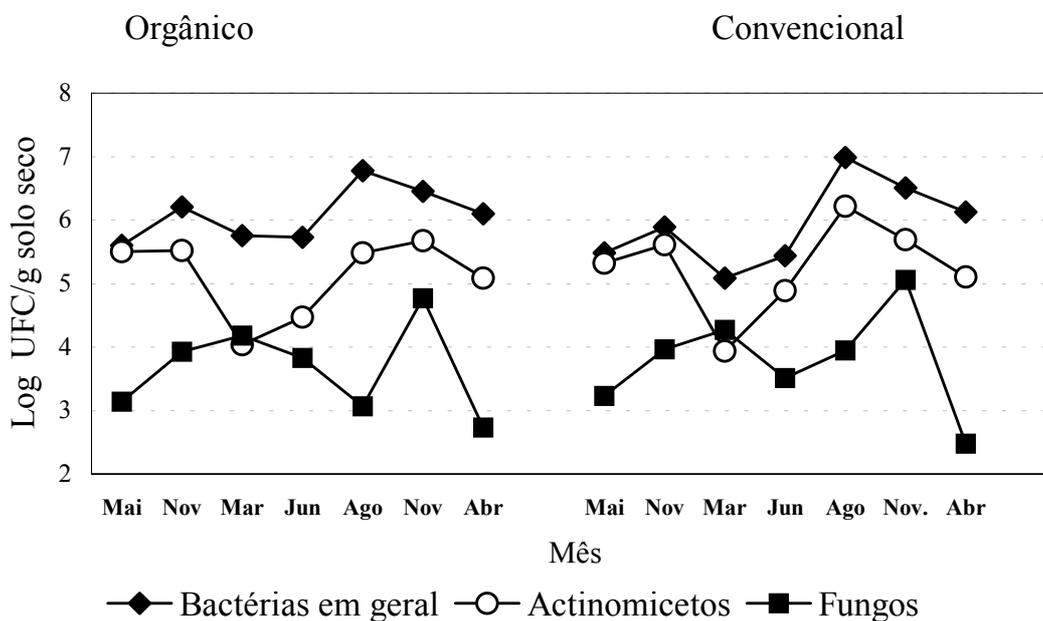


Figura 3. Dinâmica das populações microbianas em áreas cultivadas com café orgânico e convencional.

As micorrizas arbusculares ocorrem na grande maioria das plantas não cultivadas e cultivadas, incluindo-se o cafeeiro. Os levantamentos de fungos micorrízicos arbusculares em lavouras cafeeiras do Sudeste brasileiro evidenciam a ocorrência generalizada de espécies do gênero *Acaulospora*, seguido de *Glomus*, enquanto outros gêneros possuem baixos índices médios de ocorrência (Saggin Júnior & Siqueira, 1996). Os autores também destacam que além de ocorrerem com grande frequência, tais gêneros apresentam também maiores diversidades de espécies que os outros de Glomales encontrados em cafeeiros.

Em ambos os cultivos, orgânico e convencional, foi encontrado também maior diversidade de espécies nos gêneros *Glomus* e *Acaulospora*, sendo que essa diversidade foi maior no cultivo sob manejo orgânico (Quadro 1). Algumas espécies esporularam mais no sistema convencional, o que pode refletir a alta adaptação e estratégia de sobrevivência em ambiente estressado.

Quadro 1 - Número de esporos de Fungos Micorrízicos Arbusculares/50 ml de solo nos talhões de café convencional e orgânico, São Sebastião do Paraíso, MG.

Espécies de FMA	ORGÂNICO				CONVENCIONAL					
	Nov 97	Mar 98	Jun 98	Ago 98	Nov 98	Nov9 7	Mar 98	Jun 98	Ago 98	Nov 98
<i>Glomus macrocarpum</i>	38	25	28	13	16	134	43	48	32	28
<i>Glomus etunicatum</i>	37	53	51	11	13	88	61	64	27	18
<i>Glomus clarum</i>	39	02	05	11	14	158	05	---	16	22
<i>Glomus formosanum</i>	152	125	98	26	26	0	---	---	5	4
<i>Gigaspora margarita</i>	8	12	11	6	6	0	---	---	13	8
<i>Scutellospora heterogama</i>	4	05	03	4	7	0	18	11	4	4
<i>Acaulospora Scrobiculata</i>	45	25	21	4	8	108	68	49	24	8
<i>Acaulospora morrowiae</i>	6.5	10	08	6	7	14	---	---	3	1
<i>Acaulospora leavis</i>	0	05	12	13	11	0	---	03	3	5
<i>Entrophospora colombiana</i>	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0
<i>Gigaspora gigantea</i>	0	0	0	3	2	0	0	0	0	2
<b>TOTAL</b>	<b>330</b>	<b>262</b>	<b>237</b>	<b>100</b>	<b>110</b>	<b>502</b>	<b>195</b>	<b>175</b>	<b>127</b>	<b>99</b>
<b>Nº de ESPÉCIES</b>	<b>08</b>	<b>09</b>	<b>09</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>05</b>	<b>05</b>	<b>05</b>	<b>09</b>	<b>10</b>

Como podemos observar no Quadro 2, a presença de bactérias diazotróficas nas raízes de café submetidas aos dois tipos de manejo foi influenciada pela época de amostragem ocorrendo uma população maior nos períodos chuvosos (verão) e um declínio acentuado no período mais seco (agosto). Este fator também pode estar relacionado com a variação de temperatura ambiente (dia/noite) e estado fisiológico da planta (crescimento vegetativo/reprodutivo). De qualquer forma, o uso do manejo orgânico propiciou um balanço diferencial destes microrganismos sendo que a presença de bactérias diazotróficas no meio LGI-P foi mais influenciada que no meio JNFB (utilizado posteriormente). O meio de cultivo

LGI-P é dito semi-seletivo para o crescimento de *Acetobacter diazotrophicus* e possui alto teor de açúcar (100 g/L) e pH final 5,7. Estas características seletivas propiciaram o isolamento da bactéria principalmente no manejo orgânico. Este é o primeiro relato da influência da adição de matéria orgânica como fator de sustentabilidade desta espécie comparada a um manejo químico. Já o meio de cultivo JNFB foi utilizado por possuir como principal característica o uso de malato (ácido orgânico) e um pH ácido (pH final 5,8-6,0). Neste caso, a bactéria *A. diazotrophicus* não cresce nestas condições pois não utiliza esta fonte de carbono e este meio de cultivo é utilizado para o crescimento de espécies do gênero *Herbaspirillum*. Neste trabalho foi isolado pela primeira vez esta espécie que até o momento só tinha sido descrita como presente em gramíneas e palmeiras. Também propicia o crescimento de isolados de *Azospirillum* adaptados a características mais ácidas. Embora a população como um todo seja menor que a de bactérias crescidas no meio com sacarose, o manejo orgânico também possibilitou um maior número de contagens positivas.

Quadro 2 – Presença de bactérias diazotróficas em raízes de café convencional e orgânico, crescidas em meio de cultivo semi-sólido JNFB e LGI-P. São Sebastião do Paraíso, MG.

Bactérias Diazotróficas	ORGÂNICO			CONVENCIONAL		
	Meio LGI-P (10 <sup>3</sup> )	Meio JNFB (10 <sup>3</sup> ) *	TOTAL	Meio LGI-P (10 <sup>3</sup> )	Meio JNFB (10 <sup>3</sup> )	TOTAL
Nov/97	1439	---	<b>1439</b>	65	---	<b>65</b>
Março/98	710	695	<b>1405</b>	228	305	<b>533</b>
Junho/98	8	95	<b>103</b>	11	38	<b>49</b>
Agosto/98	0	2	<b>2</b>	0	1	<b>1</b>
Nov/98	48	24	<b>72</b>	18	7	<b>25</b>
<b>TOTAL</b>	<b>2205</b>	<b>816</b>	<b>3021</b>	<b>322</b>	<b>351</b>	<b>673</b>

\* O meio JNFB começou a ser utilizado a partir de março/98.

O resultado da análise dos componentes principais das variáveis fauna do solo (densidade de minhocas), biomassa da fauna, bactérias diazotróficas, população de fungos micorrízicos, bactérias, fungos e actinomicetos, é mostrado na Figura 4. A análise separa o espaço gráfico em termos da importância que cada organismo tem na explicação das mudanças que estão ocorrendo no sistema em conversão.

O eixo horizontal corresponde ao primeiro componente, e o eixo vertical corresponde ao segundo componente. Os dois acumulam 60 % da explicação da variação total.

O primeiro eixo (responsável pela explicação de 35% da variação total) caracteriza-se por dividir o espaço em três partes: a parte mais a esquerda, onde predominam os actinomicetos; a parte central, onde se destacam a fauna do solo, biomassa de fauna e bactérias em geral; e a parte à direita, caracterizada pelos fungos e bactérias fixadoras de nitrogênio. De maneira geral, podemos entender que este eixo caracteriza o ambiente quanto ao desenvolvimento microbiológico. Às parcelas que apresentarem combinações mais a direita do primeiro eixo terão relativamente mais fungos e bactérias fixadoras e, combinações mais a esquerda, mais actinomicetos. Se considerarmos que os actinomicetos se desenvolvem mais na ausência de outros microrganismos, ambientes mais a esquerda no espaço vetorial, apresentam menor diversidade em termos microbiológicos.

O segundo eixo (responsável pela explicação de 24% da variação total), por sua vez, divide o espaço em duas partes: a parte superior, fauna do solo e biomassa de fauna; e a parte inferior, microorganismos. Foram calculados os valores das combinações para cada uma das parcelas. Estas combinações representam o somatório dos produtos entre o valor absoluto de cada uma das variáveis, observado em cada parcela, e o peso da variável em cada componente.

A Figura 5 mostra a posição relativa das parcelas em função da época de coleta, baseada na análise dos componentes principais.

Os resultados da análise dos gráficos indica que, as parcelas do talhão convencional apresentam maior uniformidade local que as parcelas orgânicas.

Observando-se os pontos correspondentes às parcelas convencionais, nota-se que estes apresentam-se mais próximos entre si (Figura 5). Isto significa que uma menor diversidade foi observada nestas parcelas, independente do período de coleta. Nestas parcelas existe uma predominância de actinomicetos. O sistema orgânico apresentou maior diversidade que o convencional, tendo sido esta drasticamente reduzida pela baixa precipitação apresentada nos períodos de junho e agosto/98.

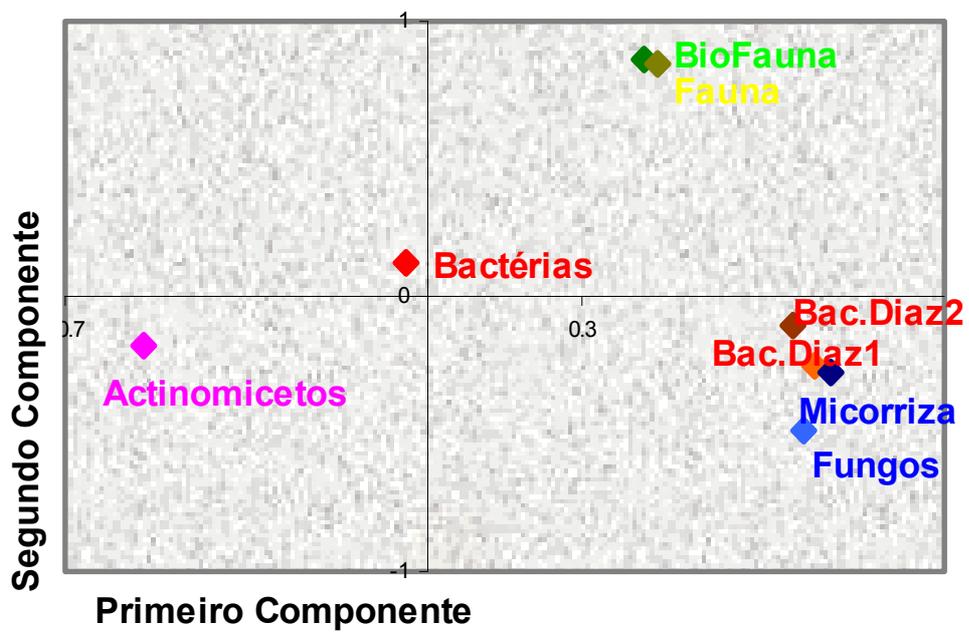


Figura 4. Representação dos dois primeiros componentes calculados a partir de dados de biologia do solo (60 % de explicação acumulada).

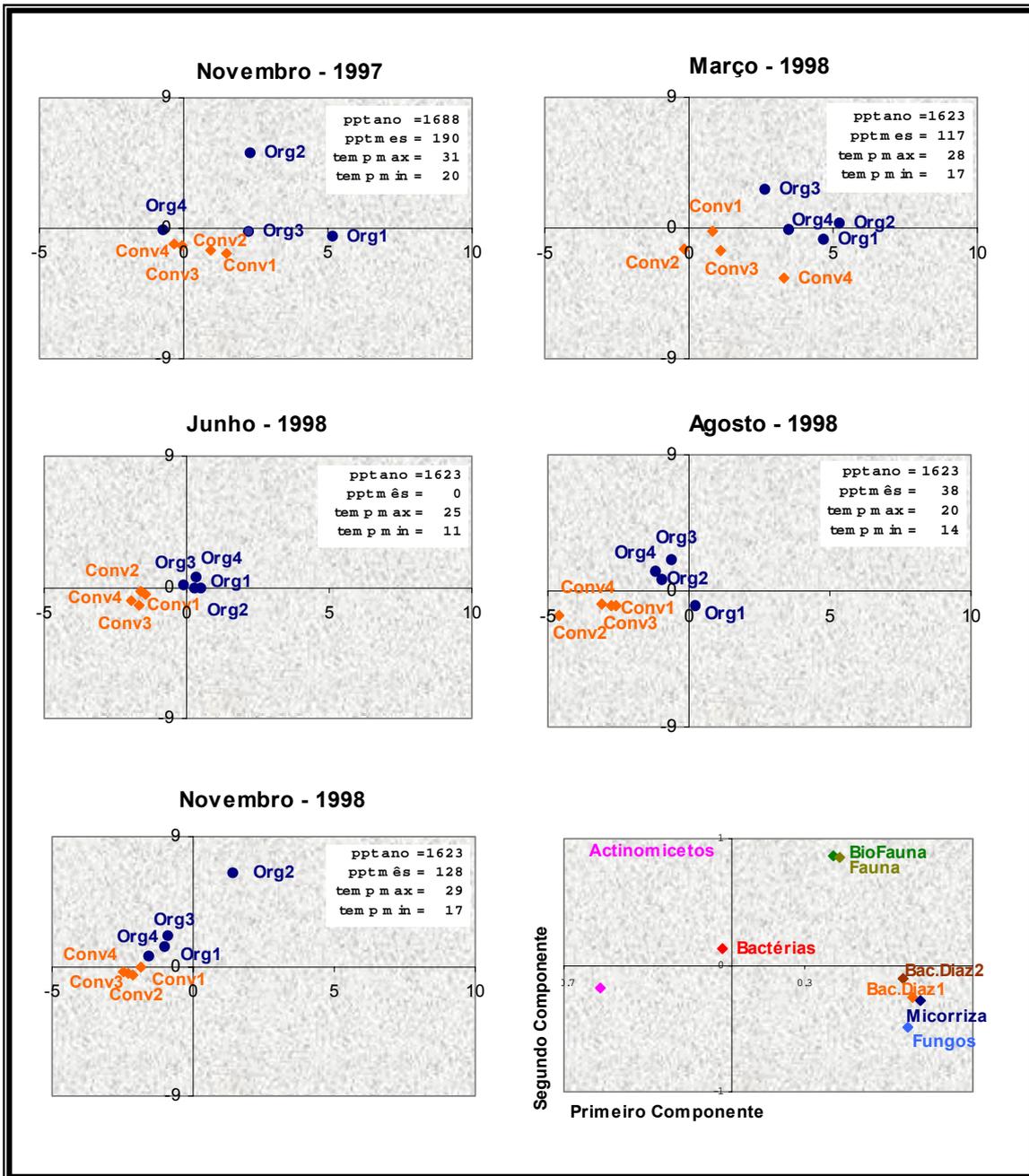


Figura 5. Posição relativa das parcelas, em função do tempo, baseada na análise de componentes principais com oito variáveis. Eixo horizontal corresponde ao primeiro componente e eixo vertical corresponde ao segundo componente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKIBA, F.; CARMO, M.G.F.do; RIBEIRO, R. de L.D. As doenças infecciosas das lavouras dentro de uma visão agroecológica. **Ação Ambiental**, v.2., n.5, p.30-33, 1999.
- ANDERSON, J.M.; INGRAM, J.S.I **Tropical Soil Biological and Fertility: A Handbook of Methods**. 2.ed. Oxon: CAB International, 1993. 221p.
- BALOTA, E.L. **Flutuação sazonal de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares no cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. Piracicaba: ESALQ, 1989. 145p. Tese de Mestrado.
- DOBEREINER, J.; BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas**. Brasília: EMBRAPA-CPI; Itaguaí, RJ: EMBRAPA-CNPAB, 1995. 60p.
- DROZDOWICZ, A.G. Microbiologia ambiental. In: ROITMAN, I.; TRAVASSOS, I.R.; AZEVEDO, J.L., ed. **Tratado de Microbiologia**. Rio de Janeiro: Manole, 1991. v.2. p.1-102.
- GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal endogene species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions British Mycology Society**, v.46, p.235-246, 1963.
- LAVELLE, P.; BIGNELL, D.; LEPAGE, M.; WOLTERS, V.; ROGER, P.; INESON, P.; HEAL, O.W.; DHILLON, S. Soil function in a changing world: the role of invertebrate ecosystem engineers. **European Journal of Soil Biology**, New Jersey, v.33, n.4, p.159-193, 1997.
- MARDIA, K.V. **Multivariate Analysis**. New York: Academic, 1979. 521p.
- MENZIES, J.D. Fungi. In: Black, C.A., ed. **Methods of soil analysis**. Madison: American Society of Agronomy, 1965. v.2. p.1502-1505.
- PEREIRA, J.C. **Ecologia da comunidade bacteriana em solos de cerrados**. Itaguaí: UFRRJ, 1995. 172p. Tese de Doutorado.
- SAGGIN JÚNIOR, O. J.; SIQUEIRA, J.O. Micorrizas arbusculares em cafeeiro. In: SIQUEIRA, J.O., ed. **Avanços em Fundamentos e Aplicação de Micorrizas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras /DCS e DCF, 1996. p.203-254.
- THORNTON, H.G. On the development of a standardized agar medium for counting soil bacteria with special regard to the repression of spreading colonies. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v.9, p.241-274, 1922.
- VIGLIO, E.C.B.L. Produtos orgânicos: uma tendência para o futuro? **AgroAnalysis**, Rio de Janeiro, v.16, n.12, p.8-11, 1996.
- WAKSMAN, S.A. **The actinomycetes; classification, identification and descriptions of genera and species**. Baltimore: The Williams & Wilkins, 1961.