

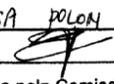
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO AGRONÔMICO



VANESSA POLON DONZELI

"Biodiversidade funcional da microbiota e promoção de crescimento de plantas de alface por *Pseudomonas* spp. fluorescentes em substrato solarizado"

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo(a) candidato (a)
VANESSA POLON DONZELI

e aprovada pela Comissão Julgadora.

Tese apresentada à banca da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do título de Doutor em Genética e Biologia Molecular/área de concentração em Microbiologia.

Orientadora: Dr^a SUELI DOS SANTOS FREITAS

Janeiro/2006

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP**

D719b	<p>Donzeli, Vanessa Polon Biodiversidade funcional da microbiota e promoção de crescimento de alface por rizobactérias em substrato solarizado / Vanessa Polon Donzeli. -- Campinas, SP: [s.n.], 2006.</p> <p>Orientadora: Sueli dos Santos Freitas. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.</p> <p>1. Solarização do solo. 2. Microorganismos do solo. 3. Pseudomonas. I. Freitas, Sueli dos Santos. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.</p> <p>(rcdt/ib)</p>
--------------	--

Título em inglês: Microbial functional biodiversity and lettuce growth promotion by rhizobacteria in solarized substrate.

Palavras-chave em inglês: Soil solarization; Soil microbiology; Pseudomonas.

Área de concentração: Microbiologia.

Titulação: Doutora em Genética e Biologia Molecular.

Banca examinadora: Sueli dos Santos Freitas, Flávia Rodrigues Alves Patrício, Adriana Parada Dias da Silveira, Marlene Aparecida Schiavinato, Ana Maria Magalhães Lagoa.

Data da defesa: 26/01/2006.

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Sueli dos Santos Freitas (Orientadora)



Profa. Dra. Flávia Rodrigues Alves Patrício



Profa. Dra. Adriana Parada Dias da Silveira



Profa. Dra. Marlene Aparecida Schiavinato



Profa. Dra. Ana Maria Magalhães Lagoa



Profa. Dra. Raquel Ghini

Prof. Dr. Wanderley Dias da Silveira

Prof. Dr. Jorge Vega

À Dra. Sueli dos Santos Freitas, por toda dedicação,

OFEREÇO.

Ao meu filho Guilherme,
DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Dra. Sueli dos Santos Freitas pela orientação competente deste trabalho e pelo incentivo e apoio à minha vida profissional e pessoal.

À Dra. Flávia R. A. Patrício pela ajuda na condução da solarização do substrato e pelos ensinamentos indispensáveis à realização deste trabalho.

Às Dras. Adriana P. D. Silveira e Raquel Ghini pelas valiosas sugestões apresentadas na pré-banca.

À Dra. Mônica Ferreira de Abreu pela análise química das amostras de substrato.

Ao Dr. Carlos Alberto Oliveira pela ajuda na elaboração da análise estatística.

Ao IAC pela acolhida e uso dos laboratórios.

À UNICAMP pela oportunidade de aperfeiçoamento acadêmico-profissional.

Aos colegas da UNIVASF pelo apoio.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudo.

Aos amigos da Microbiologia do Solo pela oportunidade de convivência amigável e respeitosa: às funcionárias Maria Tereza B. Mangussi, Rosana G. Gonçalves e Maria Leonilde M. de Souza pela competência e presteza e aos colegas Adriana Sotero, Flávia Barros, Sara A. Andrade, Valéria M. Sala, Luísa, Luiz Guilherme e Mariana pela ajuda e amizade em todos os momentos.

Com carinho especial à minha família: Helena, Pedro e Camila Donzeli, Marcelo Feitosa e Sérgio Queiroz, por todo apoio e participação para que este trabalho pudesse ser realizado.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a execução deste trabalho, obrigada.

SUMÁRIO

RESUMO	viii
SUMMARY	x
I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISÃO DE LITERATURA	3
A. <i>Solarização</i>	4
B. <i>Aspectos Práticos da Solarização</i>	6
C. <i>Transformações Microbianas</i>	8
D. <i>Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCPs)</i>	13
III. MATERIAL E MÉTODOS	19
A. <i>Biodiversidade Funcional da Microbiota em Substrato Solarizado</i>	19
a. <i>Carbono da Biomassa Microbiana (CBM)</i>	20
b. <i>Nitrogênio da Biomassa Microbiana (NBM)</i>	21
c. <i>Relação entre Carbono e Nitrogênio da Biomassa Microbiana (C/N)</i>	21
d. <i>Liberação de CO₂ pela Respiração dos Microrganismos do Solo</i>	22
e. <i>Quociente Metabólico</i>	22
f. <i>Quantificação de Microrganismos</i>	22
g. <i>Quantificação de bactérias em meio B</i>	24
h. <i>Crescimento de plantas de alface</i>	25
i. <i>Emergência de Plantas Invasoras</i>	25
B. <i>Escolha dos Isolados de RPCPs</i>	26
C. <i>Teste da Eficiência de Rizobactérias na Promoção do Crescimento de Mudanças de Alface em Substrato Solarizado</i>	28
D. <i>Análise Estatística</i>	31
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
A. <i>Biodiversidade Funcional da Microbiota em Substrato Solarizado</i>	32

<i>a. Carbono da Biomassa Microbiana</i>	32
<i>b. Nitrogênio da Biomassa Microbiana</i>	35
<i>d. Liberação de CO₂ pela Respiração dos Microrganismos do Solo</i>	41
<i>e. Quociente Metabólico</i>	45
<i>f. Quantificação de Microrganismos</i>	47
<i>g. Quantificação de Bactérias em Meio B</i>	60
<i>h. Crescimento de Plantas de Alface</i>	67
<i>i. Emergência de Plantas Invasoras</i>	73
 <i>B. Escolha de Isolados de RPCPs</i>	 75
 <i>C. Teste da Eficiência de Rizobactérias na Promoção do Crescimento de Mudanças de Alface em Solo Solarizado.</i>	 78
 V. DISCUSSÃO GERAL	 91
 VI. CONCLUSÕES	 93
 VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	 94

BIODIVERSIDADE FUNCIONAL DA MICROBIOTA E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE ALFACE POR RIZOBACTÉRIAS EM SUBSTRATO SOLARIZADO.

Aluna: Vanessa Polon Donzeli
Orientadora: Sueli dos Santos Freitas

RESUMO

A solarização do solo vem se destacando como um método promissor para o controle de fitopatógenos; no entanto, as mudanças nas populações e atividades microbianas após o processo de solarização são ainda pouco estudadas. O presente trabalho teve como objetivos: estudar parte da comunidade e atividades microbianas em solo solarizado em comparação a solo não solarizado; selecionar isolados de rizobactérias promotoras de crescimento em alface em substrato comercial, visando à produção de mudas, e verificar os possíveis benefícios da solarização do solo à promoção de crescimento de plantas de alface por esses isolados microbianos.

Para a avaliação do efeito da solarização sobre a microbiota do solo, os tratamentos foram: solarização em coletor solar (substrato solarizado e não solarizado) e amostragens no tempo (0, 30, 60, 90 e 120 dias após a solarização). As parcelas foram vasos com 2L de substrato (mistura de solo e substrato orgânico cama-de-frango), mantidos com plantas da variedade de alface crespa Verônica. Os parâmetros avaliados foram: carbono, nitrogênio e relação entre C e N da biomassa microbiana; liberação de CO₂; quociente metabólico; microrganismos amonificadores, nitrificadores, celulolíticos, amilolíticos e proteolíticos; *Pseudomonas* spp. fluorescentes e bactérias não fluorescentes no substrato e na rizosfera de plantas de alface; número de folhas, matéria seca da parte aérea e raízes de alface e emergência de plantas invasoras.

Para avaliar a promoção de crescimento de mudas de alface utilizaram-se um substrato comercial para hortaliças, com metade da adubação recomendada, solarizado e não solarizado e 50 isolados de *Pseudomonas* spp. da coleção do IAC. Os isolados foram escolhidos de acordo com um pré-teste e resultados de Freitas et al.(2003) e Sotero (2003) . O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 10 repetições, totalizando 1000 vasos. Vinte e cinco dias após a semeadura, as mudas de alface foram coletadas e

realizou-se a contagem do número de folhas e avaliação da massa de matéria seca da parte aérea.

A solarização do substrato causou uma redução da microbiota logo após ser realizada, refletida pela diminuição do carbono e nitrogênio da biomassa microbiana, microrganismos amonificadores, nitrificadores, celulolíticos, amilolíticos e bactérias não fluorescentes. O aumento da relação C/N da biomassa microbiana na primeira amostragem e a redução da liberação de CO₂ pela respiração de microrganismos do solo e aumento do quociente metabólico aos 30 dias após a solarização também foram indicativos da alteração na microbiota. No entanto, com o tempo, a microbiota do substrato solarizado se restabeleceu, sendo que aos 30 dias após a solarização alguns grupos de microrganismos, como os amonificadores e amilolíticos, já haviam tido seu número igualado aos do substrato não solarizado e outros grupos como os nitrificadores e celulolíticos apresentaram-se em maior número no substrato solarizado nessa amostragem. Nem todos os grupos de microrganismos foram imediatamente afetados pela solarização, como os microrganismos proteolíticos, que tiveram o seu número diminuído apenas na amostragem feita aos 60 dias, mas também se restabeleceram nas amostragens seguintes. As *Pseudomonas* spp. do grupo fluorescente foram positivamente influenciadas pela solarização, tendo seu número aumentado aos 60 dias no substrato e 120 dias na rizosfera. Assim, aos 90 dias, a maioria dos grupos microbianos funcionais já havia voltado ao equilíbrio, com exceção apenas dos nitrificadores e *Pseudomonas* spp. fluorescentes que se apresentaram em número maior no substrato solarizado na amostragem seguinte. As plantas de alface cultivadas em substrato solarizado tiveram maior crescimento na primeira amostragem após a solarização e nesse tratamento houve uma redução média de 92,3% na emergência de plantas invasoras.

A solarização do substrato favoreceu o efeito benéfico de 17 isolados de *Pseudomonas* spp. fluorescentes na promoção de crescimento de mudas de alface e favoreceu também o efeito deletério de dois isolados. Dezoito isolados foram capazes de promover o crescimento de mudas de alface, independente da solarização, e a solarização também foi responsável pelo maior crescimento das plantas, independente da inoculação de rizobactérias.

MICROBIAL FUNCIONAL BIODIVERSITY AND LETTUCE GROWTH PROMOTION BY RHIZOBACTERIA IN SOLARIZED SUBSTRATE.

Author: Vanessa Polon Donzeli
Adviser: Dr. Sueli dos Santos Freitas

SUMMARY

Soil solarization has been reported as an efficient soil disinfestations method for controlling soil borne pathogens; however few studies about changes in microbial activity and populations after soil solarization have been published. The present work was carried out to study the microbial activity and part of the microbial community in solarized soil; selected plant growth promoting rhizobacteria strains in commercial substrate to seedling yield and verify the possible contribution of soil solarization to promotion of lettuce seedling growth by these microbial strains.

To evaluate the effect of solarization on the soil microorganisms, the treatments were: solarization in solar collector (solarized and non solarized substrate) and time sampling (0, 30, 60, 90 and 120 days after solarization). The plots bowls (2L) were maintained with lettuce plants of cultivar Verônica. The following parameters were evaluated: carbon, nitrogen and C/N in the microbial biomass; basal respiration; metabolic quotient; number of ammonifying, nitrifying, cellulolytic, amylolytic, proteolytic microorganisms and fluorescent and non fluorescent bacteria grown in B King media, in bulk substrate and lettuce rhizosphere; number of leafs, shoot and root dry matter and weed emergence.

To evaluate promotion of seedling lettuce growth a substrate for production of vegetable seedlings was used, with half-full fertilizer, solarized and non solarized, and fifty pseudomonads strains of the IAC collection. The experiment had a completely randomized design in 1000 plots. Twenty five days after sowing the number of leafs and the shoot dry matter lettuce were evaluated.

The substrate solarization immediately reduced the microbial groups as showed by carbon and nitrogen in microbial biomass, ammonifying, nitrifying, cellulolytic, amylolytic microorganisms and fluorescent bacteria decrease. The increase of the C/N in microbial biomass ratio in the first sampling and decrease of the CO₂ evolved rate and higher metabolic quotient rate at 30 days after substrate solarization indicated changes in microbial community. However, after some time, the functional microbial groups were reestablished. Thirty days after solarization the number of some groups of microorganisms – as ammonifying and amylolytic microorganisms – were similar in solarized and non solarized substrate, and others – as nitrifying and cellulolytic microorganisms – had higher numbers in solarized substrate in this sampling. Proteolytic microorganisms were not affected immediately by solarization and decreased only in the samplings 60 days after solarization. In the samplings 90 and 120 days after solarization the number of proteolytic were similar in the treatments. Fluorescent pseudomonads were positively affected by solarization: the number of these bacteria was higher in the bulk solarized substrate in third sampling and in the rhizosphere in fifth sampling. Thus, at 90 days, most of functional microbial groups were reestablished, except nitrifying and fluorescent pseudomonads, that were in higher number in solarized substrate. The solarization contributed to increase the growth of lettuce plants in first sampling and provided effective weed control that were reduced 92,3% over the untreated control.

Solarization propitiated the beneficial effect of 17 fluorescent *Pseudomonas* spp. strains, that promoted seedling lettuce growth, and deleterious effect of 2 strains on lettuce seedlings. Eighteen *Pseudomonas* spp. strains promoted plant growth, independent of solarization, and solarization promoted plant growth, independent of bacteria inoculation.

I. INTRODUÇÃO

O controle de patógenos faz-se necessário para a condução de culturas agrícolas; no entanto, os métodos convencionais têm se mostrado agressivos ao meio ambiente. Há um aumento da demanda por alimentos de qualidade, mas, ao mesmo tempo, surge a preocupação com o manejo do meio ambiente e a preservação da biodiversidade. A agricultura sustentável impõe o uso de métodos de desinfestação compatíveis, dentre os quais a solarização do solo vem se destacando, nos últimos anos, como um método muito promissor. O uso de produtos químicos para a fumigação do solo, principalmente o brometo de metila, vem sendo restringido em vários países, por se apresentarem extremamente tóxicos, serem grandes poluidores ambientais e destruidores da camada de ozônio (Gamliel et al., 2000). Alguns estados brasileiros também já proibiram o uso do brometo de metila (Rio de Janeiro - lei n°3424 e Goiás - lei n ° 6938) e no Estado de São Paulo há um projeto de lei, com esse mesmo fim, aguardando votação no plenário da Assembléia Legislativa.

A solarização do solo foi inicialmente estudada por Katan, em Israel, no ano de 1976, e a partir daí começou a despertar interesse de pesquisadores de outros países, principalmente na última década.

Além de ser um método ambientalmente não agressivo de desinfestação do solo, a solarização, sob condições climáticas adequadas, tem se mostrado muito eficiente na redução de um grande espectro de patógenos, de diversas culturas, em diferentes sistemas de agricultura, tanto em campo, com o uso da cobertura plástica, quanto em ambiente protegido, para a produção de mudas, com o uso do coletor solar. O Brasil possui condições climáticas muito favoráveis ao uso da solarização, devendo explorar esse potencial.

O modo de ação da solarização é complexo, envolvendo uma série de processos que ocorrem no solo durante e após o tratamento (Stapleton, 2000). Sabe-se que ocorrem várias mudanças nas propriedades físicas e químicas do solo, bem como nas populações e atividades microbianas, mas essas mudanças ainda são pouco estudadas. As populações microbianas exercem um papel fundamental na manutenção da fertilidade do solo, armazenando temporariamente nutrientes em sua biomassa e participando do processo de ciclagem dos nutrientes da matéria orgânica, sendo esse um importante fator de produtividade (Grisi, 1984; Cerri et al., 1992). Esses microrganismos são sensíveis ao estresse resultante dos distúrbios no ecossistema; assim, o estudo dessas transformações que ocorrem no solo pela solarização torna-se essencial.

Estudos demonstram que microrganismos saprófitas do solo, dentre eles muitos antagonistas, geralmente são mais tolerantes ao calor do que os fitopatógenos, obtendo maior sucesso na sobrevivência à solarização (Sinigaglia et al., 2001). Assim, a mudança na microbiota do solo em favor desses microrganismos aumentaria a eficiência do controle de fitopatógenos.

Bactérias do grupo fluorescente do gênero *Pseudomonas* são rizobactérias reconhecidamente promotoras de crescimento de muitas espécies vegetais e têm potencial para que sua introdução na produção de alimentos venha a viabilizar a agricultura sustentável, economizando insumos agrícolas e mantendo o ambiente preservado. Pouco se sabe sobre o efeito da solarização do solo sobre essas bactérias, mas alguns estudos mostram que elas são favorecidas com este tratamento (Gamliel & Stapleton 1993b). Com a solarização, o número de microrganismos no solo é muito reduzido e há maior disponibilidade de nutrientes (Stapleton, 2000), favorecendo os microrganismos rizosféricos benéficos e livrando o ambiente de competição o que poderia tornar propícia a introdução de isolados de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs), facilitando seu crescimento e colonização das raízes das plantas.

Portanto, o presente trabalho teve como objetivos estudar a influência da solarização sobre parte da comunidade e atividades microbianas no solo; selecionar isolados de rizobactérias promotoras de crescimento em alface em substrato comercial, visando à produção de mudas, e verificar os possíveis benefícios da solarização do solo à promoção de crescimento de plantas de alface por esses isolados microbianos.

II. REVISÃO DE LITERATURA

A desinfestação do solo é um tratamento pré-plantio realizado para controlar fitopatógenos ali existentes que geralmente resulta na redução da população desses organismos e favorece o crescimento das plantas (Gamliel & Katan, 1991).

Desde 1950, produtos químicos vêm sendo empregados com esse propósito (Blok et al., 2000), sendo que a partir da década de 70 começou-se preferencialmente a utilizar o brometo de metila por ser um método de controle patógenos consistente e efetivo sob diversas condições de umidade e temperatura do solo, apresentando um custo relativamente baixo (Chellemi et al., 1997). No entanto, o uso desses produtos químicos para a fumigação do solo, principalmente o brometo de metila, apresenta muitos aspectos negativos, como, por exemplo, sua elevada toxicidade. Além disso, são grandes poluentes ambientais e causadores da destruição da camada de ozônio (Gamliel et al., 2000; Chellemi, 2000). Assim, nos últimos anos, tem sido reconhecido que o uso desses produtos é incompatível com a agricultura sustentável e vem sendo fortemente restringido em vários países. Em 1987, um protocolo criado em uma reunião em Montreal, que propôs a interrupção na produção de substâncias que reduzem a camada de ozônio, foi assinado por mais de 150 países. Posteriormente, outras reuniões foram realizadas (Londres em 1990; Copenhague em 1992) e, em 1995, foi proposta a interrupção da produção do brometo de metila até o ano de 2010 (Cruz, 2003). No Brasil, alguns estados já proibiram o uso do brometo de metila (Rio de Janeiro - lei nº3424 e Goiás - lei nº 6938) e, se aprovado o projeto que aguarda votação na Assembléia Legislativa do Estado de São Paulo, mais um importante estado no cenário agrícola do País acabará com o uso desse produto tóxico. Como consequência, o interesse por métodos alternativos de desinfestação do solo vem aumentando (Blok et al., 2000; Spadaro & Gullino, 2005).

Métodos físicos e de manejo do solo têm sido estudados como alternativa para a redução de patógenos no solo, pois são métodos naturais e não são contaminantes ou poluentes ambientais (Katan, 2000).

A. Solarização

A solarização é um método físico que, sob condições climáticas adequadas, pode ser efetivo no controle de grande espectro de fungos, nematóides, ervas daninhas e outros patógenos de plantas em diversos sistemas de agricultura, incluindo produção em casa de vegetação (Gamliel & Stapleton, 1993b). Esse método foi estudado inicialmente em Israel em 1976 (Katan et al., 1976) e a partir disso começou a despertar interesse de pesquisadores de outros países, principalmente na última década, sendo aplicado em cerca de trinta e oito países, tendo utilização em escala comercial em diversas culturas nos EUA, Israel, Itália e Japão (Pinto & Moraes, 2003).

A solarização pode ser realizada em campo, geralmente para a produção de culturas anuais de ciclo curto, ou em coletores solares para a desinfestação de substratos. A solarização em campo consiste na cobertura, com um plástico transparente, do solo úmido em pré-plantio durante o período de maior radiação solar (Katan et al., 1976). O plástico transparente permite a passagem da energia solar para o solo, onde é convertido em energia infravermelha. Essa energia de comprimento de onda longa é capturada abaixo do plástico, criando um efeito de estufa (Stapleton, 2000) que promove o aquecimento do solo, principalmente nas camadas superficiais, inibindo ou eliminando organismos (Sinigaglia et al., 2001). Nessas condições a temperatura do solo pode atingir níveis letais para muitos fitopatógenos (Gamliel et al., 2000).

Além da intensidade de radiação solar, da temperatura do ar e da cor do plástico a ser utilizado na solarização, outros fatores influenciam o aquecimento do solo durante o processo (Stapleton, 2000). Esses fatores incluem teor de água no solo e na interface solo/plástico, propriedades do solo, como cor, cultivo e condições de aeração (Al-Karaghoulis & Al-Katyssi, 2001; Streck et al., 1996; Tjamos et al., 2000). O tempo de solarização eficiente para eliminar fitopatógenos varia de acordo com essas condições: 65° C por 30 minutos pode ser o suficiente para inativar a maioria dos fitopatógenos, mas não

se sabe exatamente quanto tempo de exposição é necessário para sua morte sob temperaturas variáveis inferiores a 40°C (Cruz, 2003). As propriedades do plástico usado na solarização também são importantes para a eficiência do método. Barros et al. (2004) verificaram que o plástico com aditivo estabilizador de luz ultravioleta é mais resistente que o plástico comum e não altera os resultados da solarização.

Milan (2002), em estudo de análise econômica e financeira da solarização na cultura de alface, verificou que, sob as condições pressupostas no estudo, a produção de alface no sistema solarizado é economicamente mais lucrativa do que a produção convencional. Além disso, é um método simples de ensinar, aplicável em pequenas ou grandes áreas e mecanizável, reunindo as características do controle integrado (Café Filho & Lobo Jr, 2000).

Outro aspecto a considerar é a desinfestação de substratos para a produção de mudas, que é um sério problema para muitos agricultores, pois as mudas infectadas e os substratos contaminados disseminam os patógenos para novas áreas, além de provocar o surgimento de doenças desde o início do ciclo da cultura, podendo significar sérios prejuízos (Ghini, 1997).

O coletor solar é um equipamento desenvolvido para desinfestar substratos utilizados em recipientes em viveiros de plantas, da mesma maneira que na solarização do solo em campo, utilizando a energia solar (Ghini & Bettiol, 1991). Esse equipamento consiste em uma caixa de madeira com tubos de ferro galvanizado e uma cobertura de plástico transparente, que permite a entrada dos raios solares. O solo é colocado nos tubos pela abertura superior e, após o tratamento, retirado pela inferior. Os coletores devem ser instalados com exposição na face norte e um ângulo de inclinação semelhante à latitude local acrescida de 10°. A tampa refletora, constituída por uma chapa de alumínio, tem a finalidade de aumentar a radiação recebida pelos tubos, embora sua contribuição na elevação da temperatura seja pequena (Ghini, 1997).

Além de apresentar um custo mais baixo em relação a outros sistemas tradicionais de desinfestação do solo, o coletor solar é de fácil manutenção, não consome energia elétrica ou lenha e não apresenta riscos para o operador. Além disso, o tratamento é realizado em dois dias, eliminando os patógenos e permitindo a sobrevivência de microrganismos termotolerantes benéficos (Ghini, 1993; 1997).

May-de-Mio et al. (2002) verificaram que a solarização do substrato para a produção de mudas em coletor solar foi eficiente na eliminação de *P. parasitica*, propiciando melhor desenvolvimento das mudas de limão-cravo.

B. Aspectos Práticos da Solarização

A solarização tem revelado resultados promissores no combate de microrganismos patogênicos e nematóides (Pinto & Moraes, 2003). Estudos de eliminação de patógenos pela solarização estão sendo realizados em diferentes regiões, para várias culturas como: alface (Sinigaglia et al., 2001; Patrício et al., 2005), oliveira (Lopes-Escudero & Blanco-Lopez, 2001; Nico et al., 2003), cebola (McLean et al., 2001), berinjela (Azevedo & Aguilera, 2005), feijão (Ferraz, 2001), citros (May-DeMio et al., 2002), manjeriço (Gullino et al., 1998), pepino (Bourbous et al., 1997; Ghini et al., 2002; Schoenmaker, 2001; Lopes et al., 2000), tomate (Chellemi et al., 1997; Stevens et al., 2003; Ioannou, 2000), pimenta (Kokalis-Burelli et al., 2002), batata (Scöfneld et al., 2003), morango (Pinkerton et al., 2002), entre outros (Tjamos et al., 2000; Otieno et al., 2003; Desaegeer & Rao, 2001). Propágulos de *Fusarium solani*, *Phytophthora drechsleri* e *Pythium aphanidermatum*, causadores de doenças em melancia, foram reduzidos ou completamente eliminados na camada de 0-25 cm de profundidade em solos solarizados por 30 e 60 dias em um experimento realizado por Mansooni & Jaliani (1996). Dwivedi (1998) verificou que a solarização destruiu os inóculos introduzidos de *Colletotrichum falcatum* e *Fusarium moniliforme*, patógenos de cana de açúcar, na camada de 0-16 cm de profundidade do solo.

A solarização também tem mostrado um grande potencial de aplicação no manejo integrado de doenças, que consiste no uso de vários métodos para diminuir os danos causados por patógenos, de maneira econômica, oferecendo muitas vantagens em relação ao uso de apenas um método (Chellemi et al., 1997). No manejo integrado de doenças duas combinações são as mais estudadas com o uso da solarização: solarização associada a produtos químicos e solarização associada à adição de matéria orgânica ao solo.

Sinigaglia et al. (2001) avaliaram a solarização, o controle químico e a associação de ambos no controle da murcha de esclerotínia, causada por *Sclerotinia minor*, queima da saia, causada por *Rhizoctonia solani*, e de plantas daninhas em plantio de alface. Os

autores verificaram que apenas os tratamentos solarizados reduziram significativamente a severidade da queima-da-saia, sendo mais eficiente a associação da solarização com pencycuron e solarização com procimidone na redução da incidência de *S. minor*. Chellemi et al. (1997) também obtiveram bons resultados com o uso da solarização em combinação com químicos no controle de patógenos de tomate. A incidência da doença e da densidade de *Paratrichodorus minor* e *Criconemella* spp. foi menor em solos solarizados e a severidade da doença nas raízes foi menor quando a solarização foi usada juntamente a 1,3-dichloropropeno, chloropicrina e plástico impermeável. A combinação de brometo de metila e solarização foi mais efetiva no controle de *S. rolfisii* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *basilici*, especialmente quando a solarização foi aplicada após a fumigação do que na seqüência inversa (Eshel et al., 2000).

A adição de fertilizantes orgânicos pode suprimir patógenos em vários sistemas de agricultura, sendo tal supressão atribuída a mudanças nas populações e atividades microbianas (Gamliel & Stapleton, 1993b; Akhtar & Malik, 2000). Em um estudo com alface, Gamliel & Stapleton (1993b) testaram o uso de esterco de galinha, fosfato de amônio e solarização, sozinhos ou combinados, na supressão de patógenos. *Pythium ultimum* foi significativamente reduzido pela solarização ou por sua combinação com o uso de esterco de galinha. O aumento do crescimento de alface foi observado na maioria dos tratamentos onde o solo foi solarizado; no entanto, houve redução do crescimento das plantas quando o esterco foi adicionado após a solarização.

Blok et al. (2000) verificaram que a solarização do solo complementado com compostos orgânicos de resíduos vegetais resultou numa rápida depleção de oxigênio, criando um ambiente anaeróbio. Depois de 15 dias, a sobrevivência de *F. oxysporum* f. sp. *asparagi*, *R. solani* e *Verticillium dahliae*, na camada de 15 cm de profundidade, foi fortemente reduzida. Em um estudo utilizando-se a combinação dos tratamentos: cianamida de cálcio, solarização e palha de trigo picada, Bourbous et al. (1997) verificaram uma redução de 99% na população de patógenos.

Segundo Pinto & Morais (2003) a ação combinada da solarização e controle biológico, como, por exemplo, pela inoculação de microrganismos antagonistas, também pode ser eficiente no controle de patógenos.

Apesar de a execução da solarização ser simples, seu modo de ação é complexo, envolvendo uma combinação de uma série de processos que ocorrem no solo durante e após o tratamento (Stapleton, 2000). Ocorrem várias mudanças nas populações e atividades microbianas e nas propriedades físicas e químicas do solo. Pinto (1992) relatou que a solarização provoca reduções significativas nos teores de Ca^{2+} de troca e Na^+ e que os valores de condutividade elétrica aumentaram nessas parcelas. Ghini et al. (2003) encontraram aumentos significativos nos teores de N-NH_4^+ , N-NO_3^- e Mg^{2+} e redução nos teores de Cu, Fe, H+Al e Zn no solo pelo uso da solarização. Aumentos nos teores de N-NH_4^+ e outros nutrientes também foram relatados por outros autores (Patrício et al., 2005; Sinigaglia et al., 2001; Barros et al., 2004). A liberação de micro e macronutrientes na solução do solo pela solarização tem sido uma das hipóteses propostas para explicar o fenômeno da estimulação do crescimento vegetal (Pinto & Moraes, 2003). Outras hipóteses são propostas, como: liberação de substâncias reguladoras do crescimento de plantas, destruição de materiais fitotóxicos, destruição de agentes patógenos secundários e alterações no equilíbrio biológico do solo (Chen et al., 1981).

C. Transformações Microbianas

Conforme citado anteriormente, a solarização promove mudanças nas populações e atividades microbianas e nas propriedades físicas e químicas do solo. O acúmulo de compostos voláteis, produzidos pela decomposição da matéria orgânica durante a solarização, pode ser tóxico aos microrganismos (Gamliel et al., 2000). Além da redução de patógenos, os processos microbianos induzidos pela solarização contribuem para o controle de doenças, já que o aquecimento atua também sobre os organismos não visados. Porém, essa influência da solarização sobre esses organismos ainda não foi elucidada.

As populações de microrganismos atuam na manutenção da fertilidade do solo, armazenando temporariamente em sua biomassa nutrientes como nitrogênio, fósforo e enxofre, assim como participando do processo de ciclagem dos nutrientes na matéria orgânica, importante fator de produtividade (Grisi, 1984; Cerri et al., 1992; Horwath & Paul, 1994; Wardle, 1994). A biomassa microbiana, que representa a parte viva da matéria orgânica do solo (Moreira & Malavolta, 2004), contém, em média, de 2 a 5% do carbono, de 1 a 5% do nitrogênio e de 2 a 20% do fósforo orgânico nos solos tropicais (D'Andrea et

al., 2002). Esses nutrientes são reciclados rapidamente, com tempo de residência em torno de três meses (D'Andrea et al., 2002).

Os resíduos orgânicos incorporados ao solo sofrem o ataque de microrganismos quimiorganotróficos para dar atendimento às suas necessidades metabólicas na formação de seus constituintes protoplasmáticos. Durante esse processo normalmente ocorrem: liberação de CO₂ para a atmosfera e oscilação no balanço de nitrogênio do solo, dentre outras reações. A maior liberação de CO₂ é devida à maior atividade biológica, que por sua vez, está relacionada com o carbono do solo ou da biomassa microbiana (Balota et al., 1998). Assim, os processos mediados por microrganismos influenciam funções do ecossistema associadas a ciclagem de nutrientes, fertilidade do solo e manutenção da matéria orgânica (Horwath & Paul, 1994), sendo que a biomassa microbiana controla os fluxos de carbono, nitrogênio e fósforo no ecossistema terrestre (Agbenin & Adeniyi, 2005).

Entre as várias fontes de energia presentes no solo, a celulose é muito importante devido a sua abundância, ubiquidade e caráter renovável (Oliveira et al., 2002). A matéria seca das plantas tem de 30 a 60% de celulose e sua decomposição é importante para o ciclo biogeoquímico do carbono (Chew et al., 2000). Existe uma grande variedade de microrganismos celulolíticos (fungos, actinomicetos e bactérias) na natureza (Oliveira et al., 2002), que produzem celulasas para a degradação do polímero. A celulose não é encontrada na sua forma pura no solo, ou seja, está sempre associada com hemicelulose, lignina e polissacarídeos, como pectina e amido (Ilmén et al., 1997), o que indica a importância de outros grupos de microrganismos na ciclagem da matéria orgânica, como os microrganismos amilolíticos, proteolíticos e transformadores de N, por exemplo. As proteases são enzimas limitantes da taxa de mineralização do nitrogênio que ocorre no solo (Watanabe & Hayano, 1995). Na maioria dos solos, mais que 90% do nitrogênio ocorrem na forma orgânica (Miller e Bowman, 2003), sendo que as principais formas de nitrogênio disponíveis no solo são amônio e nitrato e representam menos que 2% do nitrogênio total do solo (Coelho e França, 1995).

A imobilização do nitrogênio por microrganismos ocorre principalmente com o NH₄⁺; no entanto, se essa forma não está disponível, a forma NO₃⁻ é assimilada na presença de carbono disponível. Não se sabe muito sobre a competição entre raízes de plantas,

processos de perdas e imobilização pelos produtos da mineralização, mas o processo de mineralização é fundamental, refletindo as propriedades do substrato e sua interação com o ambiente (Jarvis et al., 1996). A mineralização dos nutrientes é dependente de vários fatores como: umidade, temperatura (Puri & Ashman, 1998), topografia, histórico de manejo (Ross et al., 2004) e relação C:N da matéria orgânica do solo, sendo que maiores índices de C:N estimulam a imobilização do N (Hadas et al., 2004).

A mineralização do nitrogênio no solo, processo essencialmente microbiano, é responsável pela disponibilização do nitrogênio na forma assimilável para as plantas (Owen et al., 2003). A amonificação pode ser definida como a liberação da amônia (NH_3) de compostos orgânicos nitrogenados ($\text{R-N}_2 \rightarrow \text{NH}_4^+$), que são usados por um grupo diversificado de microrganismos quimiorganotróficos como fonte de carbono e nitrogênio, sendo uma etapa importante no ciclo do nitrogênio no solo, porque torna esse elemento disponível às plantas (De Bôer & Kowalchuk, 2001). Os invertebrados existentes no solo também são de grande contribuição para a ocorrência da mineralização, pois são responsáveis pela redistribuição de matéria orgânica no solo e aumento da taxa de ciclagem, mudando quimicamente o meio durante seu metabolismo e tendo efeito direto sobre as populações de microrganismos, criando e removendo condições apropriadas para a sua atividade (Andrade et al., 1994).

A nitrificação, um processo quimiolitotrófico, é uma etapa importante que sucede a amonificação do nitrogênio. É intermediada por dois grupos de bactérias Gram negativas aeróbias da família Nitrobacteriaceae, que oxidam o NH_4^+ a NO_3^- , embora grupos de microrganismos quimiorganotróficos também tenham sido relatados, principalmente em solos ácidos. Como oxidantes do amônio do solo ($2\text{NH}_4^+ + 3\text{O}_2 \rightarrow 2\text{NO}_2^- + 4\text{H}^+ + 2\text{H}_2\text{O}$), os gêneros de bactérias quimiolitotróficas identificadas são: *Nitrosomonas*, *Nitrococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus* e *Nitrosobrio*, enquanto que para a oxidação do nitrito a nitrato ($2\text{NO}_2^- + \text{O}_2 \rightarrow 2\text{NO}_3^-$) apenas o gênero *Nitrobacter* é conhecido (Andrade et al., 1994).

A transformação de NH_4^+ (relativamente imóvel) a formas mais móveis como NO_3^- e NO_2^- propicia um passo fundamental no ciclo do N, conduzindo freqüentemente a um excesso de NO_3^- e subsequente perda de N por lixiviação ou denitrificação. A nitrificação depende de vários fatores, como a aeração do solo, o valor de pH, o tipo de substrato e principalmente as populações apropriadas de microrganismos (Jarvis et al., 1996).

A qualidade do solo é um conceito amplo que se refere ao equilíbrio entre os condicionantes químicos, físicos e biológicos no solo (Zilli et al., 2003). Doran & Safly (1997), citados por Schloter et al. (2003), definem qualidade do solo como a capacidade contínua da função do solo como sistema vital, dentro das fronteiras do ecossistema, com produtividade biológica sustentável, promovendo a qualidade do ar e da água e mantendo a saúde de plantas, animais e seres humanos. O impacto ambiental causado pela intensificação da exploração agrícola e o surgimento de novas técnicas de manejo para aumentar a sustentabilidade do sistema agrícola geraram a necessidade de identificação de parâmetros eficientes para a avaliação de mudanças na qualidade do solo, sendo eles indicativos de seu estado de conservação e/ou degradação (Fernandes et al., 2005; Zilli et al., 2003). Os indicadores ideais para determinar a qualidade do solo têm que ser simples e funcionais para todos os ambientes e revelar com segurança os problemas neles existentes (Schloter et al., 2003).

Medidas de biomassa microbiana e contagem direta de microrganismos são parâmetros que podem ser utilizados como indicadores de mudanças na qualidade do solo (Wright et al., 2005; Perez et al., 2004). A estimativa da biomassa microbiana indica se há modificações na comunidade microbiana de uma maneira geral e a quantificação de grupos específicos sugere como os processos estão ocorrendo, por exemplo: o número de microrganismos amonificadores indica a taxa de degradação de compostos nitrogenados orgânicos; a hidrólise de celulose realizada por microrganismos celulolíticos dá indicação do processo de mineralização de substratos orgânicos e do ciclo do carbono no solo etc. (Melloni et al., 2001). As bactérias de cada grupo funcional cultivadas em meios de cultura seletivos são quantificadas pelo método do número mais provável (Halverson & Ziegler, 1932), método econômico e confiável (Mezzalama et al., 1997) que pode ser usado para o estudo de perturbações na microbiota do solo. Alguns parâmetros fornecem indicações diretas sobre os níveis de atividade das várias populações microbianas do solo (Matsuoka et al., 2003), como a taxa de respiração pela liberação de CO_2 e o quociente metabólico, razão entre o carbono liberado pela respiração e o carbono da biomassa microbiana, que são indicadores sensíveis capazes de complementar o monitoramento de alterações ambientais decorrentes do uso agrícola (Nuernberg et al., 1984; Zilli et al., 2003; Fernandes et al., 2005).

Pouco se sabe sobre as transformações microbianas que ocorrem durante e após a solarização, sendo que esse assunto é ainda pouco explorado pelos pesquisadores nessa área. Alguns trabalhos realizados no Brasil relatam o uso dessas análises em experimento de solarização do solo em campo. Sinigaglia et al. (2001) avaliaram a atividade microbiana pela liberação de CO₂ e a quantidade de carbono da biomassa microbiana, aos 15 dias após a retirada do plástico do solo solarizado em comparação ao solo não solarizado. As análises microbiológicas não mostraram variação na quantidade de carbono da biomassa e número de bactérias no solo após a solarização. A liberação de CO₂ e o quociente metabólico, entretanto, foram menores no solo não solarizado, indicando alteração na comunidade microbiana do solo. Freitas et al. (2002) realizaram essas mesmas análises em duas amostragens de solo, sendo a primeira 40 dias após a retirada do plástico de solarização e a outra, após 3 meses. Os resultados das duas amostragens mostraram menor quantidade de carbono da biomassa microbiana no solo solarizado em relação ao não solarizado, indicando que houve uma redução da microbiota. Embora a comunidade microbiana tenha sido reduzida no solo solarizado, a liberação de CO₂ foi igual para os dois tratamentos na primeira amostragem. O teor de nitrogênio amoniacal no solo solarizado foi maior, o que pode ter interferido sobre a microbiota, permitindo uma atividade maior. A análise química do solo realizada nesse mesmo experimento mostrou também um aumento nos teores de K, Mg e Cu e redução nos teores de Fe e Zn pelo tratamento de solarização. Patrício et al. (2005) avaliaram amostras de solo submetido à solarização por 60 dias, coletadas 40 dias após a retirada do plástico, e verificaram que houve redução na biomassa microbiana e no número de fungos e bactérias.

Não há relatos desse tipo de avaliação de atividade microbiana em solo solarizado em coletores solares. No entanto, Gamliel & Stapleton (1993a) avaliaram a atividade microbiana total pelo método da hidrólise do diacetato de fluoresceína em solos aquecidos em coletores que simulam a solarização. A atividade microbiana total do solo diminuiu durante a exposição direta do solo ao calor nos coletores, mas aumentou quando o solo foi exposto somente aos compostos voláteis liberados do solo aquecido por solarização. Mas, nesse último caso, a atividade biocida dos compostos contribuiu com o antagonismo ao patógeno. Nair et al. (1990) verificaram que a solarização do solo promoveu um aumento de fungos micorrízicos e maior crescimento de plantas de feijão-de-vara no campo. Já

Randig et al. (2002) estudaram o efeito da desinfestação do solo pelo uso da energia solar sobre fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e verificaram que, após 30 dias de solarização em coletor solar, o potencial de inóculo de FMAs foi reduzido em 93%.

Portanto, conhecer os efeitos da solarização sobre a comunidade microbiana é fundamental, tendo em vista as funções que os microrganismos desempenham na dinâmica da ciclagem de nutrientes e outros benefícios que podem se refletir na produtividade agrícola.

D. Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCPs)

De modo geral, os microrganismos saprófitas do solo, dentre eles inúmeros antagonistas, são mais tolerantes ao calor que os fitopatógenos, motivo pelo qual a mudança na microbiota do solo em favor de antagonistas aumenta a eficiência do controle (Sinigaglia et al., 2001). Segundo Gamliel & Stapleton (1993b), a solarização favorece o crescimento de algumas populações de microrganismos benéficos resultando em maior crescimento das plantas. Bactérias como *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp., fungos como o *Trichoderma* e nematóides de vida livre apresentam-se em grande número em relação aos patógenos após a solarização (Gamliel et al., 2000; Stapleton, 2000).

Algumas espécies de *Bacillus* e *Pseudomonas*, bem como de alguns outros gêneros, são conhecidas como rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs), ou seja, são bactérias colonizadoras da região do solo sob influência das raízes que apresentam efeitos benéficos às plantas, promovendo seu crescimento. Esse efeito benéfico das rizobactérias refere-se ao maior crescimento das plantas refletido pela altura, vigor e produtividade maiores do que nas plantas não associadas às RPCPs (Romeiro & Batista, 2002). A promoção de crescimento de plantas por RPCPs pode ser exercida por vários mecanismos (Benizri et al., 2001; El-Tarabily et al., 2003), incluindo: produção de substâncias promotoras de crescimento de plantas como os sideróforos e fitormônios (Burr & Caesar, 1984; Sharma et al., 2003), solubilização de fosfatos (Chabot et al., 1996), indução de resistência sistêmica (Ramamoorthy et al., 2001; Mariano & Kloepper, 2000), controle biológico por competição e por produção de antibióticos ou de substâncias tóxicas (Whipps, 2001; Guo et al., 2004; Ranganarajan et al., 2003) e aumento da nodulação de rizóbios pela produção de proteínas de ligação na membrana celular, produção de agentes

antimicrobianos ou pelo estímulo da colonização de raízes por fungos micorrízicos, que resultam em mudanças na morfologia das raízes (Zago et al, 2000). Vários outros autores descreveram benefícios causados pelas rizobactérias ao crescimento de diversas culturas, como Freitas (1989) em plantas de café, Silveira et al. (1995) em feijão e Nandakumar et al. (2001) em arroz.

Em um experimento realizado com plantas de alface e batata, Gasoni et al. (2001) verificaram a habilidade de isolados de rizobactérias promoverem o crescimento das plantas e sua eficácia em suprimir doenças causadas por *Rhizoctonia* spp. em alface. A promoção de crescimento foi expressa por aumentos significativos na matéria fresca de alface tratada com *Pseudomonas fluorescens* e *Bacillus pumilus*.

Freitas et al. (2003) verificaram a capacidade de isolados de rizobactérias em promover o crescimento de plantas de alface, em diferentes substratos. Foi marcante o benefício exercido pelas bactérias do gênero *Pseudomonas*, sendo que os resultados mostraram que a presença desse grupo na rizosfera de alface freqüentemente resulta em maior desenvolvimento das plantas dessa espécie. Segundo as autoras, essa capacidade de promoção de crescimento está provavelmente ligada a fatores nutricionais do substrato. Em um experimento com citros, Freitas & Aguilar-Vildoso (2004) verificaram o efeito benéfico, pelo aumento da matéria seca da parte aérea de plantas, de nove isolados de RPCPs, sendo que sete deles eram do gênero *Pseudomonas*. Gomes et al. (2003) obtiveram isolados bacterianos epifíticos e endofíticos de plantas de alface e os avaliaram quanto à promoção de crescimento de mudas e plantas de alface. Os autores verificaram que as mudas que receberam o inóculo de dois dos isolados apresentaram um aumento significativo em relação às testemunhas; no entanto, no campo não houve promoção significativa.

Alguns microrganismos rizosféricos, principalmente as bactérias do grupo fluorescente do gênero *Pseudomonas*, são bactérias capazes de produzir pigmentos de cor verde fluorescente, os sideróforos. Sideróforos são substâncias de baixa massa molecular, produzidas em situações de deficiência de ferro, capazes de quelar o íon férrico (Fe^{+3}) (Ramamoorthy et al., 2001; Pidello, 2003). Os microrganismos produtores de sideróforo desenvolveram mecanismos para retirada do ferro do interior do complexo quelato-Fe, sendo esse o mecanismo responsável por contribuir para uma melhor nutrição mineral das

plantas (Burr & Caesar, 1984). Além disso, o sideróforo pode ser ainda uma substância capaz de inibir o crescimento de alguns patógenos, pois torna o ferro indisponível a eles (Ramamoorthy et al., 2001). Em um experimento realizado por Kumar (1998) três isolados de *Pseudomonas* spp. fluorescentes, de solo rizosférico, apresentaram antibiose a sete fungos e duas bactérias (todos patógenos de plantas), *in vitro*, utilizando-se meio de cultura B de King et al. (1954), deficiente em ferro. A inoculação desses mesmos isolados em sementes de tomate, soja, berinjela e grão de bico aumentou significativamente a germinação das sementes, a matéria seca da parte aérea, o comprimento de raízes, sua matéria fresca e matéria seca, e a produção.

Além da produção de sideróforos, segundo Arshad & Frankenberger Jr. (1998), muitos microrganismos rizosféricos são capazes de produzir hormônios responsáveis pela promoção de crescimento em plantas, sendo o efeito mais conhecido o alongamento do caule das plantas. Barazani & Friedman (1999) estudaram a promoção de crescimento de plantas de alface por substâncias secretadas por rizobactérias e verificaram que o crescimento das plantas foi mediado pela produção de auxinas. O AIA e outras substâncias promotoras de crescimento de plantas foram secretadas pelas rizobactérias e, segundo os autores, deverão ser mais profundamente estudadas.

Outros mecanismos são investigados quanto à promoção de crescimento em plantas por essas bactérias. A produção de antibióticos, como pirrolnitrina, piocianina, 2,4-diacetilfloroglucinol (2,4-DAPG), por rizobactérias, também é responsável pelo controle de patógenos (Ramamoorthy et al., 2001; Rametti et al., 2003). Landa et al. (2002) citaram que isolados de *Pseudomonas fluorescens* produtores do antibiótico 2,4-DAPG apresentaram atividade de biocontrole sobre um largo espectro de patógenos causadores de doença em raízes e sementes de plantas. De quinze isolados de bactérias antagonistas contra uma série de patógenos, três foram escolhidos por mostrarem biocontrole de *Meloidogyne incognita* em alface e tomate, em trabalho de Hoffmann-Hergarten et al. (1998). O tratamento de sementes com as rizobactérias *Pseudomonas* sp. W34 ou *Bacillus cereus* S18 resultaram em redução significativa da doença causada por esse patógeno e aumento da biomassa da plântula. No experimento de campo, realizado pelos mesmos autores, foi observada uma redução significativa da doença dezoito semanas após a inoculação com esses dois isolados e o isolado de *Bacillus subtilis* VM1-32.

Outros importantes mecanismos de supressão de patógenos por essas rizobactérias são a produção de enzimas líticas, como quitinases e β -1,3-glucanases, que degradam a quitina e o glucano presentes nas paredes dos fungos, produção de ácido cianídrico (HCN) e degradação de toxinas produzidas pelos patógenos (Ramamoorthy et al., 2001).

Além da atividade direta de antagonismo a alguns fungos e bactérias, isolados de *Pseudomonas fluorescens* apresentam ação de indução de resistência sistêmica (IRS) em plantas a diversos patógenos (Viswanathan & Samiyappan, 2002a). Nos últimos anos, o modo de ação dessas bactérias tem sido estudado em condições de campo, em diferentes culturas (Ramamoorthy et al., 2001). Viswanathan & Samiyappan (2002a) citam trabalhos de indução de resistência em pepineiros, tomateiros, cana-de-açúcar, plantas de tabaco, de rabanete, de feijão e de arroz. A IRS refere-se à proteção da planta sistematicamente após indução por um agente em uma parte da planta (Kloepper et al., 1992). Os agentes de indução são geralmente substâncias produzidas por essas rizobactérias, como, por exemplo, lipossacarídeos presentes no exterior da membrana de células bacterianas, sideróforos e ácido salicílico de acordo com Ramamoorthy et al. (2001) e Whipps (2001). Segundo esses mesmos autores, a resistência sistêmica pode ocorrer por vários mecanismos, incluindo: modificações na parede das células da planta e mudanças bioquímicas e fisiológicas da planta hospedeira.

Viswanathan & Samiyappan (2002a) verificaram que a mediação de IRS foi significativamente maior no controle da doença causada pelo patógeno *Colletotrichum falcatum* em cultivares de cana-de-açúcar suscetíveis à doença do que em cultivares moderadamente suscetíveis ou moderadamente resistentes. Os autores verificaram também que a eficácia de certos isolados de *Pseudomonas* spp. contra o patógeno aumentou a produção de cana e de açúcar. O tratamento com o isolado de *P. putida* KKM1 aumentou os níveis de peroxidase no caule das três cultivares; todavia, níveis iguais de peroxidase foram encontrados nos tecidos dos nós e entrenós após a introdução do patógeno, comparados à testemunha. Além disso, a inoculação do isolado KKM1, induziu sistematicamente a produção da enzima fenilalanina amônia-liase e mostrou um aumento significativo na quantidade de lignina nas plantas tratadas com a rizobactéria em relação ao controle (Viswanathan & Samiyappan, 2002b).

A colonização de raízes recém formadas por RPCPs é mínima, mas após alguns dias microcolônias aparecem em associação com a matéria orgânica que as pontas das raízes encontram à medida que crescem e com nutrientes como carboidratos e aminoácidos exsudados pelas plantas (Freitas, 2005). Essa colonização ocorre rapidamente e a bactéria compete e pode suprimir microrganismos deletérios na superfície das raízes (Rangaranjan et al., 2003). No entanto, o sucesso da introdução desses microrganismos requer que esse estabelecimento, proliferação e atividade ocorram nas condições encontradas no solo (Van Veen et al., 1997). Nem sempre isso acontece: se as condições não forem favoráveis, pode haver perda da atividade metabólica (Sorensen et al., 2001). Assim, fatores bióticos e abióticos, como exsudação radicular, competição por nutrientes, umidade, temperatura, pH e textura do solo e luminosidade, entre outros, têm influência direta sob a colonização e estabelecimento das rizobactérias (Freitas, 2005; Benizri et al., 2001). A resposta do inoculante a essas condições do solo dependerá da constituição genética e fisiológica do microrganismo que o compõe (Lemaneceau et al., 1995; Van Veen et al., 1997; Kokalis-Burelle et al., 2005). Digat et al. (1990) verificaram, em alface, que certos genótipos de plantas são mais suscetíveis ao efeito estimulante de promoção de crescimento causado pelas bactérias, o que, segundo eles, sugere uma relativa dependência microbiana de certos genótipos de plantas em relação a esse efeito. A capacidade de colonização da rizosfera pelo isolado bacteriano pode ser um fator fundamental na interação benéfica entre a bactéria e a planta hospedeira (Benizri et al., 2001).

A maioria das estirpes de RPCPs pertence aos gêneros *Pseudomonas* (Gram-negativas) e *Bacillus* (Gram-positivas), sendo que o maior número das espécies documentadas refere-se ao grupo das fluorescentes (Zago et al., 2000; Freitas, 2005). A diversidade metabólica das *Pseudomonas* spp. fluorescentes propicia-lhes uma grande habilidade para a adaptação a vários ambientes, sendo que elas são hábeis competidoras por espaço e nutrientes, em detrimento de outros microrganismos (Burr & Caesar, 1984). Essa característica pode ser mais favorecida pela solarização do solo porque a destruição de muitos microrganismos mesófilos durante o processo disponibiliza os nutrientes que serão utilizados para a recolonização do substrato após o tratamento. Muitos parasitas e patógenos não são aptos a competir com sucesso por esses recursos como outros microrganismos adaptados para sobreviver no solo. Esse último grupo, que inclui muitos

antagonistas de patógenos de plantas, é provavelmente mais apto a sobreviver à solarização ou a recolonizar rapidamente o substrato (Stapleton, 2000).

Gamliel & Stapleton (1993b) verificaram, em alface, que o número de *Bacillus* spp. não foi significativamente reduzido no solo após a solarização e o número de *Pseudomonas* spp. aumentou de 6 a 10 vezes na rizosfera de plantas de alface em solo solarizado do que em solo não solarizado. Em um trabalho realizado com tomateiros Gamliel & Katan (1991) observaram um grande número de *Pseudomonas* spp. rizosféricas nas plantas em solos solarizados. O rápido estabelecimento dessas bactérias fluorescentes foi evidenciado logo nos primeiros estágios de germinação das sementes e aumentou de número após a emergência e período de crescimento. Essas bactérias foram isoladas e inoculadas em sementes de tomate para a verificação de promoção de crescimento; doze isolados de *Pseudomonas* do grupo fluorescente aumentaram significativamente a matéria seca das plantas.

Stevens et al. (2003) encontraram um número significativamente maior do grupo fluorescente de *Pseudomonas* na rizosfera, rizoplano e interior das raízes de tomateiros e plantas de batata doce que foram cultivados em solos solarizados comparados à testemunha não solarizada. Os autores relatam também que esses microrganismos contribuíram para o aumento do crescimento desses vegetais e, provavelmente, foram supressivos aos patógenos.

Assim, o favorecimento ao aumento da população de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* e *Bacillus* spp. na rizosfera das plantas, pelo uso da solarização, pode ser um importante fator para a supressão dos patógenos e para o crescimento das plantas (Gamliel & Stapleton, 1993b).

III. MATERIAL E MÉTODOS

A. *Biodiversidade Funcional da Microbiota em Substrato Solarizado*

Com o objetivo de avaliar a biodiversidade funcional da microbiota em solo submetido à solarização foi conduzido um experimento em casa de vegetação no Centro Experimental Central (Fazenda Santa Eliza) do Instituto Agrônômico (IAC), em Campinas (latitude: 22° 53 ' 20" e longitude: 47° 04 ' 40").

O substrato foi uma mistura de Latossolo Vermelho Distrófico Típico com esterco de galinha (cama-de-frango), à razão de 10:1 em volume. Para cada metro cúbico do solo peneirado ($d=1,10$) adicionaram-se 1200g de calcário fino (80 % PRNT), 800 g de superfosfato triplo em pó (40% P_2O_5) e 150 g de sulfato de potássio (50% K_2O). A análise desse substrato mostrou os seguintes valores: M.O. ($g\ dm^{-3}$) 28; em $mmol_c\ dm^{-3}$: K, 0,9; Ca, 335; Mg, 40; H + Al, 13; soma de bases, 384,9; pH em $CaCl_2$, 6,9; V, em %: 97.

A solarização do substrato foi feita segundo Ghini (1997) em um coletor solar de madeira com tubos de ferro galvanizado e uma cobertura de plástico transparente, que permite a entrada dos raios solares (Foto 1). Esse coletor tem capacidade para 120 litros de solo, possibilitando que o substrato fosse solarizado todo de uma vez.

O equipamento foi posicionado com exposição ao sol na face norte e um ângulo de inclinação semelhante à latitude local acrescida de 10° (Ghini, 1997). O substrato, umedecido a 60% da capacidade de campo, permaneceu no coletor solar durante três dias, sendo que a temperatura atingiu 70°C todos os dias no período vespertino de sol mais intenso. A solarização foi realizada em outubro de 2002.

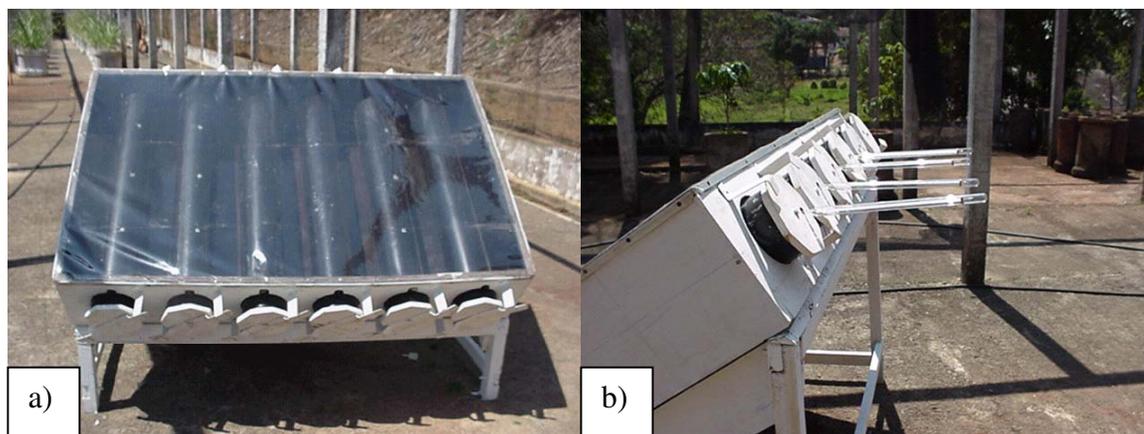


Foto1. Coletor solar com capacidade para 120 L de solo, confeccionado de acordo com Ghini(1997); a)vista frontal, b)vista lateral

Os vasos de alumínio, de capacidade de 2 litros, foram autoclavados antes de receberem o substrato. Cada vaso constituía uma parcela dos tratamentos, que foram: solarização (com 2 níveis: substrato solarizado e não solarizado) e amostragens no tempo (com 5 níveis: 0, 30, 60, 90 e 120 dias após a solarização). Assim, o estudo dos parâmetros avaliados em função da solarização e amostragens no tempo foi realizado pela análise de variância para o esquema fatorial 2 x 5, inteiramente casualizado, com quatro repetições. A primeira amostragem foi realizada logo após a solarização e as demais, a cada 30 dias.

Todos os vasos receberam sementes da variedade de alface crespa Verônica e procedeu-se o desbaste 7 dias após a semeadura, deixando-se uma planta por vaso. Quando foram completados os ciclos da cultura, de cerca de 45 dias, as plantas foram colhidas e os vasos receberam novas sementes. Durante os quatro meses pelos quais o experimento permaneceu em casa de vegetação, os vasos foram mantidos com plantas de alface, para haver sempre o efeito da rizosfera.

Foram realizadas as seguintes avaliações microbiológicas:

a. Carbono da Biomassa Microbiana (CBM)

O método utilizado foi o da fumigação-extração, que tem como princípio analisar a biomassa microbiana extraível em solução aquosa de sulfato de potássio a $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. A fumigação do solo com clorofórmio lisa as células, liberando o citoplasma e permitindo sua

extração do solo (Vance et al., 1987). Para realizar a fumigação, foi utilizado o clorofórmio livre de etanol, deixando o solo exposto aos seus vapores sob vácuo, por 24 horas.

Tanto o solo fumigado quanto o não fumigado (20g de solo para cada amostra) foram agitados por 30 minutos com K_2SO_4 a $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, e, em seguida, decantados e filtrados. Os extratos de solo obtidos foram submetidos à digestão por dicromato de potássio. O dicromato remanescente foi quantificado por titulação com solução padronizada de sulfato ferroso amoniacal. Pela diferença entre o volume excedente do dicromato das amostras, fumigadas e não fumigadas, foi calculado o carbono extraído proveniente das células lisadas. Os resultados finais foram expressos em $\mu\text{g C g}^{-1}$ de substrato (Brookes et al., 1985; Voroney et al., 1993).

b. Nitrogênio da Biomassa Microbiana (NBM)

O método utilizado para a quantificação do nitrogênio da biomassa também foi o da fumigação-extração e o extrato utilizado para essa avaliação foi o mesmo utilizado para a quantificação de carbono da biomassa.

Foram transferidos 30 mL do extrato para tubos de digestão e foi acrescentado 1 mL de H_2SO_4 concentrado. Essa solução foi mantida em bloco digestor a 60°C até que a solução fosse reduzida a aproximadamente 2 mL (15 dias). Depois de concentrado, foram acrescentados 7 mL da solução digestora e a temperatura foi elevada para 360°C , na qual permaneceu por 5 horas. Após esfriar, essa solução foi submetida a uma destilação utilizando-se 10 mL de ácido bórico 2%. Como resultado da destilação, foi coletado um volume de 50 mL que foi titulado com H_2SO_4 0,1 N padronizado. Para cada bloco digerido foi feita uma prova em branco (Jenkinson, 1988). Os resultados foram expressos em $\mu\text{g N g}^{-1}$ de substrato.

c. Relação entre Carbono e Nitrogênio da Biomassa Microbiana (C/N)

O cálculo da relação C/N foi realizado pela razão entre o carbono da biomassa e o nitrogênio da biomassa (Venzke Filho, 1999).

d. Liberação de CO₂ pela Respiração dos Microrganismos do Solo

Para a quantificação da respiração pelos microrganismos presentes no substrato foi utilizado o método de Pramer & Schimdt (1964). Cem gramas de cada amostra de substrato foram transferidos para frascos de vidro hermeticamente vedados. A esse substrato foi acrescentada água destilada correspondente a 60% da capacidade máxima de retenção de água, que havia sido previamente estimada. Em um frasco de Erlenmeyer, dentro de cada frasco de respirometria, foram colocados 10 mL de NaOH 1N. Para cada amostra foram feitas 3 réplicas e mantidos 3 frascos controles ou testemunhas, sem amostras de solo. A incubação ocorreu por 3 dias, para estabilização da umidade no solo, antes de ser colocado NaOH, e a incubação posterior foi de nove dias a 28°C.

Foi feita a avaliação da quantidade de CO₂ liberado pela quantidade de NaOH utilizada ($2\text{NaOH} + \text{CO}_2 \rightarrow \text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{H}_2\text{O}$). Para essa análise, foram adicionados 1 mL de cloreto de bário a 50% e 3 gotas de fenolftaleína e, em seguida, foi feita a titulação com HCl 1N. Os resultados finais foram expressos em $\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ dia}^{-1}$.

e. Quociente Metabólico

O quociente metabólico (qM) é uma relação entre o CO₂ liberado e o carbono da biomassa microbiana e é usado como indicador da eficiência da comunidade microbiana em incorporar carbono à própria biomassa (Anderson & Domsch, 1989).

f. Quantificação de Microrganismos

A quantificação dos microrganismos foi realizada pelo método do número mais provável (NMP), que tem suporte estatístico no trabalho de Halvorson & Ziegler (1932) e baseia-se na diluição à extinção. As diluições utilizadas foram definidas com base em testes preliminares, sendo cada uma distribuída para 5 tubos com o meio de cultura específico para cada microrganismo.

Amonificadores

O meio de cultura utilizado, específico para o crescimento de microrganismos amonificadores, foi o proposto por Sarathchandra em 1978 (Andrade et al., 1994). Foram utilizadas diluições de 10^{-4} a 10^{-9} para o substrato. A incubação foi feita por 5 dias a 28°C e os meios dos tubos com crescimento positivo demonstraram mudança de cor laranja para rosa, devido à elevação do valor de pH acima de 7,0, pelo indicador vermelho de fenol.

Nitrificadores

Duas avaliações foram realizadas para quantificar, separadamente, microrganismos nitrificadores – os oxidantes de amônio – e nitratores – os oxidantes de nitrito (Alexander & Clark, 1979), utilizando-se diferentes meios de cultura para cada um. Para as análises de microrganismos nitrificadores foram utilizadas diluições de substrato de 10^{-1} a 10^{-6} e diluições de 10^{-3} a 10^{-7} para a análise de microrganismos nitratores.

A presença de microrganismos nitrificadores foi verificada em duas etapas, sendo a primeira pela adição de 3 gotas do reagente Griess-Ilosvay (aparecimento de coloração rosa/púrpura pela presença de nitrito no meio) e a seguinte pela adição de Liga de Devarda e Zn nos tubos que se apresentaram negativos na primeira etapa (evidenciou a presença de nitrato pela coloração rosa/púrpura).

A presença de microrganismos nitratores foi avaliada pela ausência de nitrito no meio de cultura.

Celulolíticos

A quantificação de microrganismos celulolíticos foi avaliada segundo método citado por Carvalho et al. (1980), modificado, que é utilizado como rotina no Instituto Agrônomo em Campinas. As diluições de substrato utilizadas foram de 10^{-3} a 10^{-7} .

A presença dos microrganismos foi evidenciada após 2 semanas de incubação a 28°C , pela degradação das tiras de papel adicionadas ao meio de cultura.

Amilolíticos

O meio de cultura utilizado para a quantificação dos microrganismos amilolíticos foi uma modificação do meio proposto para microrganismos celulolíticos (Carvalho et al., 1980), substituindo-se as tiras de papel por amido. As diluições de substrato utilizadas para as análises foram de 10^{-4} a 10^{-8} . A incubação foi de 2 semanas a 28° C e a presença dos microrganismos amilolíticos foi evidenciada pela adição de lugol ao meio de cultura.

Proteolíticos

A quantificação de microrganismos proteolíticos foi realizada segundo Watanabe & Hayano (1995), utilizando-se de um meio de cultura de gelatina a 12%. As diluições utilizadas para essa análise foram de 10^{-1} a 10^{-5} . Depois de 2 semanas de incubação a 30°C os tubos positivos foram definidos pela liquefação da gelatina. Antes da análise, os tubos foram colocados a 5°C por 30 minutos e a análise foi feita imediatamente após a retirada dos tubos da geladeira.

g. Quantificação de bactérias em meio B

A análise abrangeu a contagem de *Pseudomonas* spp. fluorescentes e de bactérias não fluorescentes, no substrato e na rizosfera, cultivadas em meio B de King et al. (1954). Essas análises foram feitas pela contagem direta das colônias em placas de Petri.

Para a quantificação das bactérias no substrato, foram feitas diluições do substrato em $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,01M, de 10^{-1} a 10^{-7} , que foram espalhadas em placas de Petri contendo meio B sólido, sendo consideradas duas réplicas por diluição. Para a quantificação de bactérias na rizosfera, as raízes das plantas foram lavadas superficialmente em água corrente e posteriormente colocadas em frascos com solução esterilizada de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,01M. Os frascos foram agitados por 20 minutos e a partir dessa solução foram feitas diluições de 10^{-1} a 10^{-7} , que foram espalhadas em placas de Petri contendo o meio B sólido, sendo consideradas duas réplicas por diluição.

As placas foram incubadas a 28° C. As contagens de *Pseudomonas* spp. fluorescentes foram realizadas, depois de 24 horas de incubação, sob luz ultravioleta, e as

de bactérias não fluorescentes, depois de 48 horas de incubação, com auxílio de um contador.

h. Crescimento de plantas de alface

A partir da segunda amostragem foi realizada a avaliação do crescimento das plantas de alface pela contagem do número de folhas, massa de matéria seca da parte aérea e raízes.

i. Emergência de Plantas Invasoras

Embora não fizesse parte dos objetivos do trabalho, optou-se por realizar a análise da emergência de plantas invasoras. Para isso, realizou-se a contagem do número de plantas invasoras que cresceram nos vasos dos dois tratamentos 15 dias após a semeadura de alface, logo em seguida à solarização. Foi feita também a quantificação da massa de matéria seca dessas plantas.

B. Escolha dos Isolados de RPCPs

Todos os isolados utilizados no experimento em casa de vegetação para observação de promoção de crescimento de mudas de alface, em substrato solarizado e não solarizado, foram escolhidos a partir da coleção do Instituto Agronômico.

Alguns dos isolados foram escolhidos após um experimento de pré-seleção, descrito a seguir. Outros isolados foram escolhidos observando-se resultados de experimentos realizados por Sotero (2003) e experimentos realizados utilizando-se outros substratos descritos por Freitas et al. (2003).

Pré-seleção de Isolados de RPCPs em Alface

A pré-seleção dos isolados de bactérias do grupo fluorescente do gênero *Pseudomonas* foi feita em uma mistura de solo e esterco bovino (1/1), na tentativa de obtenção de dados de seleção de isolados em condições semelhantes às que ocorrem nos cultivos agrícolas. A análise química da mistura apresentou os seguintes resultados: matéria orgânica, 63 g dm⁻³; em mg dm⁻³: P (resina), 291; B, 1,15; Cu, 5,2; Fe,36; Mn, 46,9; Zn, 24,3; em mmol_c dm⁻³:K, 79; Ca,97; Mg, 51; H+Al, 10; soma de bases, 227; CTC, 236,7; pH, em CaCl₂, 7,6; saturação por bases, 96%. A dez quilogramas dessa mistura adicionaram-se cem gramas de adubo mineral com a fórmula 4-14-8. Foi utilizado o cultivar de verão Brasil 221 de folha lisa.

Nesse experimento foram utilizados 70 isolados de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* que fazem parte da coleção do IAC e estão apresentadas no quadro 1, de acordo com a planta de origem.

As sementes de alface foram plantadas em vasos com 0,5 kg da mistura de solo e esterco, com cinco repetições de cada tratamento. Seis dias após a semeadura, quando as plântulas tinham cerca de 1 cm de altura, inocularam-se as bactérias veiculadas em 8 mL de meio B de King et al.(1954) no qual cresciam há 72 h. A testemunha sem inoculação recebeu o mesmo volume de meio de cultura esterilizado. Duas semanas depois, procedeu-se ao desbaste para deixar uma planta por vaso. Procedeu-se à reinoculação uma semana depois do desbaste, da forma supradescrita. Quarenta e sete dias após a semeadura colheu-

se apenas a parte aérea, que foi seca em estufa até massa constante. Os resultados dessa análise fazem parte do trabalho publicado por Freitas et al. (2003).

Quadro 1. Origem dos isolados de bactérias do grupo fluorescente do gênero *Pseudomonas*

Isolado	Origem	Isolado	Origem
Ps 21A ⁽¹⁾	Rizosfera algodoeiro	de Ps 51B ⁽¹⁾	Rizosfera tomateiro
Ps 21B ⁽¹⁾		Ps 52A ⁽¹⁾	
Ps 21C ⁽¹⁾		Ps 52B ⁽¹⁾	
Ps 22A ⁽¹⁾		Ps 53A ⁽¹⁾	
Ps 22B ⁽¹⁾		Ps 53B ⁽¹⁾	
Ps 23A ⁽¹⁾		Ps 53C ⁽¹⁾	
Ps 23B ⁽¹⁾		Ps 54A ⁽¹⁾	
Ps 23C ⁽¹⁾		Ps 54B ⁽¹⁾	
Ps 31A ⁽¹⁾	Rizosfera de milho	Ps 54C ⁽¹⁾	
Ps 31B ⁽¹⁾		Ps 55 ⁽³⁾	
Ps 31C ⁽¹⁾		Ps 60A ⁽³⁾	Rizosfera de citros (Tangerina Cleópatra)
Ps 31D ⁽¹⁾		Ps 60B ⁽³⁾	
Ps 32 ⁽¹⁾		Ps 62 ⁽³⁾	
Ps 33 ⁽¹⁾		Ps 63 ⁽³⁾	
Ps 34C ⁽¹⁾		Ps 65A ⁽³⁾	
Ps 41A ⁽¹⁾	Rizosfera de soja	Ps 66B ⁽³⁾	
Ps 41B ⁽¹⁾		Ps 70 ⁽³⁾	Rizosfera de citros (Limão Cravo)
Ps 41C ⁽¹⁾		Ps 71 ⁽³⁾	
Ps 42A ⁽¹⁾		Ps 72 ⁽³⁾	
Ps 42B ⁽¹⁾		Ps 73 ⁽³⁾	
Ps 42C ⁽¹⁾		Ps 74 ⁽³⁾	
Ps 43A ⁽¹⁾		Ps 76 ⁽³⁾	
Ps 43B ⁽¹⁾		Ps 77 ⁽³⁾	
Ps 43C ⁽¹⁾		Ps 80 ⁽³⁾	Rizosfera de couve
Ps 44A ⁽¹⁾		Ps 85 ⁽³⁾	Rizosfera de alface
Ps 44B ⁽¹⁾		Ps 91 ⁽³⁾	Rizosfera de pimentão
Ps 45A ⁽³⁾		Ps 92 ⁽³⁾	
Ps 45B ⁽³⁾		Ps 805 ⁽³⁾	Rizosfera de cebola
Ps 45C ⁽³⁾		136RN ⁽²⁾	Rizosfera de milho
Ps 46 ⁽³⁾		G20-18	J.W.Kloepper, Canadá
Ps 47A ⁽³⁾		W4F58	D.C.Gross
Ps 47B ⁽³⁾		W4F111	(Washington State Univ.)
Ps 47C ⁽³⁾		W4F164	
Ps 47D ⁽³⁾		W4P5 (<i>P. putida</i>)	
Ps 51A ⁽¹⁾	Rizosfera tomateiro	de W4P144 (<i>P.putida</i>)	

⁽¹⁾ Isolados obtidos por Freitas (1994). ⁽²⁾ Isolado obtido por Brandão (1989). ⁽³⁾ Freitas et al. (2003)

C. Teste da Eficiência de Rizobactérias na Promoção do Crescimento de Mudanças de Alface em Substrato Solarizado.

O substrato utilizado para esse experimento foi um substrato comercial para hortaliças, usualmente utilizado para a produção comercial de mudas de alface pelos agricultores, com apenas metade da adubação recomendada normalmente. Foram testados 50 isolados de *Pseudomonas* spp. da coleção do Instituto Agronômico em Campinas, escolhidos com base no que foi descrito no item B. Os isolados foram testados em substrato solarizado em coletor solar e em substrato não solarizado. Para isso, foram utilizados vasos plásticos com 500 mL de substrato. A inoculação das bactérias foi feita nos vasos, logo após a semeadura. Para tanto os isolados bacterianos foram repicados em meio de cultura B sólido, em tubo largo inclinado, onde cresceram sob incubação a 28°C por 24h. Após esse período, as bactérias foram raspadas da superfície do meio, suspensas em água destilada esterilizada e inoculadas na proporção de 10^8 células/mL da suspensão. Foram semeadas duas plantas por vaso e após uma semana procedeu-se o desbaste.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 10 repetições, totalizando 1000 vasos. Devido ao elevado número de vasos, o experimento foi realizado em três etapas, sendo que os isolados testados em cada etapa e as temperaturas do substrato de cada grupo atingidas durante a solarização, medidas no período vespertino de insolação mais intensa, estão descritas nas figuras 1, 2 e 3. Foram feitas testemunhas absolutas, sem a inoculação de bactérias, para os dois tratamentos do substrato para cada grupo de isolados testados.

Vinte e cinco dias após a semeadura as mudas de alface foram coletadas. Foi feita uma contagem do número de folhas de alface e as mudas foram secas em estufa a 60°C até atingirem massa constante e foram então avaliadas quanto à massa de matéria seca da parte aérea.

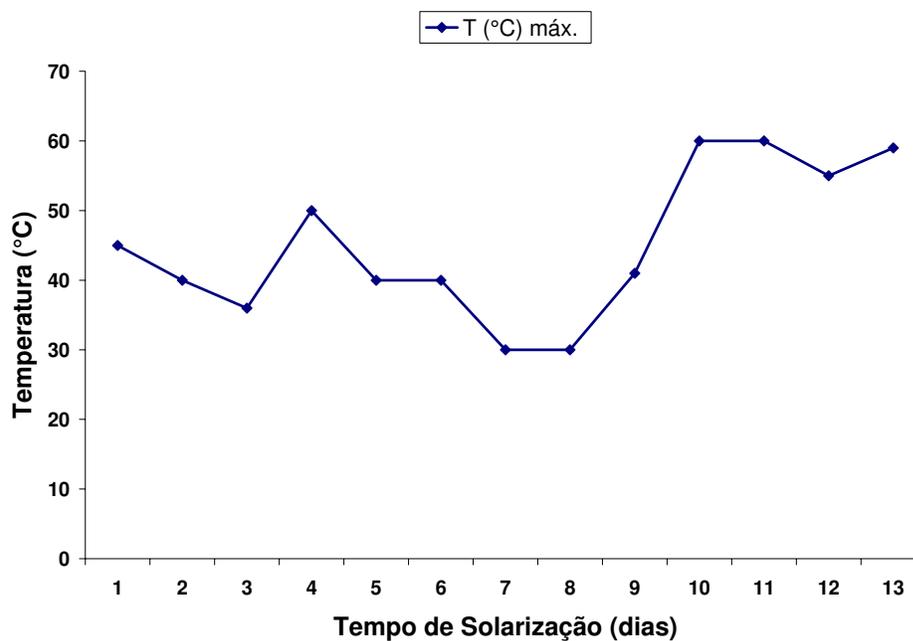


Figura 1. Temperaturas máximas atingidas pelo substrato durante o tratamento de solarização em coletor solar. Substrato usado para o experimento com o primeiro grupo de rizobactérias, realizado em outubro de 2003.

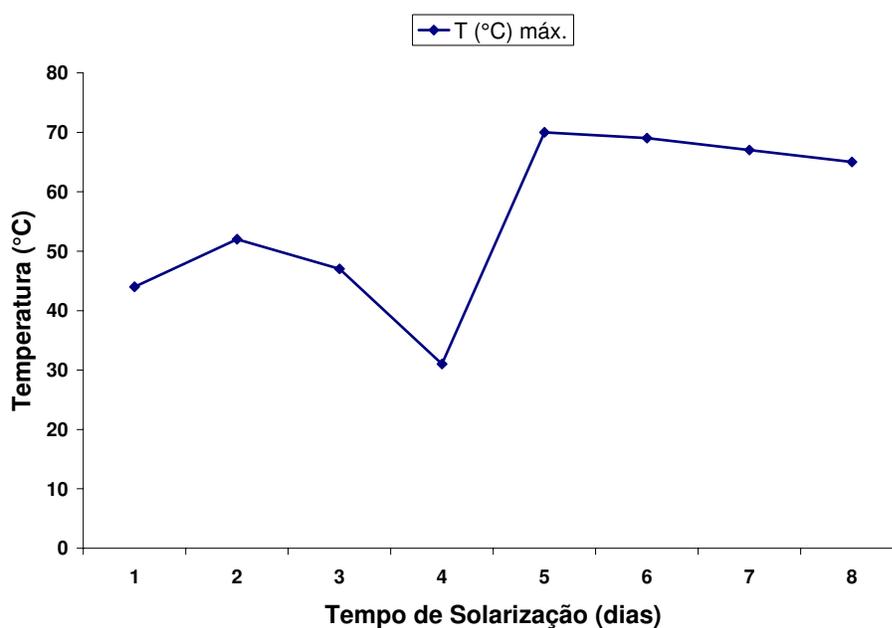


Figura 2. Temperaturas máximas atingidas pelo substrato durante o tratamento de solarização em coletor solar. Substrato usado para o experimento com o segundo grupo de rizobactérias, realizado em dezembro de 2003.

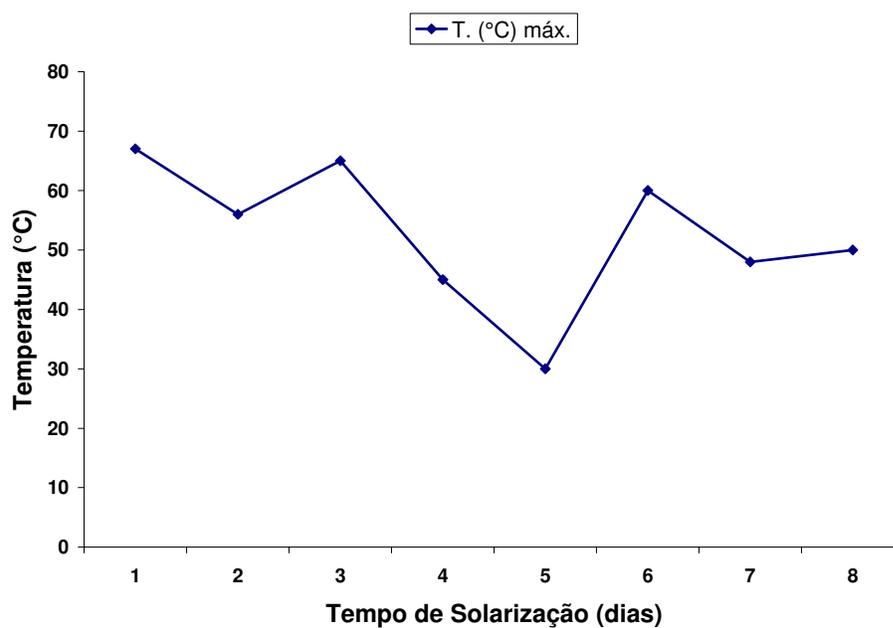


Figura 3. Temperaturas máximas atingidas pelo substrato durante o tratamento de solarização em coletor solar. Substrato usado para o experimento com o terceiro grupo de rizobactérias, realizado em fevereiro de 2004.

D. Análise Estatística

A avaliação dos fatores solarização e amostragens no tempo foi feita pela análise de variância para o esquema fatorial 2 x 5 (solo solarizado e não solarizado x amostragens aos 0, 30, 60, 90 e 120 dias após a solarização) no delineamento experimental inteiramente casualizado, com 4 repetições. Os dados obtidos foram analisados pelo programa Proc Mixed do S.A.S.. Para a avaliação dos dados quantitativos, referentes às amostragens no tempo, foram feitas regressões polinomiais. De acordo com análises feitas pelo programa Proc Lab do S.A.S, para realizar a análise de variância os dados de: microrganismos amilolíticos, amonificadores, celulolíticos, nitritadores, nitratores, proteolíticos, *Pseudomonas fluorescentes* spp. rizosféricas e não rizosféricas, Bactérias não fluorescentes rizosféricas, razão entre carbono e nitrogênio da biomassa microbiana (C/N) e liberação de CO₂ foram transformados em $\log(x + 1)$; nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), quociente metabólico (qM) e bactérias não fluorescentes no substrato foram transformadas em raiz quadrada de $(x + 1)$ e carbono da biomassa microbiana (CBM) não sofreu transformação. Foram feitas, também, correlações entre as variáveis.

Para a análise dos resultados do teste de pré-seleção de isolados de rizobactérias promotoras de crescimento de alface foi usado o programa SANEST. A análise de variância foi pelo teste F para o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 5 repetições, e a comparação das médias, pelo teste unilateral de Dunnett, a 5 e a 1%. A análise do teste da eficiência de rizobactérias na promoção do crescimento de mudas de alface em substrato solarizado também foi realizada pelo programa SANEST. Foi feita a análise de variância considerando-se como causas de variação os tratamentos de solarização, a inoculação de rizobactérias e a interação de ambos, para o delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições. A comparação das médias foi feita pelo teste unilateral de Dunnett. Os dados de matéria seca e número de folhas de alface não sofreram transformação.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A. Biodiversidade Funcional da Microbiota em Substrato Solarizado

a. Carbono da Biomassa Microbiana

Os resultados da quantificação de carbono da biomassa microbiana estão representados pelo quadro 2 e figura 4 . Houve diferenças significativas, ao nível de 1%, entre o teor de carbono da biomassa microbiana para o substrato solarizado e não solarizado e também para as amostragens no tempo; porém, a interação entre os dois fatores não se apresentou significativa.

Quadro 2. Teor de carbono da biomassa microbiana ($\mu\text{g C g}^{-1}$ substrato) em função da solarização e amostragens no tempo. Médias originais de 4 repetições.

Tratamentos	Médias	Amostragens, em dias após a solarização				
		0	30	60	90	120
Não Solarizado	866,15 A	814,66 A	460,27 A	1305,99 A	911,82 A	837,99 A
Solarizado	712,94 B	728,35 A	218,92 A	1065,57 A	781,32 A	770,56 A

Valores de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pela análise de variância do GLM proc do SAS ao nível de 1%. A interação entre os fatores não apresentou diferenças significativas.

Coefficiente de variação = 11,28%, referente à análise de variância com dados sem transformação.

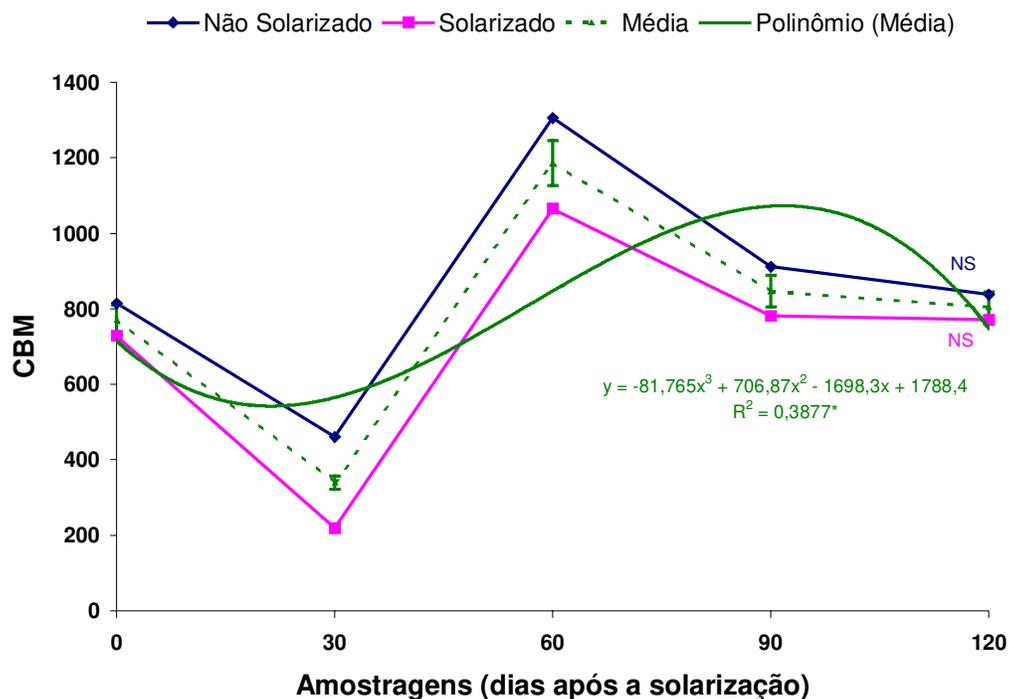


Figura 4. Carbono da biomassa microbiana (CBM), em $\mu\text{g C g}^{-1}$ substrato, em amostras de substrato solarizado e não solarizado em função do tempo. Médias originais de 4 repetições. NS: interação dos fatores não foi significativa. I: desvio padrão. * regressão significativa a 5%.

Como podemos observar na figura, a solarização do substrato provocou uma queda no teor de carbono da biomassa microbiana, que, em geral, apresentou-se mais baixo no substrato solarizado do que no não solarizado. Esses resultados estão de acordo com o encontrado por Patrício et al. (2005), que avaliaram o efeito da solarização do solo no campo, com filme plástico, por 60 dias, em dois verões consecutivos, sendo que as amostragens do solo foram feitas 40 dias após a retirada do plástico. Nesse experimento, os autores verificaram que houve uma redução significativa do carbono da biomassa microbiana nas parcelas submetidas à solarização, nas duas coletas realizadas.

Cruz (2003) analisou o teor de carbono da biomassa microbiana em amostras de solo coletadas durante a solarização e verificou que a quantidade de carbono da biomassa microbiana foi menor em solo submetido à solarização em comparação ao solo não

solarizado, com ou sem adição de matéria orgânica, porém essa diminuição não foi estatisticamente significativa, quando analisadas em cada momento de coleta. Já Sinigaglia et al. (2001), em um experimento realizado em campo onde o solo foi submetido à solarização por 42 dias, não verificaram alteração no teor de carbono da biomassa microbiana, embora a evolução de CO₂ e quociente metabólico tenham sido maiores em solo solarizado. Essa diferença dos resultados de um experimento para o outro pode ter ocorrido em função da maneira com que foi conduzida a solarização, como, por exemplo, a umidade do solo durante o processo, que não foi citada pelos autores e é um fator que tem forte influência sobre a eficiência da solarização (Stapleton, 2000). Outros fatores, como tipo de solo, teor de matéria orgânica, tipo de plástico utilizado para a solarização, temperatura atingida durante o tratamento e tempo de exposição, também têm forte influência sobre a eficiência da solarização (Cruz, 2003; Barros et al., 2004).

Neste trabalho, os valores do teor da biomassa microbiana variaram de acordo com a amostragem no tempo, apresentando uma curva muito parecida para ambos os tratamentos, sendo que, na amostragem feita no tempo zero, logo após a solarização, os valores do carbono da biomassa apresentaram-se em torno de 700 a 800 $\mu\text{g C g}^{-1}$ substrato. Na segunda amostragem, que ocorreu 30 dias após a solarização, houve uma queda na quantidade de carbono da biomassa microbiana, em ambos os tratamentos, que apresentou-se numa faixa de 200 a 400 $\mu\text{g C g}^{-1}$ substrato. Na terceira amostragem, que ocorreu 60 dias após a solarização, houve um aumento nesse teor, que voltou à faixa de 800 a 1000 $\mu\text{g C g}^{-1}$ substrato nas amostragens seguintes (Figura 4). Como se observa na figura, a regressão feita para as médias dos tratamentos independente da solarização, embora significativa, apresentou baixo coeficiente de determinação, mostrando que pouco dessa variação do teor de carbono da biomassa microbiana foi dada pelo tempo e, portanto, pode estar relacionada com os diferentes grupos microbianos presentes no substrato nos determinados períodos, provavelmente influenciados por outros fatores como, por exemplo, os exsudatos radiculares (Helal & Sawerbeck, 1986), presença de matéria orgânica no substrato, temperatura, umidade, pH etc.

Considerando-se que as plantas de alface foram semeadas várias vezes durante o período em que o experimento permaneceu em casa de vegetação e em cada período de amostragem as plantas estavam em idades diferentes, supõe-se que as mesmas devem ter

secretado exsudatos radiculares em diferentes quantidades e qualidade, influenciando assim quantitativa e qualitativamente os grupos microbianos. Outro fator a ser considerado, que provavelmente influenciou o crescimento da microbiota, foi a presença de matéria orgânica advinda das raízes que devem ter ficado nos vasos quando as plantas foram colhidas para novas plantas serem cultivadas.

A temperatura e umidade do substrato são fatores que também podem ter influenciado a variação do teor de carbono da biomassa microbiana nas diferentes amostragens. Cruz (2003) cita que, embora durante a solarização tenha ocorrido a diminuição do teor do carbono da biomassa microbiana, os solos dos dois tratamentos, solarizado e não solarizado, seguiram uma mesma tendência para essa variável, assim como ocorreu neste trabalho. A autora relacionou esses resultados com a umidade do solo nas diversas épocas de amostragem. Venzke Filho (2003) também cita em seu trabalho, onde quantificou o carbono e nitrogênio da biomassa microbiana ao longo do tempo em sistema de plantio direto, que fatores como a umidade e a temperatura, entre outros, podem ter causado uma diluição do efeito do tempo de sistema de plantio direto, impossibilitando a interpretação dos resultados com respaldo estatístico. A flutuação sazonal da biomassa microbiana também foi relacionada com a temperatura e umidade do solo em alguns outros trabalhos como os de Wardle (1992) e Feigl (1994).

Os dados de carbono da biomassa microbiana obtidos neste trabalho vieram comprovar que o aumento da temperatura do solo pela solarização reduz, de maneira geral, a comunidade de microrganismos. Mostraram, também, que o carbono da biomassa microbiana é um indicador sensível das mudanças nos níveis de matéria orgânica em ecossistemas perturbados (Perez et al., 2004; Monteiro & Gama-Rodrigues, 2004; Uhlirová et al., 2005; Valpassos et al., 2001).

b. Nitrogênio da Biomassa Microbiana

No quadro 3 e figura 5 estão os dados referentes ao teor de nitrogênio da biomassa microbiana.

Quadro 3. Teor de nitrogênio da biomassa microbiana ($\mu\text{g N g}^{-1}$ substrato) em função da solarização e amostragens no tempo. Médias originais de 4 repetições.

Tratamentos	Amostragens, em dias após a solarização				
	0	30	60	90	120
Não Solarizado	30,71 A	19,69 A	42,22a	31,75 a	42,62 a
Solarizado	8,29 B	6,82 B	29,14b	21,61 a	48,18 a

Valores de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pela análise de variância GLM Proc do SAS ao nível de 1% (letras maiúsculas) e 5% (letras minúsculas).

coeficiente de variação = 14,30%, dados transformados em raiz quadrada de (x+1).

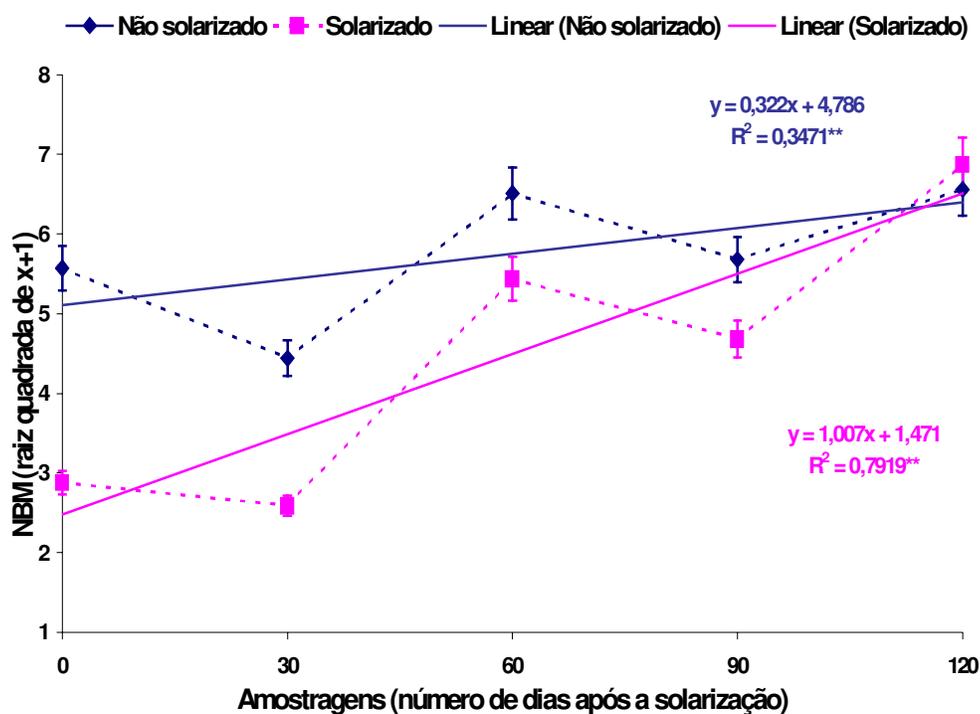


Figura 5. Nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), em $\mu\text{N g}^{-1}$ substrato, em amostras de substrato solarizado e não solarizado em função do tempo. Médias transformadas em raiz quadrada de x+1, de 4 repetições. I: desvio padrão. ** regressão significativa a 1%.

Como se pode observar na figura, assim como ocorreu com o carbono da biomassa microbiana, a solarização do substrato provocou uma queda no teor de nitrogênio da biomassa microbiana. Pela análise de variância, houve diferenças significativas a 1% entre os substratos solarizado e não solarizado, as amostragens no tempo e também na interação dos dois fatores.

Assim, como foi discutido no item anterior para o carbono da biomassa microbiana, o nitrogênio da biomassa microbiana também sofreu alterações nas diferentes amostragens feitas no tempo, independente do tratamento de solarização. Como foi comentado, a comunidade microbiana sofre forte influência de fatores ambientais, que é refletida pelos diferentes teores de nitrogênio da biomassa microbiana. Os fatores ambientais, como temperatura, umidade, condutividade elétrica, disponibilidade de nutrientes, exsudatos radiculares etc., não foram acompanhados de maneira detalhada neste trabalho por não ser esse o seu objetivo. Pode-se, no entanto, encontrar alguns trabalhos que citam resultados semelhantes comprovando essa influência (Abril et al., 2001; Puri & Ashman 1998; Venzke Filho, 2003). As flutuações sazonais de temperatura e umidade também influenciam a atividade microbiana medida pela mineralização do nitrogênio, liberação de CO₂ e quociente metabólico (Espindola et al, 2001; Kaiser et al., 2005).

Nas três primeiras amostragens, o teor de nitrogênio da biomassa microbiana foi significativamente mais baixo no substrato solarizado do que no não solarizado, comprovando que realmente houve um efeito negativo da solarização sobre a microbiota. Nas amostragens feitas aos 90 e 120 dias após a solarização, não houve diferenças significativas entre o teor de NBM nos substratos solarizado e não solarizado (Quadro 3). Esse resultado demonstra que houve uma alteração da microbiota provavelmente durante a solarização do substrato. Há que se lembrar que o NBM reflete, além da “quantidade” de microrganismos, sua “qualidade”, isto é, grupos microbianos com diferentes teores de nitrogênio em sua própria biomassa. As regressões (figura 5) demonstram que, embora a regressão para as amostragens no substrato não solarizado tenha sido significativa, o coeficiente de determinação foi baixo (0,35), indicando que pouco dessa variação foi dada

pelo tempo, sendo que outros fatores como, por exemplo, a variação de umidade, temperatura, exsudatos radiculares e quantidade de matéria orgânica no substrato, possam ter influenciado essa variável. Para o substrato solarizado o coeficiente de determinação foi mais alto (0,79) mostrando que, além da influência desses fatores, com o tempo o nitrogênio da biomassa aumentou, o que sugere uma recuperação da microbiota que se estabeleceu após a solarização.

Neste trabalho não se realizou a análise química do substrato nos períodos de amostragem, mas, como vimos na literatura (Patrício et al. 2005; Ghini et al. 2003; Ghini et al. 2002; Oliveira et al. 2002; Sinigaglia et al. 2001, Lopes et al. 2000; Gamliel & Katan, 1991, entre outros), a solarização faz com que haja uma elevação na quantidade de nutrientes no solo, pela disponibilização dos nutrientes presentes na biomassa microbiana. É possível que, depois da morte dos microrganismos pela solarização, haja conseqüente mineralização dos nutrientes. Com o passar do tempo, esses nutrientes disponíveis em forma mineral no solo devem ter sido imobilizados novamente, favorecendo, após 90 dias, o crescimento de algumas populações, cujo protoplasto tem relação C/N menor. Portanto, o nitrogênio disponível no substrato teria sido imobilizado, fazendo com que os valores de nitrogênio da biomassa microbiana tenham se igualado ao do substrato não solarizado, diferente do que aconteceu com o CBM.

Analisando-se as correlações, apresentadas no quadro 20, na página 83, observou-se que o teor de carbono da biomassa microbiana correlacionou-se positivamente com o nitrogênio da biomassa microbiana (0,61**).

c. Relação entre Carbono e Nitrogênio da Biomassa Microbiana (C/N)

Os dados da relação entre carbono e nitrogênio da biomassa microbiana estão representados pelo quadro 4 e pela figura 6. Houve diferenças estatisticamente significativas entre a relação C/N da biomassa microbiana para os tratamentos de solarização do substrato, amostragens no tempo e para a interação dos dois fatores.

A relação entre carbono e nitrogênio da biomassa microbiana foi maior no substrato solarizado apenas na primeira amostragem, que ocorreu logo após a solarização. Nas amostragens seguintes essa diferença não foi significativa (Quadro 4).

Quadro 4. Relação entre carbono e nitrogênio da biomassa microbiana (C/N) em função da solarização e amostragens no tempo. Médias originais de 4 repetições.

Tratamentos	Amostragens, em dias após a solarização				
	0	30	60	90	120
Não Solarizado	27,13 B	26,89 A	32,22 A	28,70 A	19,71 A
Solarizado	110,58 A	49,74 A	37,16 A	38,22 A	18,23 A

Valores de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pela análise de variância GLM Proc do SAS ao nível de 1%.

Coefficiente de variação = 12,00%, referente à análise de variância com dados transformados em $\log(x+1)$.

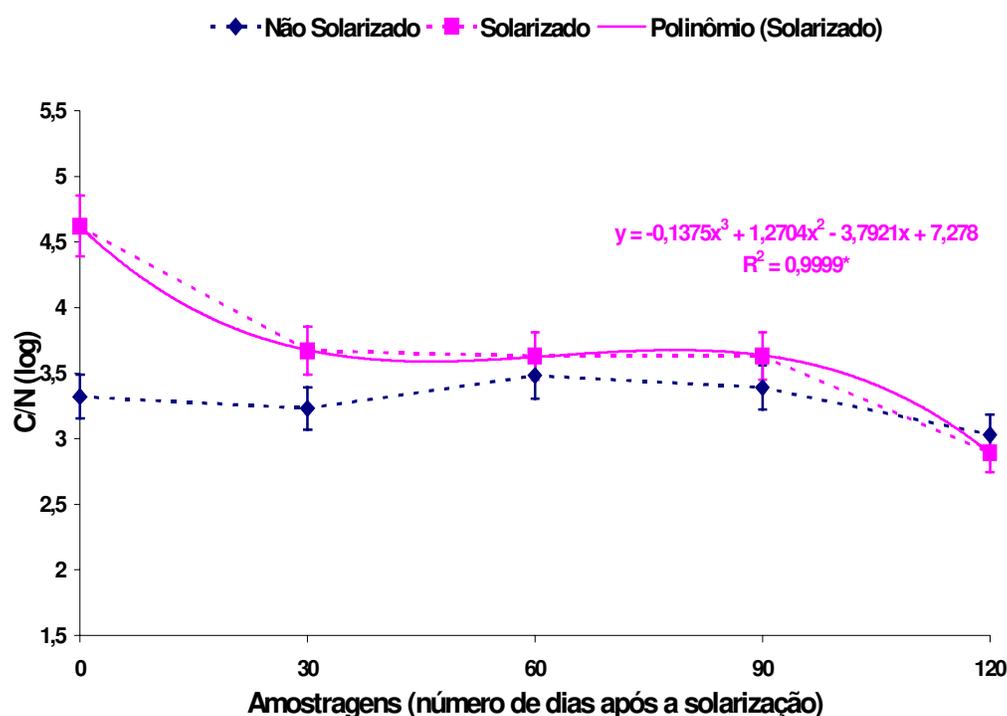


Figura 6. Relação entre carbono e nitrogênio da biomassa microbiana (C/N) em amostras de substrato solarizado e não solarizado em função do tempo. Médias transformadas em $\log(x+1)$ de 4 repetições. I: desvio padrão. * regressão significativa a 5%.

A análise estatística mostrou que não houve influência do tempo sobre a relação C/N no substrato não solarizado, sendo que a regressão não foi significativa para esse tratamento. Para o substrato solarizado, a regressão foi significativa e o ajuste obtido foi o polinomial de terceiro grau, mostrando uma relação C/N maior na primeira amostragem que com o tempo foi diminuindo, voltando ao que era antes da solarização (Figura 6).

Logo após a solarização, deve ter ocorrido a redução considerável de alguns grupos de microrganismos mais susceptíveis às temperaturas elevadas. Assim, era de se esperar que houvesse uma mudança na relação entre carbono e nitrogênio da biomassa microbiana do substrato solarizado em relação ao substrato não solarizado, levando-se em consideração que a composição de carbono e nitrogênio do protoplasto de diferentes espécies microbianas não é a mesma (Van Veen & Paul, 1979). De modo geral, os microrganismos saprófitas, entre eles muitos fungos antagonistas, são mais tolerantes ao calor e sobrevivem à solarização (Ghini, 1997; Pinto & Moraes, 2003). Segundo Van Veen & Paul (1979) a composição do protoplasto de fungos apresenta uma relação C/N mais elevada do que das bactérias (37,3/1 e 4,5/1, respectivamente), podendo ser essa a razão de a relação C/N ter aumentado após a solarização do substrato. Da mesma forma que Van Veen & Paul (1979), Moore et al. (2000) citam que relações entre carbono e nitrogênio da biomassa maiores que seis sugerem a dominância de fungos na comunidade microbiana, como a que foi observada aqui (Quadro 4). De maneira geral, os valores da razão entre carbono e nitrogênio da biomassa microbiana foram altos para todos os tratamentos, variando em média entre 20 e 40. Isso pode ter ocorrido por causa da adição de matéria orgânica (cama-de-frango) ao solo, que deve ter favorecido o crescimento de determinado grupo de microrganismos, como os fungos, cuja razão C/N do protoplasto é maior. A razão entre o carbono e nitrogênio da matéria orgânica influencia a imobilização do nitrogênio pelos microrganismos (Akhtar & Malik, 2000; Marques et al., 2000).

Donzeli (2002) verificou que houve um aumento da relação C/N da biomassa microbiana proporcional às doses de nitrogênio, na forma de uréia, adicionadas ao solo. Esses resultados podem estar de acordo com o que ocorreu neste trabalho, ou seja, a solarização pode ter sido responsável por uma maior liberação de nitrogênio no substrato (Patrício et al., 2005) favorecendo o aumento da relação C/N da biomassa microbiana na primeira amostragem. Nas amostragens seguintes, a relação C/N foi igual para os

tratamentos, evidenciando uma possível recuperação da microbiota, que, com o tempo, possivelmente voltou ao que era antes da solarização. A equação de terceiro grau que explica a relação C/N no substrato ao longo dos quatro meses do experimento descreve um fenômeno cíclico, para o qual devem ter concorrido justamente as interações do nitrogênio disponível e da microbiota em desenvolvimento a cada amostragem. Também devem ter influenciado, nesse aspecto, outros nutrientes, não avaliados neste trabalho.

d. Liberação de CO₂ pela Respiração dos Microrganismos do Solo

O quadro 5 e a figura 7 apresentam os dados de liberação de CO₂ pela respiração dos microrganismos do solo. Houve diferenças estatisticamente significativas entre os valores de liberação de CO₂ para os tratamentos de solarização, amostragem no tempo e interação dos dois fatores.

Quadro 5. CO₂ liberado, em $\mu\text{C-CO}_2 \text{ g solo}^{-1}$ em amostras de substrato em função da solarização e amostragens no tempo. Médias originais de 4 repetições.

Tratamentos	Amostragens, em dias após a solarização				
	0	30	60	90	120
Não Solarizado	106,15 A	86,59 A	92,90 A	82,22 A	83,85 A
Solarizado	99,26 A	70,09 B	92,59 A	82,40 A	82,80 A

Valores de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pela análise de variância GLM Proc do SAS ao nível de 1%.

Coefficiente de variação = 6,88%, referente à análise de variância com dados transformados em $\log(x+1)$.

Analisando-se o quadro, observa-se que há uma pequena diferença entre os valores de liberação de CO₂ no solo solarizado e não solarizado nas primeiras amostragens. Porém essa diferença só se apresenta estatisticamente significativa na segunda amostragem, onde a liberação de CO₂ é menor no substrato solarizado do que no substrato não solarizado. Nas amostragens seguintes, parece que o equilíbrio é novamente restabelecido, sendo que não houve diferenças entre substrato solarizado e não solarizado para essa variável.

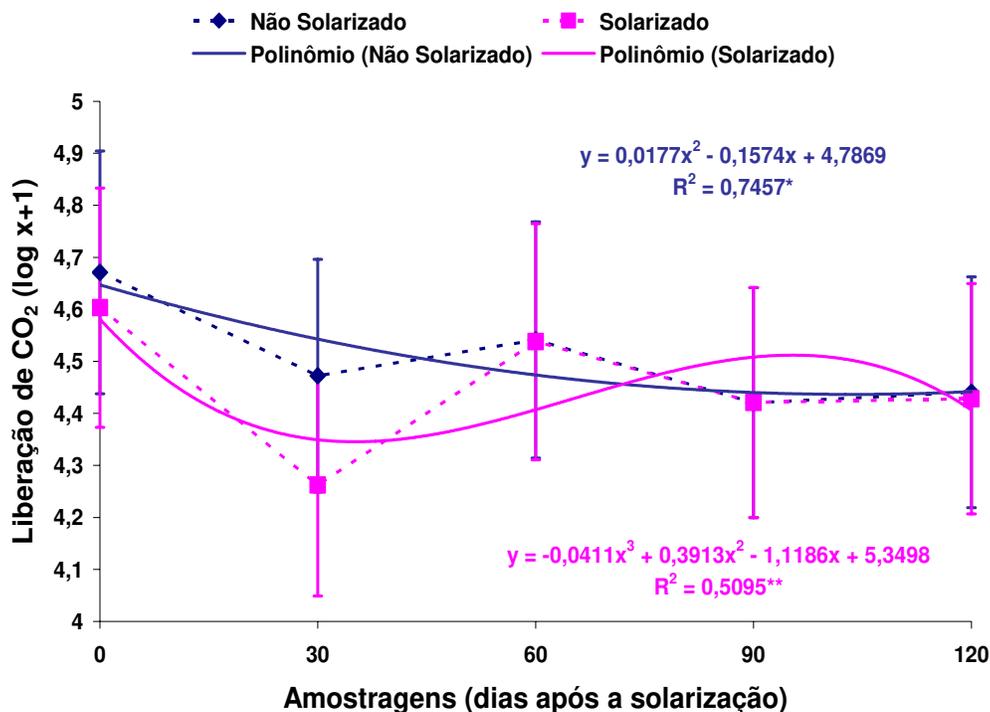


Figura 7. CO₂ liberado, em $\mu\text{C-CO}_2 \text{ g substrato}^{-1}$ em amostras de substrato solarizado e não solarizado em função do tempo. Médias transformadas em $\log x+1$, de 4 repetições. I: desvio padrão. * e ** regressões significativas a 5 e a 1%, respectivamente.

As análises de regressão foram significativas para ambas as curvas (figura 7), sendo que a regressão polinomial de segundo grau teve um ajuste melhor para o substrato não solarizado com $r^2=0,7457$. A atividade microbiana no substrato solarizado seguiu uma outra tendência, sendo que a equação de terceiro grau: $y = -0,0411x^3 + 0,3913x^2 - 1,1186x + 5,3498$, com $R^2 = 0,5095$, se ajustou melhor à curva, embora o coeficiente de correlação tenha sido baixo, indicando que outros fatores tiveram influência nessa variável. A variação na respiração pode ter sido dada, principalmente, pela variação na quantidade de matéria orgânica proveniente de restos de raízes que devem ter ficado nos vasos, após a retirada das plantas, ao final de quarenta e cinco dias após as semeaduras. Os exsudatos radiculares de plantas, de diferentes idades no momento da amostragem, também podem ter colaborado para que houvesse essa variação na atividade microbiana.

Levando-se em consideração esses resultados e comparando-os aos da biomassa microbiana, podemos concluir que houve realmente uma redução na comunidade

microbiana do solo, sendo que os valores que representam a respiração dos microrganismos do solo foram inicialmente menores em substrato solarizado e posteriormente restabelecidos igualando-se aos valores encontrados em substrato não solarizado. A equação de terceiro grau reflete a interação entre os fenômenos decorrentes da solarização e as transformações que normalmente ocorreriam no substrato, em função de outros fatores, representando um fenômeno cíclico. Devemos considerar a possibilidade de que algumas populações devem ter sido mais afetadas que outras e que algumas espécies microbianas mais competitivas podem ter se beneficiado com a diminuição da comunidade microbiana pela solarização, aumentando seu número com o passar do tempo, reforçando o fato de a quantidade de carbono da biomassa microbiana ter sido menor, de maneira geral, enquanto que o NBM e a liberação de CO₂ apresentaram uma interação significativa com as amostragens no tempo. Os resultados de atividade respiratória encontrados neste trabalho diferem dos obtidos por Barros et al. (2004), que encontraram valores estatisticamente iguais para liberação de CO₂ nos solos solarizado e não solarizado, em amostragem feita aos 30 dias após a solarização em campo. Os autores também não obtiveram resultados significativamente diferentes de carbono da biomassa microbiana para os tratamentos, sugerindo que a solarização do solo feita em campo, com filme plástico, não afetou a microbiota da mesma maneira que ocorreu neste trabalho, onde o substrato foi solarizado em coletor solar. No trabalho de Barros et al. (2004), os valores médios de temperatura variaram entre 44,2 e 43,6°C na camada superficial do solo (10 cm) por dois meses, enquanto que, neste trabalho, o substrato atingiu a temperatura de 70°C nos três dias em que permaneceu no coletor solar. Essa diferença de temperatura e tempo de exposição entre os dois experimentos pode ser a principal causa da diferença nos resultados: é bastante provável que as temperaturas e tempos de exposição diferentes tenham selecionado grupos microbianos muito diversos. Patrício et al. (2005) também não verificaram efeito estatisticamente significativo da solarização sobre a liberação de CO₂, embora o carbono da biomassa tenha sido menor nos solos solarizados. Torna-se difícil a comparação entre os resultados encontrados por esses autores e os deste trabalho porque, além de a solarização ter sido realizada de maneira diferente, as amostragens também não foram realizadas na mesma época.

Cruz (2003) encontrou resultados diferentes para a liberação de CO₂: houve um aumento da atividade respiratória durante o tratamento da solarização, que atingiu valores máximos nas parcelas com adição de matéria orgânica. A autora atribuiu esse aumento da atividade respiratória à degradação da matéria orgânica causada pelo aumento da temperatura do solo, gerando um estresse na comunidade microbiana, ou pela seleção de microrganismos eficientes na degradação da matéria orgânica do solo pela solarização; porém, a análise foi feita em amostragens realizadas durante o processo de solarização, enquanto que, neste trabalho, as amostragens foram feitas após a solarização.

Os resultados obtidos por Ghini et al. (2002) concordam com os de Cruz (2003). Os autores, analisando diferentes fontes de matéria orgânica adicionadas ao solo posteriormente submetido à solarização, observaram que, logo após a retirada do plástico, o solo com incorporação de cama-de-frango apresentou maior valor de liberação de CO₂ do que no solo não solarizado. Nas amostragens seguintes, aos 56 e 103 dias após o término da solarização, os valores de liberação de CO₂ pela respiração da microbiota do solo foram iguais no solo solarizado e não solarizado. Ghini et al. (2002) acreditam que a atividade microbiana foi maior no solo com adição de cama-de-frango, na primeira amostragem, motivada pela relação C/N associada ao alto teor de matéria orgânica, explicando que havia matéria orgânica disponível e nitrogênio suficiente para a sua decomposição. Neste trabalho também foi adicionada cama-de-frango ao solo; no entanto, os resultados encontrados foram diferentes dos encontrados por Ghini et al (2002). Esse fato pode ter ocorrido pela redução mais acentuada da biomassa microbiana pelas temperaturas mais elevadas atingidas no substrato no coletor solar. Mesmo que a matéria orgânica adicionada tivesse tido o efeito de elevação ou manutenção da atividade microbiana, esse efeito seria diluído, pois a comunidade microbiana estava menor na primeira amostragem. Ghini et al. (2002) não avaliaram a biomassa microbiana, tornando então impossível fazer esse tipo de comparação.

Ghini et al. (2003) não analisaram a atividade respiratória no experimento em que avaliaram o efeito da solarização sobre as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo; no entanto, verificaram uma redução na atividade microbiana medida pelo método de hidrólise de diacetato de fluoresceína, constatando que a solarização promoveu a morte de uma parcela de microrganismos, o que pode ter resultado na redução da atividade

microbiana, assim como se admite ter ocorrido neste trabalho. Também houve redução da atividade microbiana em decorrência da solarização em um trabalho desenvolvido por Gamliel e Stapleton (1993), onde foram adicionados resíduos de couve ao solo antes do tratamento.

e. Quociente Metabólico

Os resultados de quociente metabólico estão apresentados no quadro 6 e na figura 8. Houve diferenças estatisticamente significativas para os tratamentos de solarização, tempo e para a interação dos fatores solarização do substrato e amostragens no tempo.

Quadro 6. Quociente metabólico em amostras de substrato em função da solarização e amostragens no tempo. Médias originais de 4 repetições.

Tratamentos	Amostragens, em dias após a solarização				
	0	30	60	90	120
Não Solarizado	0,13 A	0,19 B	0,07 A	0,09 A	0,10 A
Solarizado	0,14 A	0,35 A	0,07A	0,11 A	0,11 A

Valores de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pela análise de variância GLM Proc do SAS ao nível de 1%.

Coefficiente de variação = 13,94%, referente à análise de variância com dados transformados em raiz quadrada de $(x + 1)$.

Assim como os dados de respiração de microrganismos do solo, os dados de quociente metabólico foram significativos apenas aos trinta dias após a solarização. O valor de quociente metabólico foi maior no substrato solarizado que no substrato não solarizado (Quadro 6), indicando que a comunidade microbiana estava consumindo mais carbono oxidável para a sua manutenção, ou seja, a eficiência da microbiota em incorporar o carbono foi maior no solo não solarizado, sendo que uma comunidade menor de microrganismos, no substrato solarizado, respirou na mesma proporção que uma comunidade maior no substrato não solarizado.

Esse resultado pode refletir a reação da microbiota ao estresse sofrido pela solarização, que resultou na sua diminuição. As populações mais resistentes a altas temperaturas, que sobreviveram à solarização, e mais competitivas começaram a se

restabelecer aumentando sua atividade metabólica sem que houvesse um aumento significativo na incorporação de carbono à biomassa microbiana total. Aos poucos, o equilíbrio deve ter sido restabelecido, sendo que nas amostragens seguintes não houve diferença de quociente metabólico entre os substratos solarizado e não solarizado. Sinigaglia et al. (2001) levantaram essa hipótese, de que após a solarização deve ter se estabelecido uma microbiota colonizadora, de crescimento rápido, porém ineficiente na utilização do carbono, ao observarem valores menores de quociente metabólico nos solos que não foram submetidos à solarização. Nesse trabalho foi feita apenas uma amostragem aos quinze dias após a solarização, não sendo possível observar o restabelecimento do equilíbrio na microbiota.

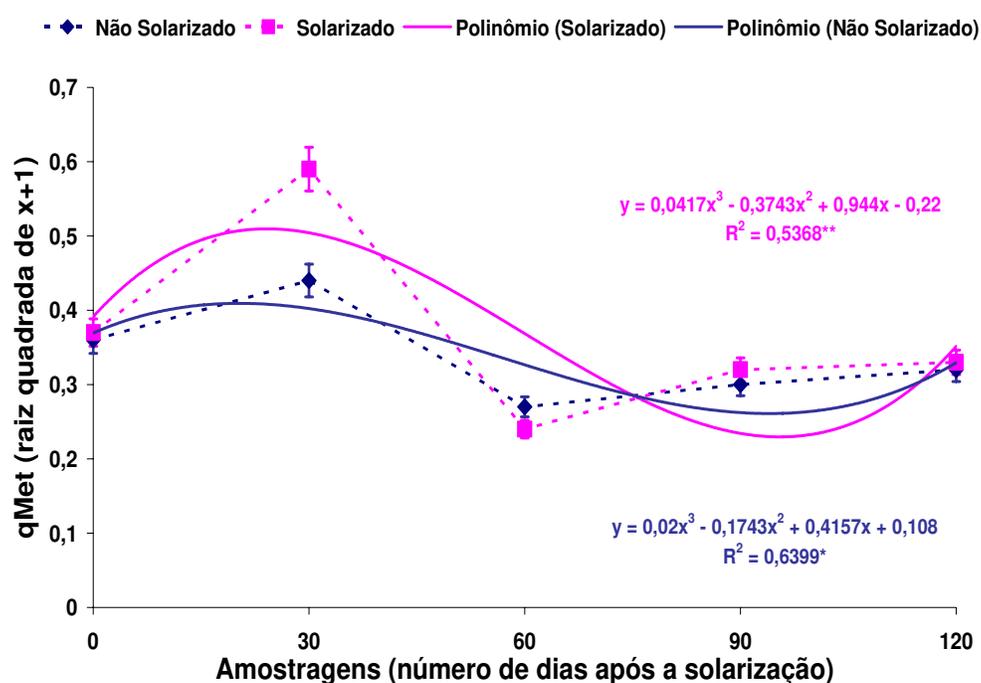


Figura 8. Quociente metabólico em amostras de solo solarizado e não solarizado em função do tempo. Médias transformadas em raiz quadrada de $x+1$ de 4 repetições. I: desvio padrão. * e regressões significativas a 5% e 1%, respectivamente.**

Freitas et al. (2002) obtiveram resultados de análises de carbono da biomassa microbiana, liberação de CO_2 e quociente metabólico com tendências semelhantes aos da primeira amostragem deste trabalho em uma análise feita 40 dias após a solarização do solo em campo.

As regressões (Figura 8) foram significativas para ambas as curvas, sendo que o coeficiente de determinação foi parecido para os tratamentos. O coeficiente de determinação baixo mostra, novamente, a interação do fator tempo com outros fatores, como: exsudação radicular, teor de matéria orgânica, temperatura e umidade do substrato, interferindo na variação da atividade microbiana.

O quociente metabólico correlacionou-se negativamente com o nitrogênio da biomassa microbiana (-0,56**), o que reforça a idéia de que a microbiota deve ter sofrido um estresse pela solarização, sendo que alguns grupos microbianos sobreviventes à solarização, de uma comunidade microbiana reduzida, respiraram mais, sem necessariamente incorporar uma quantidade significativa de carbono à biomassa total.

f. Quantificação de Microrganismos

Amonificadores

O quadro 7 e a figura 9 mostram os resultados da contagem de microrganismos amonificadores. A análise de variância mostrou resultados significativos para amostragem no tempo e para a interação entre os tratamentos de solarização e amostragens no tempo.

Quadro 7. Número de microrganismos amonificadores em amostras de substrato em função da solarização e amostragens no tempo. Médias originais de 4 repetições.

Tratamentos	Amostragens, em dias após a solarização				
	0	30	60	90	120
	células g ⁻¹ substrato				
Não Solarizado	178 x 10 ⁵ A	88,9 x 10 ⁵ A	562 x 10 ⁵ A	203 x 10 ⁵ A	396 x 10 ⁵ A
Solarizado	6,03 x 10 ⁵ B	277 x 10 ⁵ A	207 x 10 ⁵ A	599 x 10 ⁵ A	977 x 10 ⁵ A

Valores de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pela análise de variância GLM Proc do SAS ao nível de 1%.

Coefficiente de variação = 5,13%, referente à análise de variância com dados transformados em log x + 1.

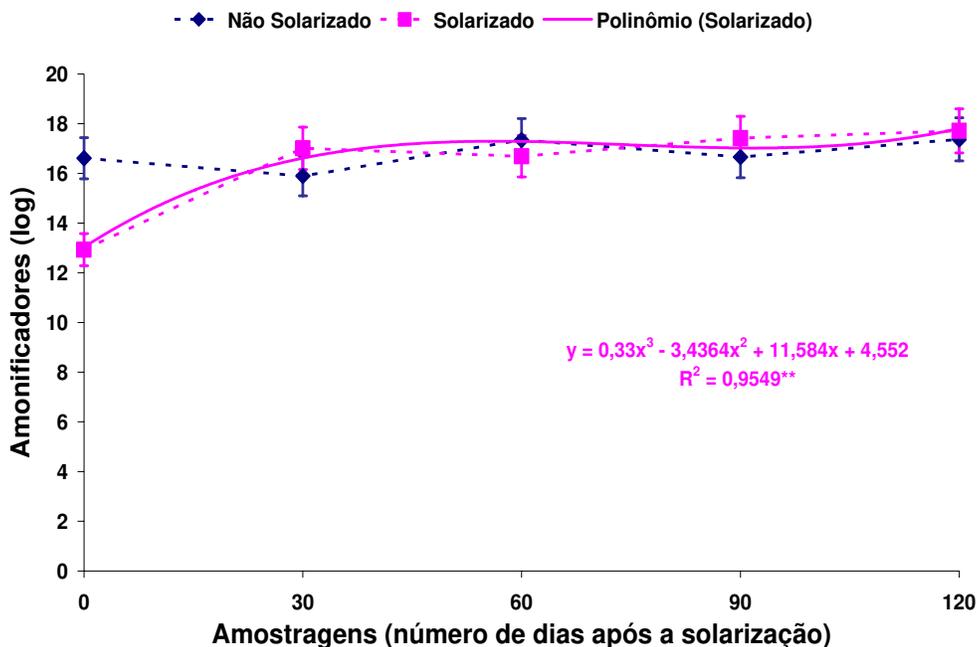


Figura 9. Número de microrganismos amonificadores (células g⁻¹ substrato) em amostras de substrato solarizado e não solarizado em 5 amostragens no tempo. Médias transformadas em log (x+1) de 4 repetições. I: desvio padrão. ** regressão significativa a 1%.

Houve uma redução dos microrganismos amonificadores logo após a solarização (Quadro 7), estatisticamente significativa a 1%. Na segunda amostragem, o número de microrganismos aumentou, igualando-se estatisticamente ao número de amonificadores do substrato não solarizado e assim permaneceu nas amostragens seguintes. Essa rápida volta aos números iniciais deve-se, pelo menos em parte, ao amplo espectro de populações que atuam nesse nicho. Dessa forma, a função de amonificação do solo, mesmo após a solarização, não demorou a se recompor.

A regressão cúbica para o tratamento solarizado (Figura 9) confirma essa idéia, mostrando que, o tempo pode influenciar (em 95% das vezes) na recuperação dos microrganismos amonificadores do substrato solarizado, permitindo que eles voltem ao número encontrado antes da solarização. Demonstra, também, novamente, a interação entre os fenômenos decorrentes da solarização e a variação que ocorre naturalmente no número desses microrganismos dependente de fatores climáticos e nutricionais. Para o substrato

não solarizado, a variação no tempo não foi o fator a determinar as variações do número de amonificadores, sendo que a regressão não foi significativa para esse tratamento.

Houve uma correlação positiva entre o número de amonificadores e o teor de nitrogênio da biomassa microbiana (0,51**), demonstrando que a diminuição do nitrogênio imobilizado na primeira amostragem deve ter ocorrido principalmente em função da morte desses microrganismos bem como seu restabelecimento nas amostragens seguintes (Quadro 20). Assim, conseqüentemente, a relação C/N da biomassa microbiana correlacionou-se negativamente com esses microrganismos (-0,55**).

Nitrificadores

Os resultados da contagem de microrganismos nitritadores estão apresentados no quadro 8 e na figura 10. A análise de variância mostrou resultados significativos para as médias dos tratamentos de amostragem no tempo e solarização e para a interação entre ambos.

Quadro 8. Número de microrganismos nitritadores em amostras de substrato em função da solarização e amostragens no tempo. Médias originais de 4 repetições.

Tratamentos	Amostragens, em dias após a solarização				
	0	30	60	90	120
	células g ⁻¹ substrato				
Não Solarizado	62,4 x 10 ² A	52,8 x 10 ² B	117 x 10 ² B	255 x 10 ² B	483 x 10 ² B
Solarizado	2,79 x 10 ² B	485 x 10 ² A	592 x 10 ² A	871 x 10 ² A	1440 x 10 ² A

Valores de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pela análise de variância GLM Proc do SAS ao nível de 1%.

Coefficiente de variação =6,87 %, referente à análise de variância com dados transformados em log (x + 1).

Houve uma redução dos microrganismos nitritadores logo após a solarização (Quadro 8), estatisticamente significativa a 1%. Na segunda amostragem, o número desses microrganismos aumentou, sendo que foi estatisticamente maior para os tratamentos de solarização do substrato e assim continuou nas amostragens seguintes. Provavelmente, a solarização disponibilizou grandes quantidades de nitrogênio na forma amoniacal no

substrato pela degradação da matéria orgânica adicionada e morte de microrganismos (Patrício et al., 2005), favorecendo o aumento dos que utilizam o amônio como substrato a partir da segunda amostragem. Na primeira amostragem, como o número de nitrificadores foi menor, é possível que eles tenham sido mortos pela solarização, resultando nessa comunidade menor. No entanto, com o maior fornecimento de amônio, a manutenção do número desses microrganismos em relação ao substrato não solarizado manteve-se pelas amostragens seguintes.

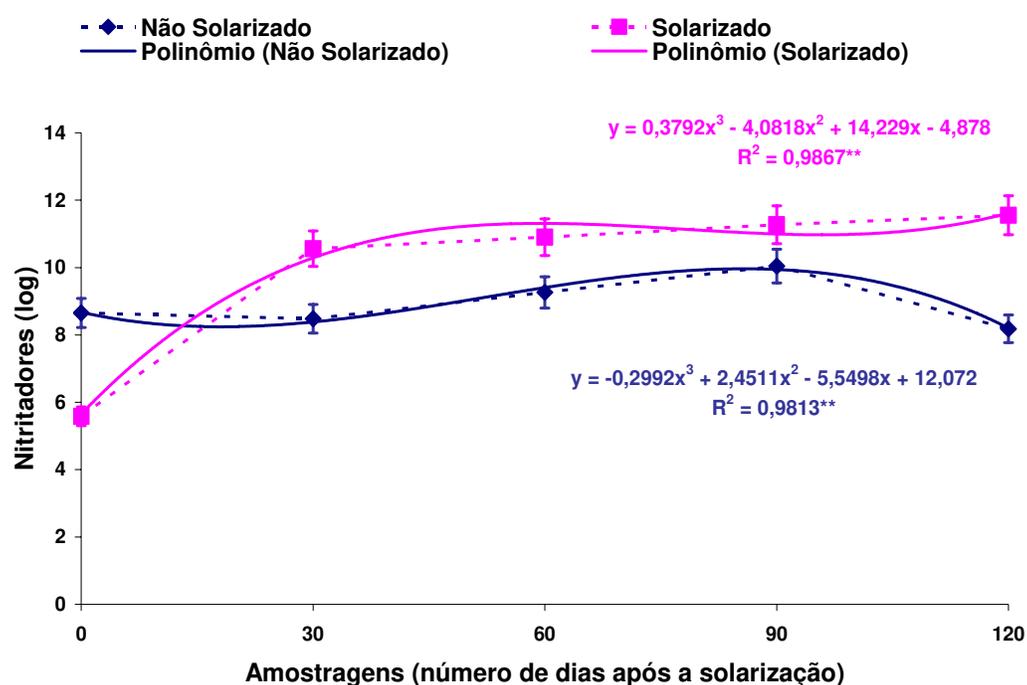


Figura 10. Número de microrganismos nitrificadores (células g^{-1} substrato) em amostras de substrato solarizado e não solarizado em cinco amostragens no tempo. Médias transformadas em $\log x+1$, de quatro repetições. I: desvio padrão. ** regressão significativa a 1%.

As regressões significativas para ambas as curvas mostraram que o tempo foi responsável em grande parte ($r^2=0,98$) pela variação no número de microrganismos nitrificadores nos dois tratamentos, embora tenham apresentado curvas com inclinações opostas, ou seja, o tempo teve uma ação diferente sobre o número de microrganismos nitrificadores em cada substrato, para o período estudado.

O número de microrganismos amonificadores correlacionou-se positivamente com o número de microrganismos nitrificadores ($0,62^{**}$), o que era de se esperar, já que esses microrganismos participam de um ciclo, onde amonificadores fornecem substrato para o crescimento de nitrificadores.

O número de microrganismos nitrificadores apresentou-se, pela análise de variância, significativamente diferente entre as médias dos tratamentos de solarização e amostragens no tempo, bem como para a interação entre esses fatores (Figura 11 e Quadro 9).

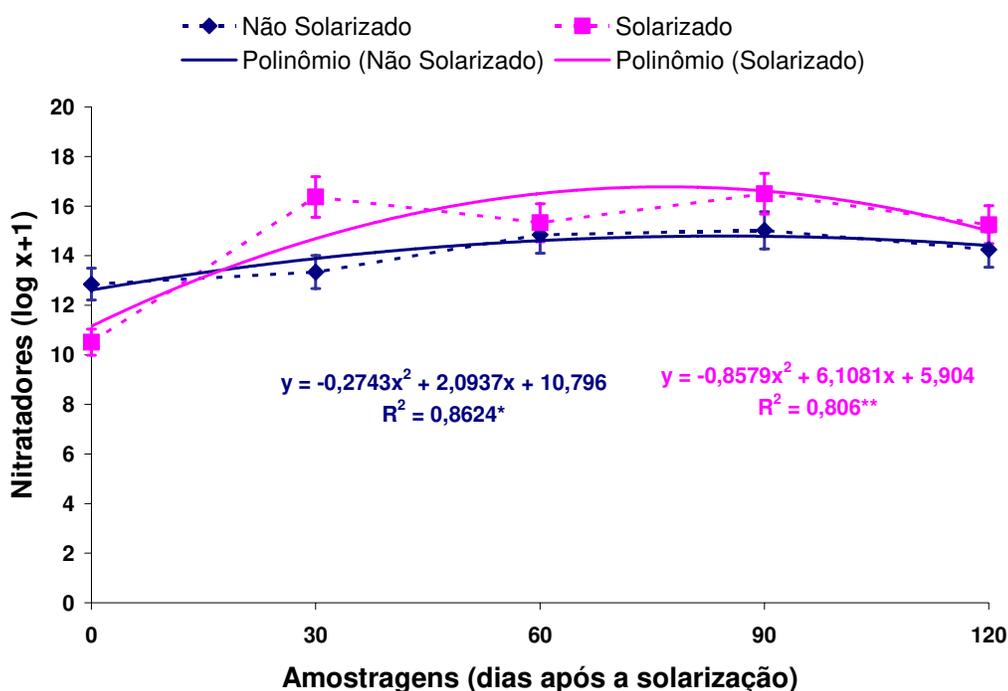


Figura 11. Número de microrganismos nitrificadores (células g^{-1} substrato) em substrato solarizado e não solarizado em cinco amostragens no tempo. Médias transformadas em $\log x+1$, de quatro repetições. I: desvio padrão. * e ** regressões significativas a 5% e 1%, respectivamente.

As regressões representadas pela figura 11, mostram que os números de microrganismos nitrificadores sofreram influência do tempo em ambos os tratamentos, sendo que apresentaram uma mesma tendência.

Quadro 9. Número de microrganismos nitratores em amostras de substrato em função da solarização e amostragens no tempo. Médias originais de 4 repetições.

Tratamentos	Amostragens, em dias após a solarização				
	0	30	60	90	120
	células g ⁻¹ substrato				
Não Solarizado	4,46 x 10 ⁵ A	6,49 x 10 ⁵ B	29,4 x 10 ⁵ A	37,2 x 10 ⁵ b	22,8 x 10 ⁵ A
Solarizado	0,37 x 10 ⁵ B	152 x 10 ⁵ A	57,9 x 10 ⁵ A	202 x 10 ⁵ a	77,0 x 10 ⁵ A

Valores de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pela análise de variância GLM Proc do SAS ao nível de 1% (letras maiúsculas) e 5% (letras minúsculas).

Coefficiente de variação = 5,47%, referente à análise de variância com dados transformados em $\log x + 1$.

Como se pode observar no quadro 9, a solarização do substrato reduziu o número de microrganismos nitratores em mais de 10 vezes; no entanto, na segunda amostragem o número desses microrganismos foi significativamente maior no substrato solarizado. Nas amostragens seguintes, o número de nitratores foi estatisticamente igual para ambos os tratamentos, com exceção da terceira amostragem que apresentou uma diferença significativa, a 5%, quando foi maior no substrato solarizado, podendo ser resultado da disponibilidade de nitrito nesse substrato, já que o número de nitritadores foi maior no tratamento que recebeu solarização em todas as amostragens a partir do primeiro mês.

O número de microrganismos nitratores apresentou correlação significativa com o número de nitritadores (0,83**), sendo um indicativo de comprovação dessa afirmação, mostrando resultados coerentes com a sucessão microbiana. Houve correlação significativa, também, entre o número de microrganismos nitratores e amonificadores (0,74**), o que também era esperado, já que esse último grupo fornece substrato para o crescimento de nitritadores que subseqüentemente disponibilizam substrato para o crescimento de nitratores.

Celulolíticos

O número de microrganismos celulolíticos, em substrato solarizado e não solarizado, em cinco amostragens no tempo, está representado pelo quadro 10 e figura 12.

Quadro 10. Número de microrganismos celulolíticos em amostras de substrato em função da solarização e amostragens no tempo. Médias originais de 4 repetições.

Tratamentos	Amostragens, em dias após a solarização				
	0	30	60	90	120
	células g ⁻¹ substrato				
Não Solarizado	297 x 10 ³ A	33,3 x 10 ³ B	14,3 x 10 ³ B	88,4 x 10 ³ A	13,3 x 10 ³ A
Solarizado	26,5 x 10 ³ B	469 x 10 ³ A	354 x 10 ³ A	65,6 x 10 ³ A	8,15 x 10 ³ A

Valores de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pela análise de variância GLM Proc do SAS ao nível de 1%.

Coefficiente de variação = 7,1 %, referente à análise de variância com dados transformados em $\log x + 1$.

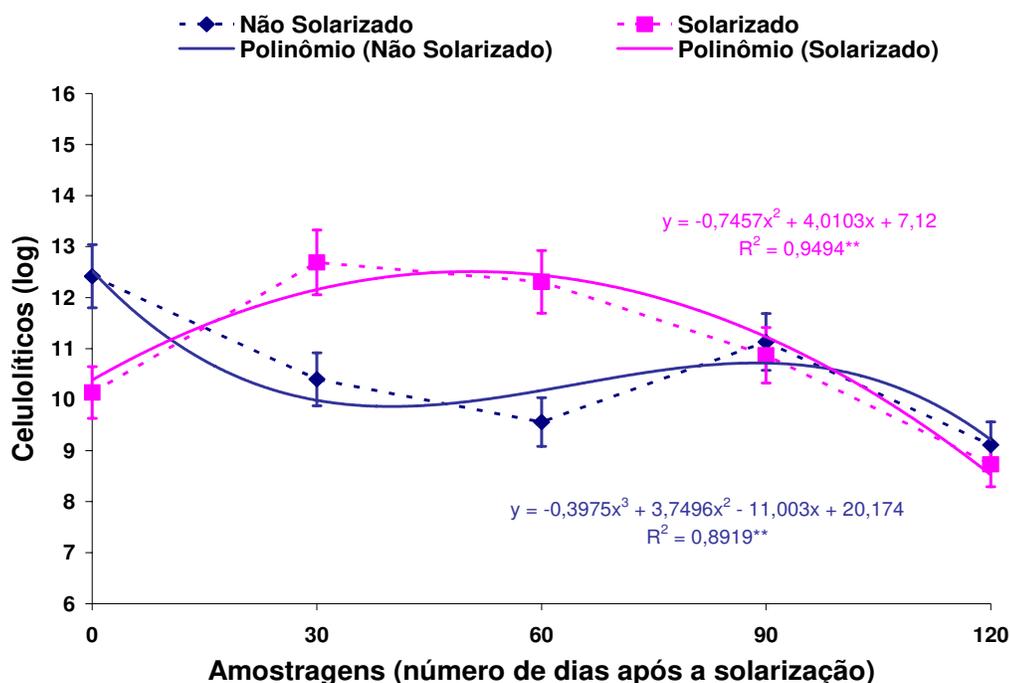


Figura 12. Número de microrganismos celulolíticos (células g⁻¹ substrato) em substrato solarizado e não solarizado em 5 amostragens feitas ao longo do tempo. Médias transformadas em $\log(x+1)$, de quatro repetições. I: desvio padrão. * e ** regressões significativas a 5 e 1%, respectivamente.

Os resultados da contagem desses microrganismos foram estatisticamente diferentes, significativos ao nível de 1 %, para as amostragens no tempo e para a interação entre amostragens no tempo e solarização do substrato. Como se observa no quadro 10, na primeira amostragem, o número de microrganismos celulolíticos foi inferior no substrato

solarizado. Nas duas amostragens seguintes esse fato se inverteu, sendo que o número de microrganismos celulolíticos no substrato solarizado aumentou em relação ao substrato não solarizado e nas duas últimas amostragens o número de celulolíticos foi igual para os dois tratamentos, demonstrando novamente que, embora a solarização tenha afetado imediatamente a comunidade de microrganismos celulolíticos, a microbiota deve ter se restabelecido. Mesmo que não tenham sido as mesmas espécies de microrganismos a se restabelecerem, ao menos funcionalmente houve uma recuperação.

A regressão significativa para o substrato solarizado, representada pela figura 12, sugere que o tempo influenciou fortemente para que a comunidade de celulolíticos voltasse a se igualar à do substrato não solarizado. Nesse caso, a mesma tendência não foi significativa para os microrganismos presentes no substrato não solarizado. Porém, a curva de crescimento dos microrganismos celulolíticos, nesse tratamento, ajustou-se significativamente à curva polinomial de terceiro grau, sugerindo que o tempo influenciou de maneira diferente a variação de crescimento desses microrganismos.

Amilolíticos

O quadro 11 e a figura 13 apresentam os dados da contagem de microrganismos amilolíticos em substratos solarizado e não solarizado, em amostragens feitas ao longo do tempo. Houve diferenças significativas a 1% no número de microrganismos amilolíticos para as amostragens no tempo e para a interação entre os tratamentos de solarização e amostragens ao longo do tempo.

O número de microrganismos amilolíticos no substrato foi reduzido quando recebeu o tratamento da solarização. Pode-se verificar esse resultado observando-se os dados da primeira amostragem, onde o número desses microrganismos foi maior no substrato não solarizado. No entanto, da segunda amostragem em diante, o número de microrganismos amilolíticos no substrato solarizado se igualou ao do tratamento que não recebeu a solarização. Como ocorreu para os outros grupos microbianos citados anteriormente, esse grupo funcional, embora afetado pela solarização, logo se restabeleceu.

Quadro 11. Número de microrganismos amilolíticos em amostras de substrato em função da solarização e amostragens no tempo. Médias originais de 4 repetições.

Tratamentos	Amostragens, em dias após a solarização				
	0	30	60	90	120
	células g ⁻¹ substrato				
Não Solarizado	23,0 x 10 ⁶ A	69,7 x 10 ⁶ A	28,6 x 10 ⁶ A	38,0 x 10 ⁶ A	13,1 x 10 ⁶ A
Solarizado	2,15 x 10 ⁶ B	82,3 x 10 ⁶ A	39,0 x 10 ⁶ A	50,6 x 10 ⁶ A	85,6 x 10 ⁶ A

Valores de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pela análise de variância GLM Proc do SAS ao nível de 1%.

Coefficiente de variação = 5,88 %, referente à análise de variância com dados transformados em $\log(x + 1)$.

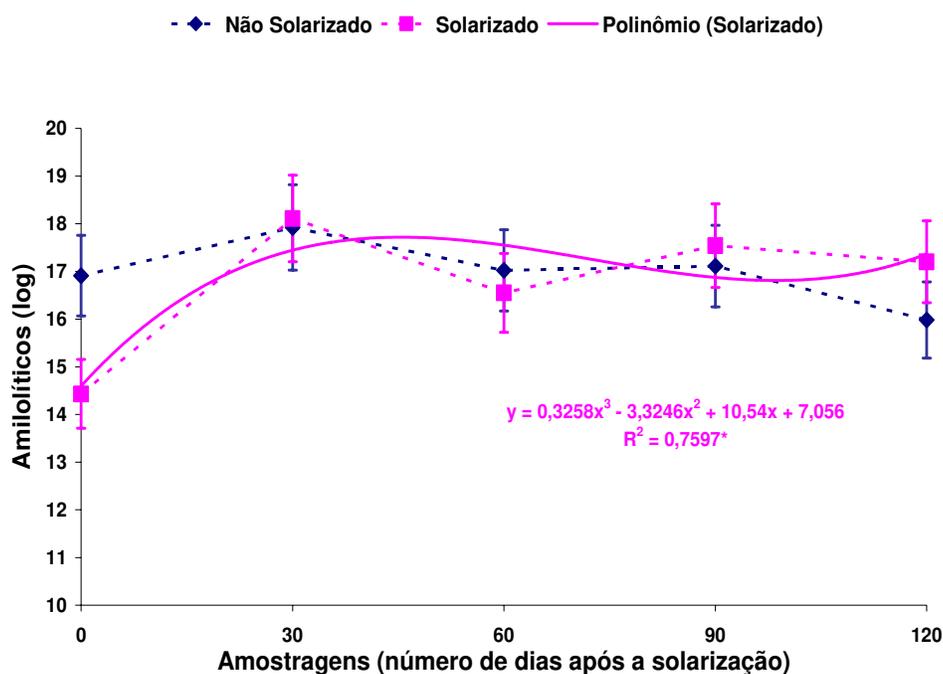


Figura 13. Número de microrganismos amilolíticos (células g⁻¹ substrato) em substratos solarizado e não solarizado em cinco amostragens no tempo. Médias transformadas em $\log(x+1)$, de quatro repetições. I: desvio padrão. * regressão significativa a 5%.

A regressão significativa para os microrganismos amilolíticos em substrato solarizado, mostra que a variação ocorrida sofreu influência do tempo, diferente do que

aconteceu com os microrganismos do substrato não solarizado, que não sofreram essa influência, o que sugere a regressão não significativa para esse fator (Figura 13).

O número de microrganismos amilolíticos correlacionou-se positivamente com o número de microrganismos amonificadores (0,54**), nitritadores (0,51**) e nitratadores (0,59**), mostrando que esse grupo funcional foi afetado da mesma maneira que outros pela solarização, além de evidenciar a existência da sucessão microbiana onde há uma interação entre os microrganismos, sendo que um grupo disponibiliza nutrientes essenciais para o crescimento de outro e assim sucessivamente.

Proteolíticos

Os resultados da contagem de microrganismos proteolíticos estão apresentados no quadro 12 e na figura 14.

Houve uma diferença significativa no número de microrganismos proteolíticos entre as amostragens feitas ao longo do tempo e para a interação dos tratamentos de solarização e amostragens no tempo.

Quadro 12. Número de microrganismos proteolíticos em amostras de substrato em função da solarização e amostragens no tempo. Médias originais de 4 repetições.

Tratamentos	Amostragens, em dias após a solarização				
	0	30	60	90	120
	células g ⁻¹ substrato				
Não Solarizado	39,9 x 10 ² A	3,85 x 10 ² A	30,1 x 10 ² A	5,93 x 10 ² A	19,0 x 10 ² A
Solarizado	184 x 10 ² A	1,05 x 10 ² A	0,57 x 10 ² B	2,17 x 10 ² A	55,6 x 10 ² A

Valores de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pela análise de variância GLM Proc do SAS ao nível de 1%.

Coeficiente de variação = 20,50%, referente à análise de variância com dados transformados em log (x + 1).

Inicialmente, a solarização do substrato não afetou o número de microrganismos proteolíticos, sendo que nas duas primeiras amostragens o número desses microrganismos foi igual para os dois tratamentos: presença e ausência de solarização. Na terceira

amostragem, feita aos 60 dias após a solarização, o substrato solarizado apresentou um menor número de proteolíticos do que o substrato não solarizado. Nas amostragens seguintes, o número desses microrganismos voltou a ser igual nos dois substratos.

Houve uma correlação negativa altamente significativa dos microrganismos proteolíticos com os microrganismos nitritadores (-0,59**) e nitratadores (-0,60**), apresentadas no quadro 20, da página 83.

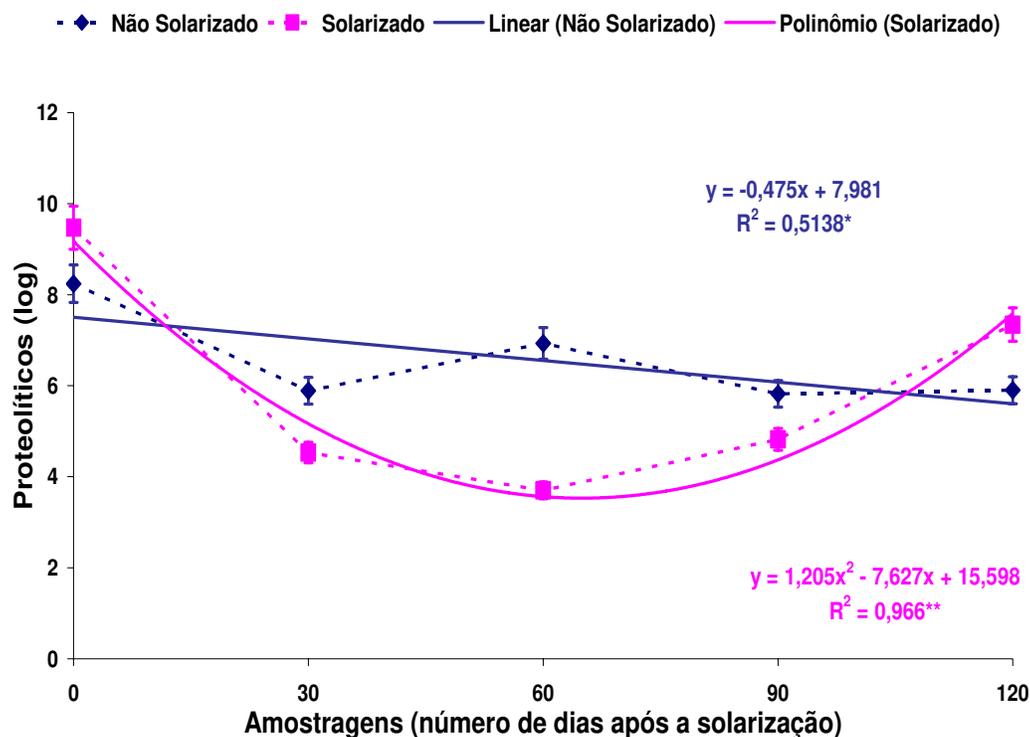


Figura 14. Número de microrganismos proteolíticos (células g^{-1} substrato) em substrato solarizado e não solarizado em 5 amostragens feitas ao longo do tempo. Médias transformadas em $\log x+1$, de quatro repetições. I: desvio padrão. * e ** regressões significativas a 5% e 1%, respectivamente.

Kubat et al. (1999) estudaram o efeito de diferentes tipos de adubação sobre o número e atividade de microrganismos proteolíticos e observaram que, ao contrário da adubação orgânica, que estimulou o crescimento desses microrganismos, a adubação com fertilizante mineral foi responsável pela redução da comunidade de proteolíticos a menos da metade, em comparação à testemunha.

A adição de cama-de-frango – com a conseqüente presença de substrato para os proteolíticos – no solo pode ter ainda favorecido o crescimento desses microrganismos no tratamento que não recebeu solarização, à semelhança do que relataram Togmitova et al. (1998): observaram que a adição de adubação orgânica estimulou o crescimento de microrganismos proteolíticos no solo. Neste trabalho, no substrato solarizado, provavelmente, as formas orgânicas de nitrogênio assimiláveis para os microrganismos proteolíticos deviam estar indisponíveis na amostragem feitas aos 60 dias.

Na figura 14 pode-se observar que os microrganismos presentes no substrato não solarizado e solarizado seguiram tendências diferentes de crescimento. A regressão polinomial de segundo grau significativa para os microrganismos do substrato solarizado, apresentou um alto coeficiente de determinação, demonstrando que o tempo foi um fator de importante influência na curva de crescimento apresentada por esses microrganismos. Já os microrganismos do substrato não solarizado seguiram uma tendência linear, cuja regressão significativa apresentou um menor coeficiente de determinação ($r^2= 0,51$), indicando que o tempo foi o responsável apenas por parte do crescimento – que, aliás, teve coeficiente negativo – dos microrganismos proteolíticos no período considerado.

Fazendo-se uma análise geral dos resultados, pode-se observar que, com exceção dos microrganismos proteolíticos, todas as outras comunidades de microrganismos estudadas tiveram seu número diminuído logo após a solarização, confirmando os dados de análise do carbono e nitrogênio da biomassa microbiana, que também se apresentaram menores na amostragem feita logo após a solarização. Esses resultados eram esperados para essa primeira amostragem, demonstrando que a solarização atinge, de maneira geral, as populações de microrganismos envolvidos na ciclagem de nutrientes, reduzindo-as. Análises de contagem desses microrganismos após a solarização não foram encontradas na literatura, sendo que apenas alguns trabalhos mostram o efeito da solarização sobre a atividade microbiana de maneira geral, em amostragens isoladas. Gamliel & Stapleton (1993a) avaliaram a atividade microbiana total pelo método da hidrólise do diacetato de fluoresceína em solos aquecidos em coletores solares e observaram que a atividade microbiana total do solo diminuiu durante a exposição direta do solo ao calor nos coletores. Randig et al. (2002) estudaram o efeito da desinfestação do solo pelo uso da energia solar sobre fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e verificaram que, com 2 dias de

tratamento no coletor solar, o potencial de inóculo de FMAs foi reduzido significativamente. Cruz (2003) realizou contagens de fungos e bactérias durante a solarização e verificou que houve uma redução de ambos no solo submetido à solarização. Para a comunidade fúngica o número de unidades formadoras de colônias foi ainda menor no solo solarizado sem adição de matéria orgânica em relação ao tratamento com adição de resíduos de couve. Já para a comunidade bacteriana houve variações entre os tratamentos solarizados com e sem adição de couve, sendo que para ambos houve uma redução das unidades formadoras de colônia em relação aos tratamentos não solarizados, a partir do vigésimo primeiro dia de solarização. Gamliel e Katan (1991) também verificaram um número bem menor de fungos e bactérias em solo solarizado de diversos locais, em relação às testemunhas não solarizadas.

Neste trabalho, na segunda amostragem, diferente do que ocorreu na primeira, houve um aumento no número da maioria dos microrganismos no solo solarizado em relação ao número de microrganismos no substrato não solarizado. Esse fato ocorreu para nitrificadores, nitratores e celulolíticos. Os números de microrganismos amonificadores, amilolíticos e proteolíticos foram iguais para os dois tratamentos.

Como citado anteriormente, alguns autores afirmam que durante a solarização do solo pode ocorrer a liberação de alguns macronutrientes, como amônio, nitrato, cálcio, magnésio, potássio (Stapleton, 2000; Freitas et al., 2003; Pinto & Moraes, 2003) e de alguns micronutrientes, como o ferro, zinco e manganês, porém em níveis benéficos (Lopes et al., 2000; Sinigaglia et al., 2001). Essa maior disponibilidade de nutrientes, principalmente algumas formas de nitrogênio, combinada à diminuição da competição pela redução da microbiota no solo (Café Filho & Lobo Jr., 2000) pode ter sido um fator de estímulo ao aumento dessas comunidades. Sinigaglia et al. (2001) não encontraram diferenças significativas para o número de bactérias presentes nos solos solarizado e não solarizado. Porém, essa análise foi feita em solo coletado quinze dias após o final da solarização, quando a comunidade bacteriana poderia ter se restabelecido, já que seu crescimento se dá de forma muito rápida em condições nutricionais favoráveis. Neste trabalho não foi realizada uma amostragem quinze dias após a solarização, mas aos trinta dias a maioria dos microrganismos dos grupos funcionais estudados no substrato solarizado já havia se restabelecido, embora tenha sido significativamente reduzida após a solarização.

A solarização também é responsável por mudanças físicas no solo, como, por exemplo, a textura, que podem ajudar na penetração de umidade e das raízes das plantas (Ghini & Bettiol, 1995), bem como podem influenciar no desenvolvimento de certas populações de microrganismos.

g. Quantificação de Bactérias em Meio B

O quadro 13 e a figura 15 apresentam os números de bactérias do grupo fluorescente de *Pseudomonas* spp. presentes em amostras de substrato submetido ao tratamento da solarização e substrato não solarizado, nas cinco amostragens feitas ao longo do tempo, após a solarização.

Houve diferenças estatisticamente significativas para as amostragens feitas ao longo do tempo e para a interação entre os fatores: solarização e amostragem no tempo.

Quadro 13. Número de *Pseudomonas* spp. fluorescentes em amostras de substrato em função da solarização e amostragens no tempo. Médias originais de 4 repetições.

Tratamentos	Amostragens, em dias após a solarização				
	0	30	60	90	120
	células g ⁻¹ substrato				
Não Solarizado	6,09 x 10 ² a	1,82 x 10 ² a	14,1 x 10 ² b	32,6 x 10 ² a	65,0 x 10 ² a
Solarizado	5,72 x 10 ² a	19,2 x 10 ² a	26,4 x 10 ² a	8,68 x 10 ² a	51,8 x 10 ² a

Valores de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pela análise de variância GLM Proc do SAS ao nível de 5%.

Coeficiente de variação =19,2 %, referente à análise de variância com dados transformados em log x + 1.

A diferença no número de bactérias no substrato nas diferentes amostragens pode ter ocorrido por diversos fatores, como a umidade e a temperatura do substrato, a presença de matéria orgânica proveniente de restos de raízes que devem ter ficado nos vasos quando foi feita a substituição das plantas de alface a cada vez que completavam o ciclo e pela influência da exsudação radicular das plantas de alface. As plantas estavam em diferentes idades nas épocas de amostragem, sendo que o volume de raízes e a quantidade de exsudatos podem ter sido importantes fatores de influência no número de *Pseudomonas* spp. fluorescentes. Coelho et al. (2005) relataram influência positiva da rizosfera de alface

sobre a ocorrência de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas*, o que pode relacionar-se ao que ocorreu neste trabalho.

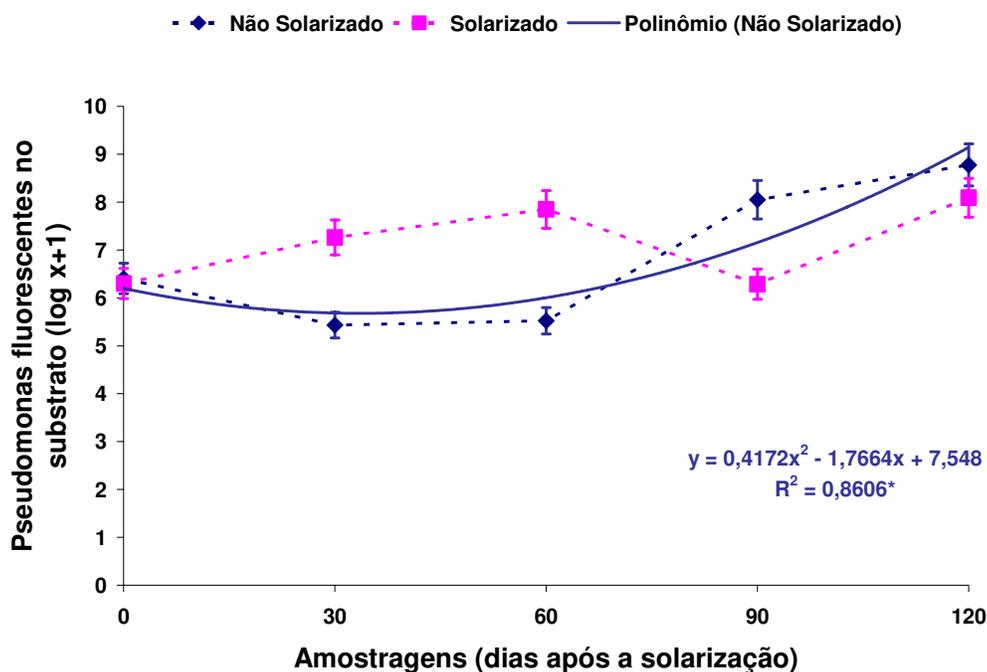


Figura 15. Número de bactérias do grupo fluorescente de *Pseudomonas* spp. (células g^{-1} substrato) em substrato solarizado e não solarizado, em cinco amostragens no tempo. Médias transformadas em log (x+1) de quatro repetições. I: desvio padrão. * regressão significativa a 5%.

Como se observa na figura 15, o crescimento de *Pseudomonas* spp. fluorescentes no substrato não solarizado sofreu influência do tempo, o que foi demonstrado pela curva quadrática significativa, com $r^2=0,86$. Já no substrato solarizado essa influência não foi observada, sendo que fatores ligados ao tratamento, como, por exemplo, disponibilidade de nutrientes e mudanças na comunidade microbiana do substrato, devem ter influenciado sobre essa variação.

Diferente do que ocorreu para a maioria dos outros microrganismos quantificados neste trabalho, a solarização não afetou negativamente o número de *Pseudomonas* spp. fluorescentes, sendo que nas duas primeiras amostragens o número dessas bactérias foi estatisticamente igual para os substratos solarizado e não solarizado (Quadro 13). Barros et al. (2004) também não observaram diferenças significativas nos números de *Pseudomonas* do grupo fluorescente entre os solos solarizado e não solarizado, que foram avaliados trinta

dias após o final do tratamento. Patrício et al. (2005) encontraram resultados semelhantes para a contagem dessas bactérias entre os solos solarizado e não solarizado realizadas quarenta dias após a retirada do plástico e embora não tenha havido diferenças estatísticas entre os tratamentos, mais parcelas não solarizadas apresentaram *Pseudomonas* do grupo fluorescente. Segundo Gamliel & Katan (1992), bactérias desse grupo têm o número aumentado pela solarização do solo; no entanto, geralmente ocorre primeiro uma redução da comunidade logo após o tratamento, que rapidamente se restabelece, colonizando a rizosfera de plantas mais intensamente do que nos solos não tratados com a solarização. De acordo com essa afirmação, neste trabalho, na amostragem feita aos sessenta dias após a solarização o número de *Pseudomonas* spp. fluorescentes foi maior no substrato solarizado em relação ao não solarizado. Esse fato pode ter ocorrido por causa da diminuição na comunidade microbiana no substrato solarizado, pela maior disponibilidade de nutrientes e pela menor competição combinados à presença de plantas de alface que também podem ter estimulado o aumento dessas bactérias pela exsudação radicular. Nas duas últimas amostragens os valores voltaram a se igualar, não havendo diferenças significativas entre os tratamentos de solarização.

O quadro 14 apresenta o número de *Pseudomonas* spp. fluorescentes encontrado na rizosfera das plantas de alface em substrato solarizado e não solarizado, nas amostragens feitas ao longo do tempo.

Quadro 14. Número de *Pseudomonas* spp. fluorescentes em amostras de substrato rizosférico em função da solarização e amostragens no tempo. Médias originais de 4 repetições.

Tratamentos	Amostragens, em dias após a solarização				
	0	30	60	90	120
	células g ⁻¹ substrato				
Não Solarizado	nd	311 x 10 ² a	1,32 x 10 ² a	12,0 x 10 ² a	0 b
Solarizado	nd	23,4 x 10 ² a	0 a	2,69 x 10 ² a	9,18 x 10 ² a
C.V.	nd	22,20%	282,84%	51,80%	96,11%

Valores de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pela análise de variância GLM Proc do SAS ao nível de 5%.

CV: Coeficientes de variação, referentes às análise de variâncias com dados transformados em log (x + 1).

nd: não determinado.

Houve diferenças significativas para solarização apenas na última amostragem, feita aos 120 dias após a solarização.

As bactérias rizosféricas sofrem influência direta dos exsudatos das plantas, sendo que esse deve ter sido o principal causador da variação do número de *Pseudomonas* spp. fluorescentes, nas diferentes épocas de amostragem. Portanto, não se considerou a análise de variância para amostragens no tempo, já que as plantas de alface não foram as mesmas durante todo o experimento e estavam em idades diferentes nas amostragens realizadas.

A solarização não afetou negativamente o número dessas bactérias: de acordo com o que se observa no quadro 14, a solarização beneficiou o crescimento de *Pseudomonas* spp. fluorescentes na rizosfera de alface no substrato solarizado, na última amostragem realizada aos 120 dias após a solarização. No entanto, os coeficientes de variação foram muito altos, principalmente para as amostragens realizadas após 60 dias da realização da solarização. Além do alto coeficiente de variação, o grande número de fatores envolvidos devem ser os fatores a explicar o efeito sobre as bactérias do grupo fluorescente de *Pseudomonas* spp. apenas 120 dias após o tratamento de solarização.

Semelhante ao que aconteceu neste trabalho, Gamliel & Stapleton (1993) encontraram números de *Pseudomonas* spp. fluorescentes até dez vezes maiores na rizosfera de plantas de alface cultivadas em solos solarizados com adição de esterco de galinha do que no mesmo solo que não recebeu solarização. Gamliel & Katan (1991) já haviam constatado esse efeito benéfico da solarização sobre o crescimento de *Pseudomonas* do grupo fluorescente na rizosfera de tomateiros.

Os resultados da contagem de bactérias não fluorescentes no substrato, cultivadas em meio B de King, estão representados pelo quadro 15 e figura 16. Houve diferenças estatísticas para amostragens no tempo, solarização e para a interação de ambos.

Inicialmente, a solarização afetou o número de bactérias não fluorescentes no substrato, sendo que o número dessas bactérias foi estatisticamente menor no substrato solarizado. Na segunda amostragem o número de bactérias não fluorescentes no substrato solarizado foi maior do que no substrato não solarizado, o que provavelmente ocorreu por causa da diminuição da geral da microbiota mais susceptível a temperaturas elevadas, que disponibilizou uma maior quantidade de nutrientes, favorecendo as espécies mais

competitivas. A partir dos sessenta dias após a solarização, os resultados obtidos da contagem foram iguais para os tratamentos de solarização.

Quadro 15. Número de bactérias não fluorescentes cultivadas em meio B de King em amostras de substrato em função da solarização e amostragens no tempo. Médias originais de 4 repetições.

Tratamentos	Amostragens, em dias após a solarização				
	0	30	60	90	120
	células g ⁻¹ substrato				
Não Solarizado	5,30 x 10 ⁵ a	8,39 x 10 ⁵ B	16,4 x 10 ⁵ A	15,1 x 10 ⁵ A	17,6 x 10 ⁵ A
Solarizado	3,76 x 10 ⁵ b	29,3 x 10 ⁵ A	21,8 x 10 ⁵ A	27,6 x 10 ⁵ A	33,3 x 10 ⁵ A

Valores de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pela análise de variância GLM Proc do SAS ao nível de 1% (maiúscula) e 5% (minúscula).

Coefficiente de variação = 4,06 %, referente à análise de variância com dados transformados em $\log x + 1$.

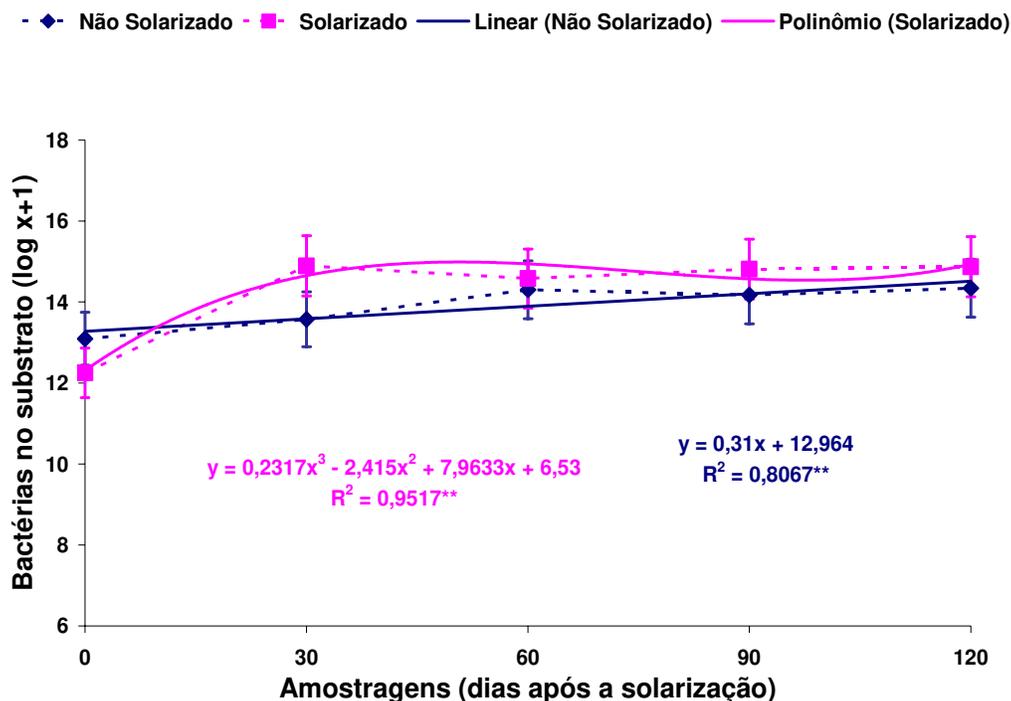


Figura 16. Número de bactérias não fluorescentes (células g⁻¹ substrato) cultivadas em meio B de King em substrato solarizado e não solarizado em amostras coletadas ao longo do tempo. Médias transformadas em $\log (x+1)$ de quatro repetições. I: desvio padrão. ** regressão significativa a 1%.

Observou-se que a variação na presença dessas bactérias no substrato solarizado e não solarizado foi influenciada pelo tempo, sendo que a regressão linear foi significativa para o substrato não solarizado. Para o tratamento de solarização, houve um ajuste altamente significativo para a regressão polinomial cúbica do crescimento dessas bactérias. Esse resultado mostra que a solarização do substrato influenciou na variação da resposta do crescimento dessas bactérias ao tempo.

No quadro 16 estão os valores obtidos da contagem de bactérias não fluorescentes na rizosfera das plantas de alface amostradas ao longo do tempo, após a solarização. Houve diferenças estatísticas para amostragem feita aos 30 dias após a solarização.

Como discutido anteriormente, o crescimento de bactérias rizoféricas depende fortemente dos exsudatos das raízes das plantas, devendo ser essa a explicação para a variação do número dessas bactérias nas diferentes amostragens realizadas.

Quadro 16. Número de bactérias não fluorescentes, cultivadas em meio B de King, em substrato rizoférico, em função da solarização e amostragens no tempo. Médias originais de 4 repetições.

Tratamentos	Amostragens, em dias após a solarização				
	0	30	60	90	120
	células g ⁻¹ substrato				
Não Solarizado	nd	3,69 x 10 ⁵ b	4,74 x 10 ⁵ a	8,66 x 10 ⁵ a	4,52 x 10 ⁵ a
Solarizado	nd	11,4 x 10 ⁵ a	2,62x 10 ⁵ a	5,90 x 10 ⁵ a	13,6x 10 ⁵ a
C.V.	nd	3,37%	3,16%	2,62%	4,93%

Valores de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pela análise de variância GLM Proc do SAS ao nível de 5 %.

C.V.: Coeficientes de variação, referentes às análises de variância com dados transformados em log (x + 1).
nd: não determinado.

A solarização promoveu um maior crescimento dessas bactérias na rizosfera de alface, sendo que, aos trinta dias após a solarização, o número de bactérias não fluorescentes foi superior na rizosfera de plantas de alface que foram cultivadas em substrato solarizado. Esse número se igualou ao do solo solarizado nas amostragens seguintes. Gamliel & Stapleton (1993) verificaram que o número de *Bacillus* spp. na

rizosfera de plantas de alface cultivadas em solo solarizado foi maior do que em solo não solarizado. Pinto (1992) cita que populações de *Azotobacter* spp. foram reduzidas em cerca de 60% imediatamente após a solarização, mas rapidamente se desenvolveram, atingindo, ao fim de dois meses, níveis populacionais cerca de 30% mais elevados nas parcelas solarizadas face às não solarizadas. Essas referências comprovam efeito diferencial da solarização sobre determinados grupos bacterianos. Neste trabalho caracterizaram-se apenas dois grupos, o de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* e o de não fluorescentes que crescem em meio B de King, em condição rizosférica e não rizosférica. Observou-se ação diferenciada também para essas condições, o que indica, no mínimo, a diversidade da susceptibilidade dos microrganismos à solarização.

Observando-se os dados de uma maneira geral, verificou-se que os números de bactérias *Pseudomonas* spp. fluorescentes do substrato e da rizosfera de alface, cultivadas em meio B de King et al. (1954), não foram afetados negativamente pela solarização. Isso vem confirmar o fato de que essas bactérias obtêm maior sucesso na sobrevivência à solarização. Stapleton (2000) afirma que alguns microrganismos adaptados para sobreviver no solo, como, por exemplo, muitos antagonistas de patógenos de plantas, são provavelmente mais aptos a sobreviver à solarização, ou a recolonizar rapidamente o substrato.

O número de *Pseudomonas* spp. fluorescentes na rizosfera de plantas de alface correlacionou-se negativamente com o carbono da biomassa microbiana (-0,52**), sugerindo que a diminuição do carbono da biomassa microbiana, ou seja, da comunidade microbiana, pode ter favorecido a colonização das plantas por essas bactérias. Isso daria uma indicação de que *Pseudomonas* spp. fluorescentes tiveram favorecimento pela menor competição com a microbiota em geral. Os números de microrganismos como: amonificadores, nitritadores, nitratores, amilolíticos e bactérias não fluorescentes no substrato, também se correlacionaram positivamente com o número de *Pseudomonas* spp. fluorescentes na rizosfera, evidenciando que responderam de forma semelhante à solarização (Quadro 20). Os resultados da análise estatística mostraram que houve uma correlação um tanto óbvia entre o número de bactérias não fluorescentes no substrato e na rizosfera (0,75**). As bactérias não fluorescentes, tanto do substrato quanto as rizosféricas, correlacionaram-se positivamente com os microrganismos nitrificadores e amilolíticos,

enquanto que apenas as bactérias do substrato correlacionaram-se significativamente com os amonificadores (Quadro 20).

h. Crescimento de Plantas de Alface

O número de folhas de alface diferiu entre os tratamentos, sendo que a diferença foi estatisticamente significativa para a solarização do substrato na amostragem feita aos 30 dias após o tratamento. Os resultados estão representados pelo quadro 17.

Na primeira amostragem, o número de folhas de alface foi maior nas plantas cultivadas em solo solarizado. No entanto, nas amostragens seguintes, o número de folhas voltou a ser igual para os tratamentos solarizado e não solarizado. Como foi visto e já discutido anteriormente, a solarização do substrato faz com que ocorra a morte de muitos microrganismos e com isso a conseqüente liberação de nutrientes de forma que esses podem ser facilmente assimilados pelas plantas, promovendo um crescimento mais rápido do que ocorreria normalmente.

Quadro 17. Número de folhas de alface cultivadas em substrato solarizado e não solarizado em quatro amostragens no tempo. Médias originais de 4 repetições.

Tratamentos	Amostragens no tempo (dias após a solarização)				
	0	30	60	90	120
Não Solarizado	nd	8,50 B	4,00 A	19,00 A	6,75 A
Solarizado	nd	10,25 A	4,00 A	18,00 A	6,50 A
C.V.	nd	5,76%	-	6,24%	8,15%

Valores de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pela análise de variância ao nível de 1%.

C.V.: Coeficientes de variação, referentes às análises de variância com dados não transformados.

n.d.: não determinado

Nos meses em que o experimento permaneceu em casa de vegetação, foram feitas três sementeiras de alface, pois quando as plantas completavam 45 dias (perto do final do ciclo) as plantas eram colhidas e novas plantas eram semeadas. Assim, na primeira amostragem as primeiras plantas estavam com 30 dias; na segunda amostragem (aos 60 dias) as novas plantas estavam com 15 dias; a terceira amostragem (aos 90 dias) as plantas estavam com 45 dias e na última amostragem (120 dias) outras plantas estavam com 30 dias. Por esse motivo, não se considerou para essa variável o efeito do tempo, pois não se

tratavam das mesmas plantas, assim a análise estatística foi realizada para cada amostragem.

Os dados de matéria seca de parte aérea de plantas de alface cultivadas em substrato solarizado e não solarizado estão apresentados no quadro 18 e mostram que houve um maior crescimento das plantas de alface cultivadas no solo solarizado na primeira amostragem, sendo que a diferença foi altamente significativa. A massa de matéria seca das raízes foi estatisticamente igual para os dois tratamentos, porém os valores apresentados para essa variável foram muito baixos e o coeficiente de variação alto, o que pode explicar a ausência de diferenças estatísticas significativas para a primeira amostragem (Quadro 19).

Quadro 18. Matéria seca da parte aérea de plantas de alface cultivadas em substrato solarizado e não solarizado em quatro amostragens no tempo. Médias originais de 4 repetições.

Tratamentos	Amostragens no tempo (dias após a solarização)				
	0	30	60	90	120
Não Solarizado	nd	0,65 B	0,02 A	4,18 A	0,11 A
Solarizado	nd	1,03 A	0,02 A	3,83 A	0,10 A
C.V.	nd	11,44%	14,98%	16,76%	7,27%

Valores de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pela análise de variância ao nível de 1%.

C.V.: Coeficientes de variação, referentes às análises de variância com dados não transformados.

nd: não determinados

Quadro 19. Matéria seca de raízes de plantas de alface cultivadas em substrato solarizado e não solarizado em quatro amostragens no tempo. Médias originais de 4 repetições.

Tratamentos	Amostragens no tempo (dias após a solarização)				
	0	30	60	90	120
Não Solarizado	nd	$6,37 \times 10^{-2}A$	$2,11 \times 10^{-3}A$	$2,78 \times 10^{-1}A$	$5,6 \times 10^{-3}A$
Solarizado	nd	$1,59 \times 10^{-1}A$	$1,93 \times 10^{-3}A$	$2,92 \times 10^{-1}A$	$4,65 \times 10^{-3}A$
C.V.	nd	55,96%	53,36%	27,99%	14,23%

Não houve diferenças estatísticas pela análise de variância.

C.V: Coeficientes de variação, referentes às análises de variância com dados não transformados.

nd: não determinados

May-de-Mio et al. (2002) verificaram a influência positiva da solarização do substrato, em coletor solar, sobre o crescimento de mudas de porta-enxerto de citros, aumentando a matéria seca da parte aérea, raiz e altura das plantas.

Plantas de alface também tiveram o crescimento beneficiado pela solarização em um experimento em campo desenvolvido por Sinigaglia et al. (2001), sendo que houve uma redução de onze dias no ciclo das mesmas. Outras pesquisas, como as de Patrício et al. (2005), Hasing et al. (2004), Gamliel e Stapleton (1993), Porter & Merriman (1985) e Skannavini et al (1993), também mostraram o benefício da solarização sobre o crescimento de alface.

Outras hortaliças também tiveram seu crescimento e produção aumentados pela solarização do solo em relação à testemunha: cenoura, 28%; vagem-anã, 32%; beterraba, 37%; repolho, 34% (Ricci et al., 2000); berinjela (Azevedo & Aguilera, 2005), tomate (Gamliel & Katan, 1991; Stevens et al., 2003), pimenta (Kokalis-Burelle et al., 2002) e pepino (Lopes et al., 2000).

Como se observa neste trabalho, os fatores que influenciaram o maior crescimento das plantas de alface com 30 dias no solo solarizado (Foto 2) não continuaram tendo o mesmo efeito nas amostragens seguintes. Isso pode ter se dado em consequência do pequeno volume de substrato nos vasos, ou seja, logo após a solarização houve uma liberação de nutrientes pela morte de parte da comunidade microbiana, sendo esses facilmente assimilados pelas plantas que responderam com um crescimento mais rápido. No entanto, o volume limitado dos vasos pode ter sido responsável pelo esgotamento dos nutrientes que foram disponibilizados a mais nos vasos com substrato solarizado e as plantas igualaram-se em tamanho às cultivadas em substrato não solarizado, nas épocas seguintes, já que o substrato usado era rico em matéria orgânica pela adição da cama-de-frango. Provavelmente, se o experimento fosse feito em campo, esse resultado positivo da solarização sobre o crescimento de plantas pudesse permanecer por mais tempo, pela maior quantidade de solo e nutrientes disponíveis para as plantas. Yokomizo (2002) verificou que a solarização do solo em viveiro promoveu o crescimento de *Pinus*, avaliado seis meses após a semeadura, sendo a biomassa superior em 35,35% na parte aérea e 36,65% no comprimento linear das raízes, mostrando que o efeito da solarização pode ser prolongado.

Ghini et al. (2002) relataram que não houve diferença quanto à altura das plantas e massa da matéria fresca no sistema radicular, nem nas avaliações quanto à qualidade de flores e à produtividade de crisântemo cultivado em solo, com adição de cama-de-frango, solarizado em comparação ao não solarizado. Os autores mencionam que provavelmente esse fato se deve à não-ocorrência de doença em ambos os tratamentos e à intensa fertilização que a cultura recebeu durante o ciclo, eliminando as possíveis diferenças entre os tratamentos.

O efeito benéfico da solarização sobre o crescimento de plantas pode ser dado por vários motivos, segundo Ghini & Bettiol (1995): controle parcial de plantas invasoras; fitoparasitas; estímulo do crescimento das comunidades de microrganismos antagonistas e promotores de crescimento; disponibilização de nutrientes no solo (nitrogênio na forma de amônio e nitrato, Ca e Mg); mudanças na composição gasosa, com liberação de substâncias voláteis e melhoria da estrutura do solo, permitindo a penetração de umidade.

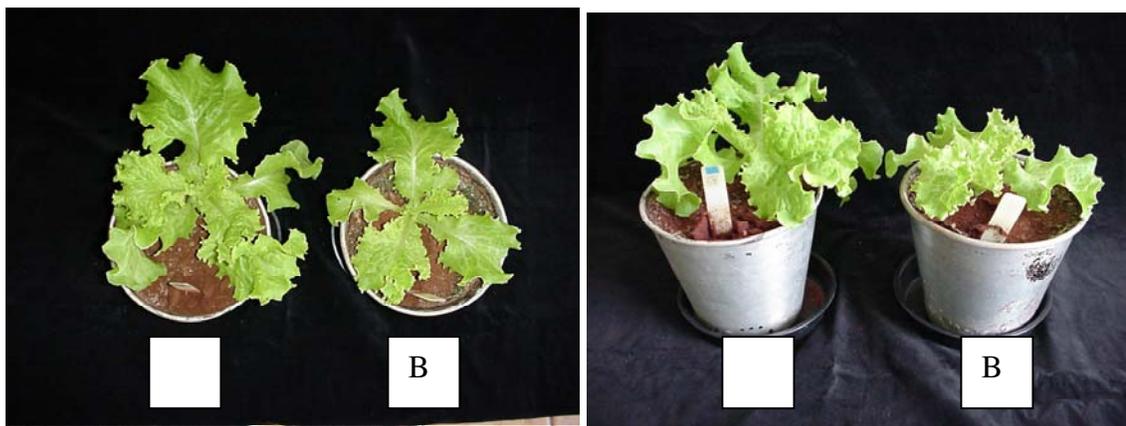


Foto 2. Plantas de alface com trinta dias, cultivadas em vasos de 2L de substrato solarizado (A) e não solarizado (B), da primeira amostragem (30 dias após a solarização).

Houve correlação significativa entre o número de folhas de alface e o número de bactérias não fluorescentes na rizosfera (0,53**). A matéria seca de raízes de alface se correlacionou positivamente com o número de microrganismos amonificadores (0,83**). Essas correlações podem indicar que esses microrganismos podem ter influenciado o maior

crescimento de plantas, direta pela promoção de crescimento de plantas ou indiretamente pela disponibilização de nutrientes no substrato.

Quadro 20. Coeficientes de correlação entre as variáveis analisadas nos substratos em função da solarização e amostragens feitas ao longo do tempo.

	CBM	NBM	C/N	QM	CO ₂	AMO	NIT	NAT	CEL	AMI	PRO	PFS	BS	PFR	BR	NF	MSF	MSR
CBM	1,00	0,61**	-0,002	-0,83**	0,39*	0,13	0,03	0,01	-0,28	-0,26	0,06	0,07	-0,01	-0,52**	-0,004	-0,17	-0,05	-0,15
NBM		1,00	-0,75**	-0,56**	0,37*	0,51**	0,32*	0,22	-0,43**	0,03	0,005	0,26	0,31*	-0,20	0,27	-0,11	-0,12	-0,25
C/N			1,00	-0,04	-0,25	-0,55**	-0,46**	-0,33*	0,18	-0,37*	0,17	-0,20	-0,45	-0,18	-0,42**	-0,01	0,07	0,19
QM				1,00	-0,43**	-0,06	0,03	0,06	0,43**	0,29	-0,14	-0,15	0,06	0,44**	0,04	0,04	-0,05	0,03
CO ₂					1,00	-0,17	-0,07	-0,27	-0,31	-0,35	0,20	-0,03	-0,20	-0,22	-0,20	-0,16	-0,06	-0,8
AMO						1,00	0,62**	0,74**	-0,07	0,54**	-0,23	0,05	0,77**	0,61**	0,23	0,14	0,002	0,83**
NIT							1,00	0,83**	0,14	0,51**	-0,59**	0,22	0,73**	0,40*	0,66**	0,43**	0,28	0,18
NAT								1,00	0,09	0,59**	-0,60**	0,24	0,82**	0,37*	0,76**	0,47**	0,34*	0,25
CEL									1,00	0,22	-0,35*	-0,08	-0,02	0,04	-0,18	-0,01	0,06	0,06
AMI										1,00	-0,34*	-0,17	0,49**	0,46**	0,49**	0,24	0,14	0,07
PRO											1,00	-0,34*	-0,47**	-0,34*	-0,62**	-0,40**	-0,24	-0,22
PFS												1,00	0,27	-0,06	0,19	0,02	-0,01	-0,04
BS													1,00	0,34*	0,75**	0,32*	0,15	0,05
PFR														1,00	0,48**	0,45**	0,29	0,27
BR															1,00	0,53**	0,27	0,19
NF																1,00	0,90**	0,88**
MSF																	1,00	0,95**
MSR																		1,00

Valores acompanhados de * e ** são significativos a 5 e 1% respectivamente.

CBM: carbono da biomassa microbiana; NBM: nitrogênio da biomassa microbiana; C/N: relação entre carbono e nitrogênio da biomassa microbiana; QM: quociente metabólico; CO₂: CO₂ liberado pela respiração do solo; AMO: microrganismos amonificadores; NIT: microrganismos nitritadores; NAT: microrganismos nitratores; CEL: microrganismos celulolíticos; AMI: microrganismos amilolíticos; PRO: microrganismos proteolíticos; PFS: *Pseudomonas* spp. fluorescentes no substrato; BS: bactérias não fluorescentes no substrato; PFR: *Pseudomonas* spp. fluorescentes na rizosfera de alface; BR: bactérias não fluorescentes na rizosfera de alface; NF: número de folhas de alface; MSF: matéria seca da parte aérea de alface; MSR: matéria seca de raízes de alface.

i. Emergência de Plantas Invasoras

Os resultados das contagens do número de plantas invasoras e da massa de sua matéria seca da parte aérea estão apresentados no quadro 21.

Quadro 21. Matéria Seca de parte aérea e número de plantas invasoras que emergiram, até 15 dias, em solo solarizado e não solarizado. Médias originais de 16 repetições.

	Solo Solarizado	Solo Não Solarizado
Matéria seca de plantas invasoras (mg) c.v.* = 0,93 %	0,787 b	440 a
Número de plantas invasoras c.v.* = 11,63%	0,25 B	3,25 A

Valores de mesma letra, na horizontal, não diferem entre si pela análise de variância - maiúsculas a 1 % e minúsculas a 5%.

c.v.* = coeficiente de variação referente à análise de variância

A avaliação da emergência de plantas invasoras, aos 15 dias após a semeadura das plantas de alface, demonstrou que o número dessas plantas foi estatisticamente maior, ao nível de 1%, nos vasos onde não foi feita a solarização, o que correspondeu a uma redução média de 92,3% no número de plantas invasoras em solo solarizado quando comparado à média do número de plantas que cresceram em solo não solarizado. A massa de matéria seca dessas plantas também foi significativamente maior para o solo não solarizado

Esses resultados mostram que a solarização do solo é um método eficiente para controle da emergência de plantas invasoras. Sinigaglia et al. (2001), em um estudo de solarização feito em campo com cobertura plástica do solo por quarenta e dois dias, também verificaram o efeito positivo da solarização para o controle de cinco espécies de plantas daninhas (*Galinsoga parviflora* – picão branco, *Amarantuhus* spp. - caruru, *Portulacca oleracea* - beldroega, *Digitaria sanguinalis* – capim colchão e *Eleusine indica* – capim pé-de-galinha). Nesse trabalho, a amostragem também foi feita 15 dias após a retirada do plástico e transplante de mudas de alface. Os autores observaram um

crescimento de 75% ou mais plantas invasoras no tratamento que não recebeu solarização, em relação ao solarizado. Patrício et al. (2005) também verificaram que a solarização do solo (feita por 60 dias) foi responsável pela redução drástica na germinação de sementes de *G. parviflora*, *Amaranthus* spp., *P. oleracea* e *E. indica*, sendo que constataram também que a viabilidade dessas espécies foi menor na superfície e em todas as profundidades analisadas (0-5, 5-10 e 10-15) nas parcelas solarizadas em relação às parcelas não solarizadas.

Pinto (1992) não obteve resultados positivos no controle efetivo, por solarização do solo, de tiririca (*C. rotundus*), planta invasora considerada agressiva por sua grande capacidade de reprodução e distribuição geográfica. No entanto, Ricci et al. (2000) verificaram que a solarização do solo com cobertura de polietileno exerceu um controle parcial, porém altamente significativo, sobre a população dessa mesma espécie, *C. rotundus*. Os autores demonstraram também que a solarização é capaz de reduzir a reinfestação do solo solarizado pela tiririca. Já Oliveira et al. (2002a) verificaram que a solarização teve um papel relevante no controle da tiririca, pois reduziu em 73,6% o número de tubérculos dessa planta presentes no solo e que sua população infestante, avaliada aos 15 e 45 dias após o plantio de cenoura, foi significativamente reduzida, tendo sido 69 e 86% menores, nas respectivas datas de avaliação. Esses resultados conflitantes em relação ao efeito da solarização no controle da tiririca podem ter ocorrido devido ao comportamento de cada tipo de solo em relação à solarização, como por exemplo: seus constituintes, condutividade térmica, bem como os fatores climáticos atuantes no momento em que foram realizados os experimentos (Ghini et al., 2003). Neste trabalho, as espécies de plantas invasoras não foram analisadas, mas houve um controle satisfatório no crescimento das plantas invasoras, independente da espécie. De uma maneira geral, a solarização do solo tem se apresentado como um bom método de controle de plantas invasoras. Outros trabalhos (Kuva et al., 1995; Marengo & Lustosa, 2000; Desaeger & Rao, 2001; Ghini et al., 2002; Yokomizo, 2002; Halsing et al., 2004), assim como este, detectaram uma alta redução na germinação de espécies de plantas invasoras pela solarização.

B. Escolha de Isolados de RPCPs.

Pré-seleção de Isolados de RPCPs em Alface

Dos 70 isolados de bactérias do grupo fluorescente do gênero *Pseudomonas* que foram testados, vinte e oito promoveram o crescimento das plantas, não tendo havido nenhum que resultasse em prejuízo (Quadro 22).

Quadro 22. Matéria seca da parte aérea de plantas de alface tratadas com diferentes isolados de bactérias do grupo fluorescente de *Pseudomonas* spp. mantidas por 47 dias em casa de vegetação em vasos com solo e esterco (1:1). Médias originais de 5 repetições.

Tratamento	Matéria Seca	Tratamento	Matéria Seca	Tratamento	Matéria Seca
	(g)		(g)		
Testemunha	0,22	Ps 43C	0,40*	Ps 62	0,29
Ps 21A	0,27	Ps 44A	0,53**	Ps 63	0,27
Ps 21B	0,25	Ps 44B	0,45**	Ps 65A	0,36
Ps 21C	0,26	Ps 45A	0,39*	Ps 66B	0,45**
Ps 22A	0,18	Ps 45B	0,27	Ps 70	0,37
Ps 22B	0,19	Ps 45C	0,41*	Ps 71	0,35
Ps 23A	0,19	Ps 46	0,41*	Ps 72	0,42*
Ps 23B	0,22	Ps 47A	0,45**	Ps 73	0,29
Ps 23C	0,26	Ps 47B	0,47**	Ps 74	0,50**
Ps 31A	0,29	Ps 47C	0,33	Ps 76	0,44**
Ps 31B	0,26	Ps 47D	0,50**	Ps 77	0,33
Ps 31C	0,20	Ps 51A	0,38	Ps 80	0,54**
Ps 31D	0,23	Ps 51B	0,42*	Ps 85	0,44**
Ps 32	0,25	Ps 52A	0,40*	Ps 91	0,44**
Ps 33	0,39*	Ps 52B	0,40*	Ps 92	0,48**
Ps 34C	0,37	Ps 53A	0,38	Ps 805	0,32
Ps 41A	0,37	Ps 53B	0,52**	136RN	0,47**
Ps 41B	0,41*	Ps 53C	0,38	G20-18	0,54**
Ps 41C	0,32	Ps 54A	0,34	W4F58	0,36
Ps 42A	0,33	Ps 54B	0,29	W4F111	0,37
Ps 42B	0,38	Ps 54C	0,22	W4F164	0,33
Ps 42C	0,33	Ps 55	0,32	W4P5	0,21
Ps 43A	0,41*	Ps 60A	0,25	W4P144	0,51
Ps 43B	0,49*	Ps 60B	0,26		

Médias seguidas por* ou ** diferem da testemunha pelo teste unilateral de Dunnett, a 5 e 1% respectivamente.

Coefficiente de variação = 39,7%

Esse número representa 40% do total de isolados testados, sendo essa uma alta porcentagem de bactérias benéficas. Quanto à origem dos isolados, nenhum dos obtidos em rizosfera de algodão e apenas um dos da rizosfera de milho promoveu o crescimento das plantas (Quadro 22). No entanto, dos dezenove isolados obtidos de soja, doze foram benéficos. O único isolado originado da própria cultura de alface e os dois de pimentão também foram promotores de crescimento.

Dos isolados que apresentaram resultados significativos para a promoção de crescimento de plantas de alface, alguns foram escolhidos para o teste de promoção de crescimento em solo solarizado e estão relacionados no quadro 23.

Quadro 23. Isolados bacterianos do grupo fluorescente do gênero *Pseudomonas* testados quanto à eficiência na promoção de crescimento de mudas de alface em solo solarizado e não solarizado.

GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3
Ps 851C ⁽¹⁾	Ps 859 ⁽¹⁾	Ps 33 ⁽²⁾
Ps 851D ⁽¹⁾	Ps 867 ⁽¹⁾	Ps 41B ⁽²⁾
Ps 852C ⁽¹⁾	Ps 868 ⁽¹⁾	Ps 43A ⁽²⁾
Ps 852D ⁽¹⁾	Ps 870A ⁽¹⁾	Ps 44B ⁽²⁾
Ps 853B ⁽¹⁾	Ps 874 ⁽¹⁾	Ps 43C ⁽²⁾
Ps 854B ⁽¹⁾	Ps 45A ⁽²⁾	Ps 51B ⁽²⁾
Ps 861A ⁽¹⁾	Ps 45C ⁽²⁾	Ps 74 ⁽²⁾
Ps 863 ⁽¹⁾	Ps 47B ⁽²⁾	Ps 41C ⁽³⁾
Ps 864C ⁽¹⁾	Ps 66B ⁽²⁾	Ps 65A ⁽³⁾
Ps 865A ⁽¹⁾	Ps 76 ⁽²⁾	Ps 71 ⁽³⁾
Ps 865D ⁽¹⁾	Ps 85 ⁽²⁾	Ps 73 ⁽³⁾
Ps 866B ⁽¹⁾	Ps 91 ⁽²⁾	Ps 22A ⁽³⁾
Ps 866A ⁽¹⁾	Ps 92 ⁽²⁾	Ps 221 ⁽³⁾
Ps 869A ⁽¹⁾	G20-18 ⁽²⁾	Ps 222 ⁽³⁾
Ps 870C ⁽¹⁾	Ps 45B ⁽³⁾	Ps 223 ⁽³⁾
Ps 871B ⁽¹⁾	Ps 60A ⁽³⁾	
Ps 872 ⁽¹⁾	Ps 63 ⁽³⁾	
	Ps 70 ⁽³⁾	

⁽¹⁾ isolados obtidos por Sotero (2003).

⁽²⁾ isolados escolhidos com base nos resultados do experimento descrito no item B.

⁽³⁾ isolados escolhidos com base nos resultados de Freitas et al. (2003).

Outros isolados que apresentaram resultados altamente significativos (1%) quanto à promoção de crescimento das plantas, não puderam ser usados, pois foram perdidos por

problemas na manutenção da coleção. Os isolados Ps 41C, Ps 65A, Ps 71 e Ps 73 não se apresentaram significativos neste trabalho, porém optou-se por utilizá-los, já que foram eficientes na promoção de crescimento de plantas de alface em experimentos desenvolvidos em outros substratos, como areia e solo esterilizados (Freitas et al., 2003).

Alguns isolados foram escolhidos de acordo com os resultados de Sotero (2003), com origens em plantas de alface crespa das variedades Gisele e Vera (resultado do cruzamento entre as cultivares Verônica e Slow Bolting).

C. Teste da Eficiência de Rizobactérias na Promoção do Crescimento de Mudanças de Alface em Solo Solarizado.

Para o primeiro grupo de isolados de rizobactérias testados (Quadro 24) houve um aumento na matéria seca da parte aérea em algumas plantas de alface que receberam inóculo de isolados bacterianos quando cultivadas em substrato solarizado.

Quadro 24. Matéria seca da parte aérea de plantas de alface cultivadas em substrato solarizado e não solarizado que receberam inóculo de isolados de *Pseudomonas* spp. Médias originais de 10 repetições.

Isolados Bacterianos	Matéria Seca de Parte Aérea (mg)		
	Médias	Não solarizado	Solarizado
<i>Médias</i>		78,17B	96,76A
Testemunha	87,1	84,7 A	89,5 A
Ps 851C	74,8	75,0 A	74,5 A
Ps 851D	74,1	71,9 A	76,2 A
Ps 852C	74,8	76,4 A [♦]	73,2 A
Ps 852D	92,1	70,9 B	113,2A*
Ps 853B	85,9	71,7 B	100,0 A
Ps 854B	82,4	71,0 B	93,7 A
Ps 861A	66,6 ^{♦♦}	61,1 A ^{♦♦}	72,0 A
Ps 863	80,1	56,7 B	103,5 A
Ps 864C	91,6	74,8 B	108,4 A
Ps 865A	96,3	85,1 B	107,6 A
Ps 865D	89,6	80,7 b	98,4 a
Ps 866A	99,5	87,8 B	111,7 A
Ps 866B	86,7	90,1 A	83,2 A
Ps 869A	81,4	83,5 A	79,3 A
Ps 870C	104,8*	83,9 B	125,6A**
Ps 871B	100,3	86,7 B	113,9A*
Ps 872	106,8**	95,8 B	117,7A**

Valores seguidos por *ou[♦] e **ou^{♦♦} diferem significativamente da testemunha pelo teste unilateral de Dunnett, a 5 e 1% respectivamente, quando comparadas na vertical.

Asteriscos indicam os isolados com efeito positivo e os losangos, os com efeito negativo.

Valores seguidos pela mesma letra, na horizontal, não diferem pelo teste de Dunnett ao nível de 1% para letras maiúsculas e 5% para letras minúsculas. Coeficiente de variação = 23,85%.

Houve diferenças significativas para o tratamento de solarização, independente da inoculação de bactérias; para inoculação de bactérias independente da solarização e para a interação dos dois fatores.

A média da matéria seca da parte aérea de alface em substrato solarizado foi maior do que no substrato não solarizado, sem levar em consideração os isolados inoculados, mostrando que a solarização exerce um efeito benéfico sobre o crescimento das plantas. Quando analisada independentemente do tratamento de solarização do substrato, a inoculação dos isolados Ps 870C e Ps 872 de *Pseudomonas* spp. promoveu um aumento significativo no crescimento de plantas de alface. Porém, quando se analisou a inoculação considerando-se os tratamentos de solarização, nenhum isolado se mostrou capaz de promover o aumento da massa de matéria seca de alface cultivada em solo não solarizado, mostrando que a solarização favorece o efeito benéfico desses isolados.

Os isolados Ps 852C e Ps 861A apresentaram-se prejudiciais no substrato não solarizado, isto é, as plantas apresentaram uma menor massa de matéria seca em relação à testemunha não inoculada. Esse efeito foi significativo, também para o isolado Ps 852C, quando a média para a inoculação de bactérias foi analisada independente da solarização. Porém, nas plantas cultivadas em substrato solarizado na presença desses mesmos isolados, esse efeito prejudicial não foi estatisticamente detectado, o que demonstra que a solarização o anulou de alguma forma. Uma hipótese que se pode considerar é que esses microrganismos, por alguma condição do substrato ou da planta, passaram a exercer um efeito deletério sobre o crescimento vegetal, no substrato não solarizado. Nesse caso, a solarização pode ter favorecido o crescimento de outros microrganismos mais eficientes em colonizar as raízes das plantas do que esses isolados, ou tenha oferecido melhores condições nutricionais no substrato evitando que eles precisassem colonizar as raízes das plantas, diminuindo o efeito prejudicial. Sotero (2003), em um estudo com plantas de alface, não observou efeitos negativos dos mesmos isolados sobre as plantas, sendo que o efeito do isolado Ps 852C sobre matéria seca de parte aérea e número de folhas não diferiu do apresentado pela testemunha. Segundo a autora, esse isolado apresentou alta colonização de colo e média colonização de raízes. Já o isolado Ps 861A apresentou apenas colonização de colo, estando ausente na rizosfera das plantas; contudo, apresentou efeito significativo no aumento de números de folhas de alface. Assim, é de se estranhar que esses isolados tenham resultado em efeitos deletérios neste trabalho. No entanto, estudos discutem a inconstância dos resultados da inoculação de rizobactérias quanto ao efeito no crescimento das plantas. Sotero (2003) e Freitas et al. (2003) sugeriram que a

disponibilidade de nutrientes no substrato pode influenciar a exsudação radicular das plantas, podendo levar a alteração de comportamento dos isolados bacterianos. Sorensen et al. (2001) afirmam que o sucesso da introdução de inoculantes bacterianos na agricultura requer seu bom estabelecimento e proliferação na rizosfera e principalmente a manutenção de sua atividade metabólica sob as condições oferecidas. A sobrevivência do inóculo no substrato e a colonização das raízes são fatores primordiais para que haja promoção de crescimento de plantas pelas RPCPs e são sujeitos a fatores abióticos e bióticos, como: luz, umidade, temperatura, pH e textura do solo, exsudação radicular, competição, predação; além dos fatores dependentes do próprio microrganismo, como tolerância osmótica, motilidade, habilidade e agressividade em colonizar a rizosfera (Van Veen et al., 1997; Kokalis-Burelli et al., 2005; Lemanceau et al., 1995; Jjemba & Alexander, 1999; Benizri et al., 2001; Villaceros, et al., 2003). Todavia, apenas o sucesso dos isolados na colonização das raízes não garante o efeito benéfico da promoção de crescimento das plantas, sendo que a perda da atividade metabólica e condições nutricionais, luz, temperatura, umidade, entre outras, são fatores que interferem no efeito benéfico às plantas (Sorensen et al., 2001). Segundo Baker & Défago (1987) a instabilidade genética de microrganismos manipulados prolongadamente em laboratório pode ser um fator que explica a alteração do comportamento dos inoculantes quanto à promoção de crescimento das plantas.

Outra hipótese que pode explicar o efeito deletério observado nos substratos não solarizados que receberam esses isolados é a de que esses inóculos possam ter permitido o crescimento de patógenos subclínicos nesses substratos. Nesse caso, a solarização teria suprimido esses patógenos, eliminando esse efeito.

As plantas cultivadas em substrato solarizado apresentaram uma maior massa de matéria seca em relação à testemunha quando receberam os isolados: Ps852D, Ps870C, Ps871B e Ps872. Esse resultado demonstra que a solarização do substrato favoreceu o efeito benéfico desses isolados de RPCPs sobre as plantas de alface. Provavelmente a solarização foi responsável pela redução da biomassa microbiana, favorecendo a colonização das raízes das plantas pelos isolados. Na primeira parte deste trabalho, observou-se que houve uma redução da microbiota pela solarização, sendo demonstrada pela diminuição do teor de carbono e nitrogênio da biomassa microbiana. Mesmo que a comunidade de *Pseudomonas* spp. fluorescentes presente no substrato não seja afetada pela

solarização, conforme foi observado neste trabalho (item g, quadro 13), a redução da microbiota, de uma maneira geral, pode dar melhores oportunidades para que o isolado inoculado colonize as raízes. Assim como neste trabalho, outros estudos mostraram que a solarização pode beneficiar a introdução de microrganismos promotores de crescimento de plantas. Kokalis-Burelli et al. (2002) demonstraram que a solarização do solo promoveu o crescimento de plantas de pimenta comparadas às plantas que não receberam o tratamento, sendo que os resultados foram ainda melhores quando a solarização foi combinada à inoculação da formulação LS256, composta de *Bacillus subtilis* (isolado GBO3) e *Bacillus pumilus* (isolado INR7). Rupela & Sudarshana (1990) verificaram que a solarização favoreceu o aumento da população do rizóbio inoculado, pois foi responsável pela redução da comunidade nativa de rizóbio do solo. Bendavid-Val et al. (1997) também constataram que a solarização reduziu a comunidade de fungos micorrízicos do solo; porém o fungo *Glomus intraradices* inoculado antes da solarização permaneceu viável.

A despeito de toda a discussão sobre a solarização, é importante notar que as plantas do tratamento testemunha – sem inoculação de bactérias – não diferiram entre si nos tratamentos de solarização. Isso quer dizer que a solarização, por si só, não resultou em qualquer benefício sobre a matéria seca das plantas: o que houve foi o favorecimento à atuação dos isolados bacterianos inoculados. Esse favorecimento pode ter se dado justamente pela eliminação de microrganismos competidores no estabelecimento dos isolados na rizosfera.

Quanto ao número de folhas, as plantas cultivadas em substrato solarizado apresentaram um maior número em relação às plantas cultivadas em substrato não solarizado, independente do isolado bacteriano que foi inoculado (Quadro 25).

Os isolados de *Pseudomonas* spp. só favoreceram o aumento do número de folhas quando analisados independentemente do tratamento de solarização, sendo que as plantas que receberam os isolados Ps 865A, Ps 865D, Ps 866A, Ps 866B, Ps 869A, Ps 870C, Ps 871B e Ps 872 apresentaram um maior número de folhas quando comparadas à testemunha.

Comparando-se os resultados das duas variáveis analisadas, verificou-se um alto número de bactérias benéficas (53%), sendo que a combinação da solarização com alguns isolados de *Pseudomonas* spp. – Ps 870C, Ps 871B e Ps 872 – foram favoráveis tanto ao aumento da massa de matéria seca de plantas de alface quanto ao aumento do número de

folhas, mostrando-se bons promotores de crescimento. *Pseudomonas* fluorescentes vêm se mostrando muito eficientes como promotoras de crescimento de muitas espécies vegetais (Zago et al., 2000). Freitas & Aguilar-Vildoso (2004) encontraram uma alta proporção de promotores de crescimento entre essas bactérias inoculadas em plantas cítricas. Kloepper (1993) também verificou a presença de grande número de promotores de crescimento vegetal entre bactérias do grupo fluorescente desse gênero.

Quadro 25. Número de folhas de plantas de alface cultivadas em substrato solarizado e não solarizado que receberam inóculo de isolados de *Pseudomonas* spp. Médias originais de 10 repetições.

Isolados Bacterianos	Número de folhas de alface		
	Médias	Não solarizado	Solarizado
		4,47B	4,74 A
Testemunha	4,35	4,30 A	4,40 A
Ps 851C	4,38	4,35 A	4,40 A
Ps 851D	4,25	4,25 A	4,25 A
Ps 852C	4,40	4,40 A	4,40 A
Ps 852D	4,65	4,45 A	4,85 A
Ps 853B	4,62	4,40 A	4,85 A
Ps 854B	4,60	4,40 A	4,80 A
Ps 861A	4,35	4,20 A	4,50 A
Ps 863	4,42	4,10 A	4,75 A
Ps 864C	4,62	4,35 A	4,90 A
Ps 865A	4,68 *	4,50 A	4,85 A
Ps 865D	4,72**	4,65 A	4,80 A
Ps 866A	4,92**	4,75 A	5,10 A
Ps 866B	4,72**	4,70 A	4,75 A
Ps 869A	4,68*	4,65 A	4,70 A
Ps 870C	4,80**	4,65 A	4,95 A
Ps 871B	4,90**	4,75 A	5,05 A
Ps 872	4,82**	4,60 A	5,05 A

Valores seguidos por * ou ** diferem significativamente da testemunha pelo teste unilateral de Dunnett, a 5 e 1% respectivamente, quando comparadas na vertical à testemunha.

Valores de mesma letra, na horizontal, não diferem pelo teste de Dunnett ao nível de 1%.

Coefficiente de variação = 8,69%.

No segundo grupo de bactérias testadas também se verificou que a solarização do substrato favoreceu o crescimento mais rápido de todas as mudas de alface, aumentando os valores de massa seca da parte aérea (Quadro 26).

Quadro 26. Matéria seca da parte aérea de plantas de alface cultivadas em substrato solarizado e não solarizado que receberam inóculo de isolados de *Pseudomonas* spp. Médias originais de 10 repetições.

Isolados Bacterianos	Matéria Seca de Parte Aérea (mg)		
	Médias	Não solarizado	Solarizado
		82,29B	132,07A
Testemunha	105,0	84,6 B	125,4 A
Ps 45A	102,3	74,5 B	130,1 A
Ps 45B	115,0	96,6 B	133,3 A
Ps 45C	102,7	75,6 B	129,9 A
Ps 47B	89,9 [♦]	73,9 B	106,1A [♦]
Ps 60A	108,1	84,8 B	131,4 A
Ps 63	110,6	82,2 B	138,9 A
Ps 66B	106,0	80,0 B	132,0 A
Ps 70	108,2	78,6 B	137,7 A
Ps 76	117,3	89,8 B	144,9A *
Ps 85	114,8	80,7 B	148,9A**
Ps 91	114,3	87,9 B	140,8 A
Ps 92	111,7	86,2 B	137,1 A
Ps 859	89,5 [♦]	78,7 B	100,3A ^{♦♦}
Ps 867	106,4	75,1 B	137,8 A
Ps 868	101,0	76,2 B	125,9 A
Ps 870 A	113,6	87,9 B	139,4 A
Ps 874	105,7	81,6 B	129,9 A
G20-18	114,2	88,7 B	139,6 A

Valores seguidos por *ou [♦] e **ou ^{♦♦} diferem significativamente da testemunha pelo teste unilateral de Dunnett, a 5 e 1% respectivamente, quando comparadas na vertical. Asteriscos indicam os isolados com efeito positivo e os losangos, os com efeito negativo.

Valores de mesma letra, na horizontal, não diferem pelo teste de Dunnett ao nível de 1%. Coeficiente de variação = 15,60%.

Como se pode ver no quadro, houve resultados estatisticamente diferentes das plantas em relação às testemunhas para as médias de solarização, independente dos isolados bacterianos, dos isolados, independente da solarização, e para a interação dos dois fatores.

Dois isolados de RPCPs – Ps 85, isolado da rizosfera de alface, e Ps 76, isolado da rizosfera de citros – foram capazes de promover aumento na massa de matéria seca da parte aérea de alface quando inoculados em substrato solarizado. Esse fato não se repetiu para as plantas cultivadas em substrato não solarizado. Os isolados Ps 47B, obtido da rizosfera de soja, e Ps 859, obtido da rizosfera de alface, mostraram-se prejudiciais ao crescimento de plantas de alface em substrato solarizado, enquanto não afetaram as plantas cultivadas em

substrato não solarizado. Esses resultados demonstram que a solarização do solo pode favorecer uma melhor colonização das bactérias, pela eliminação de competição, deixando a planta mais vulnerável a sua ação, seja ela benéfica ou não.

Nesse grupo de bactérias, as plantas do tratamento testemunha diferiram entre si para os tratamentos de solarização, indicando, diferentemente do grupo anterior, que a própria solarização influenciou o crescimento das plantas. Como esse efeito ocorreu na ausência de bactérias inoculadas, pode-se imaginar que, nesse teste, a solarização alterou uma característica do substrato ou do sistema planta-substrato que favoreceu o crescimento vegetal.

Comparando-se as médias para solarização do substrato (Quadro 27), independente da inoculação de isolados de *Pseudomonas* spp. fluorescentes, verificou-se novamente o efeito benéfico da solarização, sendo que as plantas cultivadas no substrato solarizado apresentaram um maior número de folhas do que as cultivadas no substrato que não recebeu o tratamento. Esse efeito benéfico da solarização já havia sido observado na primeira etapa deste trabalho, quando, na primeira amostragem, as plantas de alface apresentaram maior número de folhas e valor de matéria seca da parte aérea. Portanto, esses dados vieram comprovar novamente o benefício da solarização para o maior crescimento ou crescimento mais rápido das plantas.

Os isolados Ps 85 e G20-18 aumentaram o número de folhas significativamente, ao nível de 1%, pela comparação de médias, enquanto os isolados Ps 45B e Ps 91 promoveram esse aumento ao nível de 5% (Quadro 27). Não houve, porém, diferenças estatisticamente significativas para a interação dos dois fatores.

Comparando-se os dados de matéria seca da parte aérea e número de folhas de alface, verificou-se que o isolado Ps 85 foi o isolado que melhor promoveu o crescimento da planta, aumentando significativamente essas duas variáveis analisadas.

Quadro 27. Número de folhas de plantas de alface cultivadas em substrato solarizado e não solarizado inoculadas com isolados de *Pseudomonas* spp. Médias originais de 10 repetições.

Isolados Bacterianos	Número de folhas de Alface		
	Médias	Não solarizado	Solarizado
<i>Médias</i>		4,24 B	5,02 A
Testemunha	4,55	4,15 A	4,95 A
Ps 45A	4,55	4,10 A	5,00 A
Ps 45B	4,78*	4,45 A	5,10 A
Ps 45C	4,62	4,25 A	5,00 A
Ps 47B	4,50	4,05 A	4,95 A
Ps 60A	4,62	4,25 A	5,00 A
Ps 63	4,68	4,30 A	5,05 A
Ps 66B	4,60	4,15 A	5,05 A
Ps 70	4,58	4,15 A	5,00 A
Ps 76	4,68	4,25 A	5,10 A
Ps 85	4,82**	4,45 A	5,20 A
Ps 91	4,78 *	4,50 A	5,05 A
Ps 92	4,73	4,35 A	5,10 A
Ps 859	4,45	4,15 A	4,75 A
Ps 867	4,58	4,10 A	5,05 A
Ps 868	4,52	4,05 A	5,00 A
Ps 870A	4,70	4,40 A	5,00 A
Ps 874	4,52	4,05 A	5,00 A
G20-18	4,80**	4,50 A	5,10 A

Valores seguidos por *** diferem significativamente da testemunha pelo teste unilateral de Dunnett, a 5 e 1% respectivamente, quando comparadas na vertical à testemunha.

Valores de mesma letra, na horizontal, não diferem pelo teste de Dunnett ao nível de 1%. Coeficiente de variação = 5,66%.

Com exceção dos isolados Ps 76, Ps 85, Ps 91 e G20-18, que repetiram a ação de promoção de crescimento das plantas de alface, outros isolados que se apresentaram benéficos no pré-teste – Ps 45A, Ps 45C, Ps 66B e Ps 92 (Quadro 22) – não favoreceram maior crescimento das plantas de alface neste experimento, mostrando novamente a inconsistência da ação das RPCPs. Esses resultados podem refletir a afirmação de Zago et al. (2000) de que nem sempre os efeitos benéficos da utilização de isolados de RPCPs reflete-se em melhoria no crescimento e produção de culturas, sendo que os mecanismos de ação responsáveis pela produção de crescimento de plantas podem estar ligados inicialmente à inibição de patógenos subclínicos, ou seja, beneficiando o crescimento vegetal de forma indireta. Desse modo, a ausência do patógeno anularia o efeito de promoção de crescimento, fato que pode ter ocorrido neste trabalho. O autor cita ainda que,

muitas vezes, é difícil reconhecer os mecanismos e relacioná-los à promoção direta de crescimento, visto que mais de um mecanismo é utilizado pela bactéria.

Outra explicação para o fato seria a diferença da idade das plantas quando foram colhidas: o pré-teste foi desenvolvido por 47 dias, enquanto que neste experimento as plantas foram avaliadas com 30 dias. Segundo Siqueira & Franco (1988) as rizobactérias são ecologicamente agrupadas em: oportunistas – predominando nas raízes mais novas, com crescimento rápido, alta capacidade competitiva e comunidade de pequeno tamanho – e estrategistas – com comunidade de maior tamanho, alta longevidade, baixa mortalidade e crescimento lento, sendo muito especializados e predominando nas raízes mais velhas. Assim, neste experimento, bactérias estrategistas poderiam não ter tido tempo necessário para colonizar as raízes e expressar seu efeito. Já o isolado Ps45B, que não se apresentou bom promotor de crescimento de plantas no pré-teste, foi benéfico neste experimento, contribuindo para o aumento do número de folhas de alface. Além disso, deve-se considerar a diferença de adubação entre o substrato utilizado no pré-teste (substrato rico em matéria orgânica, geralmente utilizado para o cultivo de alface em campo) e neste experimento (substrato comercial para a produção de mudas, com metade da adubação recomendada). Segundo Freitas et al. (2003), a capacidade de promoção de crescimento de plantas pelas RPCPs está provavelmente ligada à fatores nutricionais do substrato.

No terceiro grupo, os valores de matéria seca da parte aérea das mudas de alface foram significativamente diferentes da testemunha quando as médias de solarização do substrato foram analisadas independentemente dos isolados bacterianos e vice e versa. Não houve resultados estatisticamente significativos para a interação dos fatores (Quadro 28).

Assim, a média dos valores de matéria seca da parte aérea de mudas de alface cultivadas em substrato solarizado foi maior do que a média das plantas cultivadas em substrato não solarizado.

Os isolados de rizobactérias do grupo fluorescente de *Pseudomonas*: Ps 41B, Ps 44B, Ps 71, Ps 74 e Ps 223, foram, de uma maneira geral, responsáveis pelo maior crescimento das mudas de alface, sendo que os valores de matéria seca de parte aérea das plantas que os receberam foram significativamente maiores, ao nível de 1 %, na comparação de médias.

Na terceira etapa do experimento, não se verificou efeito dos isolados em dependência da solarização, como foi observado na primeira etapa para a matéria seca das plantas. Nesse caso, o efeito das rizobactérias foi independente do tratamento de solarização.

Quadro 28. Matéria seca da parte aérea de plantas de alface cultivadas em substrato solarizado e não solarizado que receberam inóculo de isolados de *Pseudomonas* spp. Médias originais de 10 repetições.

Isolados Bacterianos	Matéria Seca de Parte Aérea (mg)		
	Médias	Não solarizado	Solarizado
<i>Médias</i>		153,88B	208,8A
Testemunha	163,5	133,8 A	193,2 A
Ps 22A	132,0	117,0 A	147,1 A
Ps 33	127,3	103,5 A	151,2 A
Ps 41B	232,8**	193,2 A	272,4 A
Ps 41C	173,1	133,7 A	212,6 A
Ps 43A	166,5	123,1 A	210,0 A
Ps 43C	136,2	110,7 A	161,7 A
Ps 44B	209,1**	171,2 A	247,0 A
Ps 51B	159,2	135,6 A	182,9 A
Ps 65A	195,9	176,4 A	215,5 A
Ps 71	226,8**	199,9 A	253,7 A
Ps 73	171,5	146,6 A	196,3 A
Ps 74	217,7**	213,1 A	222,3 A
Ps 221	183,8	139,1 A	228,5 A
Ps 222	193,6	174,7 A	212,5 A
Ps 223	212,5**	190,8 A	234,3 A

Valores seguidos por * e ** diferem significativamente da testemunha pelo teste unilateral de Dunnett, a 5 e 1% respectivamente, quando comparadas na vertical.

Valores de mesma letra, na horizontal, não diferem pelo teste de Dunnett ao nível de 1%.

Coefficiente de variação = 26,45%.

Para a variável número de folhas, houve diferenças estatisticamente significativas a 1% das plantas em relação à testemunha para as médias de solarização independente dos isolados bacterianos, para os isolados bacterianos, independente da solarização e também para a interação de ambos os fatores (Quadro 29).

Os valores de número de folhas de todas as plantas cultivadas em substrato solarizado foram estatisticamente superiores em relação aos das plantas cultivadas em substrato não solarizado.

Os isolados de bactérias Ps 44B, Ps 71, Ps 74, Ps 222 e Ps 223 contribuíram para o aumento do número de folhas de plantas cultivadas nos substratos solarizado e não solarizado em relação às testemunhas. Já os isolados Ps43A, Ps 43C, Ps 51, Ps 65A, Ps 73 e Ps 221, foram eficientes para aumentar o número de folhas das mudas de alface apenas no substrato solarizado.

Quadro 29. Número de folhas de plantas de alface cultivadas em substrato solarizado e não solarizado inoculadas com isolados de *Pseudomonas* spp. Médias originais de 10 repetições.

Isolados Bacterianos	Número de folhas de alface		
	Médias	Não solarizado	Solarizado
		5,33 B	6,00 A
Testemunha	5,38	5,10 B	5,65 A
Ps 22A	5,30	4,90 B	5,70 A
Ps 33	5,38	5,00 B	5,75 A
Ps 41B	5,65*	5,35 B	5,95 A
Ps 41C	5,45	4,95 B	5,95 A
Ps 43A	5,55	5,10 B	6,00 A*
Ps 43C	5,63*	5,25 B	6,00 A*
Ps 44B	5,75**	5,45 B*	6,05 A*
Ps 51	5,75**	5,40 B	6,10 A**
Ps 65A	5,70**	5,30 B	6,10 A**
Ps 71	6,03**	5,80 B**	6,25 A**
Ps 73	5,75**	5,40 B	6,10 A**
Ps 74	5,83**	5,65 B**	6,00 A*
Ps 221	5,83**	5,40 B	6,25 A**
Ps 222	5,80**	5,60 B**	6,00 A*
Ps 223	5,88**	5,65 B**	6,10 A**

Valores seguidos por * e ** diferem significativamente da testemunha pelo teste unilateral de Dunnett, a 5 e 1% respectivamente, quando comparadas na vertical.

Valores de mesma letra, na horizontal, não diferem pelo teste de Dunnett ao nível de 1%.

Coefficiente de variação = 5,45%.

De maneira geral, dos 16 isolados testados, 11 foram capazes de promover o crescimento das plantas de alface em substrato solarizado. Ao se compararem as duas variáveis analisadas verifica-se que os isolados Ps 41B, Ps 44B, Ps71, Ps 74 e Ps 223

promoveram o crescimento de mudas de alface aumentando o número de folhas e a massa de matéria seca.

O quadro 30 apresenta os resultados da análise química realizada com os substratos solarizado e não solarizado utilizados no experimento com o terceiro grupo de rizobactérias. A análise foi feita apenas em uma amostra, sem repetições, não tendo sido aplicada a análise estatística. Assim, os resultados apresentados são apenas indicativos de alterações. Os valores de pH e condutividade elétrica no substrato foram os mesmos para os substratos solarizados e não solarizados, bem como ocorreu para os teores dos micronutrientes ferro e boro. Houve uma pequena redução, provavelmente não significativa, nos teores de cloreto, enxofre, potássio, sódio, cálcio e magnésio no substrato solarizado. Houve também um pequeno aumento – talvez não significativo – nas quantidades de nitrogênio (N-amônio e N-nitrato), fósforo e dos micronutrientes cobre e zinco nesse tratamento. Neste trabalho não foi feita análise de variância como realizada por Freitas et al. (2002) que observaram um aumento significativo de NH_4^+ e NO_3^- .

Quadro 30. Análise química de rotina de amostras de substrato solarizado e não solarizado utilizado para o experimento com o terceiro grupo de rizobactérias.

	pH	EC	N-nitrato	N-amônio	Cloreto	Enxofre	Fósforo	Potássio
		dS/m	mg/L					
Não Solarizado	4,7	1,3	80,3	5,2	37,3	71,2	2,0	116,3
Solarizado	4,7	1,3	86,5	6,5	34,8	60,1	2,4	109,0

	Sódio	Cálcio	Magnésio	Boro	Cobre	Ferro	Manganês	Zinco
	mg/L							
Não Solarizado	19,0	73,3	53,4	<0,01	0,03	0,7	2,0	0,1
Solarizado	18,0	70,5	50,2	<0,01	0,1	0,7	1,8	0,4

Método de extração: 1:1, 5 (Holanda). Métodos de determinação: N-(amoniaco e nitrato): destilação; K, Ca, Mg, P, S, Cu, Fe, Mn, Zn: ICP-OES; C orgânico: Walkley-Black; Nitrogênio total: Kjeldahl; análise realizada pelo Laboratório de Análise de Solo e Planta do Instituto Agronômico, em Campinas.

Como vimos no quadro 30, diferente do encontrado em outros trabalhos, o aumento do nitrogênio pela solarização deve ter sido pequeno, e é pouco provável que tenha sido o único fator responsável pelo maior crescimento das plantas de alface, seja pelo aumento da matéria seca ou do número de folhas, independente da bactéria inoculada, bem como, também, o favorecimento do efeito benéfico das rizobactérias pela solarização. No entanto, como discutido anteriormente, esses dados não foram analisados estatisticamente, deixando dúvidas de sua significância. Kurek et al. (2003) mostraram que a eficiência das bactérias *P. fluorescens* como RPCPs e sua ação antagonista contra *Fusarium* spp. pode ser aumentada pela aplicação de fertilizante nitrogenado. Os autores verificaram que mudas de centeio que receberam a inoculação dessas bactérias tiveram um aumento significativo da matéria seca foliar. Porém, o melhor efeito da promoção de crescimento e do controle contra o fungo ocorreu quando o centeio crescia em solo fertilizado com uma mistura de NO_3^- e NH_4^+ .

Analisando-se os dados obtidos nos experimentos com os três grupos de rizobactérias, observa-se que sempre houve a promoção de crescimento de plantas de alface, seja pelo aumento da matéria seca da parte aérea ou do número de folhas de alface. Esse efeito benéfico foi observado como consequência tanto da solarização, quanto da inoculação de rizobactérias separadamente ou em resposta à interação dos dois fatores. Com base nisso, pode-se afirmar que a prática da solarização de substrato para a produção de mudas de alface pode ser muito útil, principalmente se utilizada em conjunto com a inoculação de RPCPs, pois além de promover o maior crescimento das mudas por si só, ainda pode favorecer a ação benéfica dessas bactérias. No entanto, a ação das bactérias, em resposta às condições oferecidas, precisa ser mais estudada, pois como foi visto, neste trabalho e na literatura, embora seja muito promissora, ainda há inconstância nos resultados.

V. DISCUSSÃO GERAL

A solarização do substrato causou uma redução da microbiota logo após ser realizada, refletida pela diminuição do carbono e nitrogênio da biomassa microbiana, microrganismos amonificadores, nitrificadores, celulolíticos, amilolíticos e bactérias não fluorescentes. O aumento da relação C/N da biomassa microbiana na primeira amostragem e a redução da liberação de CO₂ pela respiração de microrganismos do solo e aumento do quociente metabólico aos 30 dias após a solarização também foram indicativos da alteração na microbiota. No entanto, com o tempo, a microbiota do substrato solarizado se restabeleceu, sendo que aos 30 dias após a solarização alguns grupos de microrganismos, como os amonificadores e amilolíticos, já haviam tido seu número igualado aos do substrato não solarizado e outros grupos como os nitrificadores e celulolíticos, apresentaram-se em maior número no substrato solarizado nessa amostragem.

Nem todos os grupos de microrganismos foram imediatamente afetados pela solarização, como os microrganismos proteolíticos, que tiveram o seu número diminuído apenas na amostragem feita aos 60 dias, mas também se restabeleceram nas amostragens seguintes.

As *Pseudomonas* spp. do grupo fluorescente foram positivamente influenciadas pela solarização, tendo seu número aumentado aos 60 dias no substrato e 120 dias na rizosfera.

Assim, aos 90 dias, a maioria dos grupos microbianos funcionais já havia voltado ao equilíbrio, com exceção apenas dos nitrificadores e *Pseudomonas* spp. fluorescentes que se apresentaram em número maior no substrato solarizado na amostragem seguinte.

As plantas de alface cultivadas em substrato solarizado tiveram maior crescimento na primeira amostragem após a solarização e nesse tratamento houve uma redução média de 92,3% na emergência de plantas invasoras.

A solarização por si só promoveu o maior crescimento de mudas de alface e também propiciou o aumento do efeito benéfico de promoção de crescimento de plantas de alface inoculadas com os isolados Ps43A, Ps43C, Os 44B, Ps51, Ps65A, Ps71, Ps73, Ps74, Ps76, Ps85, Ps221, Ps222, Ps223, Ps852D, Ps870C, Ps871B e Ps872 de *Pseudomonas* spp. fluorescentes.

Os isolados Ps33, Ps41B, Ps43A, Ps43B, Ps43C, Ps44A, Ps44B, Ps45A, Ps45C, Ps46, Ps47A, Ps47B, Ps47D, Ps51B, Ps52A, Ps52B, Ps53B, Ps66B, Ps72, Ps74, Ps76, Ps80, Ps85, Ps92, 136RN e G20-18 do pré teste sem solarização e os isolados Ps41B, Ps44B, Ps45B, Ps71, Ps74, Ps85, Ps91, Ps222, Ps 223, Ps865A, Ps865D, Ps866A, Ps866B, Ps869A, Ps870C, Ps871B, Ps872 e G20-18 do teste de solarização mostraram o efeito de promoção de crescimento de plantas independente da solarização do substrato.

Alguns isolados bacterianos não repetiram o efeito de promoção de crescimento apresentado no pré-teste quando testados posteriormente para a verificação da eficiência da solarização: Ps33, Ps43C, Ps45A, Ps45C, Ps51B, Ps66B e Ps47B, sendo que esse último apresentou-se prejudicial para plantas cultivadas no substrato solarizado. O isolado Ps859 também foi prejudicial às plantas cultivadas em substrato solarizado e os isolados Ps852C e Ps861A mostraram-se prejudiciais às plantas cultivadas em substrato não solarizado, mostrando que a solarização controlou esse efeito.

VI. CONCLUSÕES

Observando-se os resultados como um todo, pode-se concluir que a solarização é um método de desinfestação que pode ser usado sem causar alterações irreversíveis aos microrganismos que fazem parte da ciclagem de nutrientes e manutenção da fertilidade do solo, sendo que, embora esses sejam afetados pela solarização, a sua recuperação ocorre em um período relativamente curto. Além disso, a solarização favorece o crescimento de *Pseudomonas* spp. do grupo fluorescente e a introdução de isolados de RPCPs, promovendo o crescimento de mudas de alface.

Há uma inconstância no efeito de promoção de crescimento de plantas de alface apresentado pelas *Pseudomonas* spp. fluorescentes.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRIL, A.; CAUCAS, V. & BUCHER, E.H. (2001). Reliability of the in situ incubation methods used to assess nitrogen mineralization: a microbiological perspective. **Applied Soil Ecology**, **17**:125-130.

AGBENIN, J.O. & ADENIYI, T. (2005). The microbial biomass properties of a savanna soil under improved grass and legume pastures in northern Nigeria. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, **109**: 245-254.

AKHTAR, M & MALIK, A (2000). Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. **Bioresource Technology**, **74**:35-47.

AL-KARAGHOULI, A. A. & AL-KAYSSI, A. W. (2001). Influence of soil moisture content on soil solarization efficiency. **Renewable Energy**, **24**:131-144.

ALEXANDER, M & CLARK, E. (1979). Nitrifying bacteria. In: BLACK, C. A. **Methods of Soil Analysis**, 1477p.

ANDERSON, T.H. & DOMSCH, K.H. (1989). Ratio of microbial biomass carbon in arable soils. **Soil Biology and Biochemistry**, **21**(4):471-479.

ANDRADE, D. S.; MIYZAWA, M. & HAMAKAWA, P. J. (1994). Microrganismos amonificadores e nitrificadores. In: HUNGRIA, M. & ARAÚJO, R.S. **Manual de Métodos Empregados em Estudos de Microbiologia**. Brasília: EMBRAPA-SPI.

ARSHAD, M & FRANKENBERGER JR, W.T. (1998). Plant grow-regulating substances in the rhizosphere: microbial production and functions. **Advances in Agronomy**, **62**:45-151.

AZEVEDO, F. A. & AGUILLERA, M. M. (2005). Efeitos diretos e residuais da solarização do solo sobre as populações de nematóides, na cultura da berinjela (*Solanum melongena*), sob condições de campo naturalmente infestado com *Verticillium dahliae*. UFSCAR, www.ufscar.br/publica/vicic/c_bio_agra/ba064.html. Acessado em junho de 2005.

BAKER, R. & DÉFAGO, G. (1987). Environmental aspect of growth promotion resulting from biological control. In: **Proceedings of the First International Workshop on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria**. Orillia:Kloepper, J., 1987, p.17-22.

BALOTA, E. L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S. & HUNGRIA, M. (1998). Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, **22**: 641-649.

BARAZANI, O. & FRIEDMAN, J. (1999). Is IAA the major root growth factor secreted from plant-growth-mediating bacteria? **Journal of Chemical Ecology**, **25**(10): 2397-2406.

BARROS, B. C.; PATRÍCIO, F. R. A.; LOPES, M. E. B. M.; FREITAS, S. S.; SINIGAGLIA, C.; MALAVOLTA, V.M.A.; TESSARIOLI NETO, J. & GHINI, R. (2004). Solarização do solo com filmes plásticos com e sem aditivo estabilizador de luz ultravioleta. **Horticultura Brasileira**, **22**(2): 253-259.

BENDAVID-VAL, R.; RABINOWITCH, H. D.; KATAN, J. & KAPULNIK, Y. (1997). Viability of VA-mycorrhizal fungi following soil solarization and fumigation. **Plant and Soil**, **195**(1): 185-193.

BENIZRI, E.; BAUDOIN, E. & GUCKERT, A. (2001). Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. **Biocontrol Science and Technology**, **11**(5): 557-574.

BLOK, W. J.; LAMERS, J. G.; TERMORSHUIZEN, A. J. & BOLLEN, G. J. (2000). Control of soil borne plant pathogens by incorporating fresh organic amendments followed by tarping. **Phytopathology**, **90**(3): 253-259.

BOURBOUS, V. A.; SKOUDRIDAKIS, M. T.; DARAKIS, G. A. & KOULIZAKIS, M. (1997). Calcium cyanamide and soil solarization for the control of *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* in greenhouse cucumber. **Crop Protection**, **16**(4): 383-386.

BROOKES, P. C.; LANDMAN, A.; PRUDEN, G. & JENKINSON, D. S. (1985). Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, **17**:837-842.

BURR, T. J. & CAESAR, A. (1984). Beneficial plant bacteria. **CRC Critical Reviews in Plant Sciences**, **2**(1):1-20.

CAFÉ FILHO, A. C. & LOBO JR, M. (2000). Manejo de fatores físicos e culturais para o controle de patógenos do solo. **RAPP**, **8**:267-301.

CARVALHO, P. C. T.; CARDOSO, C. O. N. & CARDOSO, E. J. B. (1980). **Caderno de aulas práticas do Departamento de Fitopatologia**, Piracicaba: ESALQ/USP, 64p.

CERRI, C. C.; ANDREUX, F. & EDUARDO, B. P. (1992). O ciclo do carbono do solo. In: CARDOSO, E. J. B. N.; SAITO, S. M. T.; NEVES, M. C. P.. **Microbiologia do Solo**, Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 360p.

CHABOT, R.; ANTOUN, H. & CESCAS, M. P. (1996). Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar phaseoli. **Plant and Soil**, **184**(2): 311-321.

CHELLEMI, D. O.; OLSON, S. M.; MITCHELL, D. J.; SECKER, I. & MCSORLEY, R. (1997). Adaptation of soil solarization to the integrated management of soil borne pests of tomato under humid conditions. **Phytopathology**, **87**(3): 250-258.

CHEN, Y.; SOLOVITCH, T. NAVROT, J. & KATAN, J. (1981). The effect of solar heating of soils in their chemical characteristics and plant growth stimulation. **Phytoparasitica**, **9**:236.

CHEW, I.; OBBARD, J. P. & STANFORTH, R. R. (2000). Microbial cellulose decomposition in soils from a rifle range contaminated with heavy metals. **Environmental Pollution**, **111**: 367-375.

COELHO, A. M. & FRANÇA, G.E. (1995) Seja o doutor do seu milho: nutrição e adubação. **Arquivo Agrônomo**, **2**:1-9.

COELHO, L.F.; FREITAS, S.S.; MELLO, A.M.T.& AMBROSANO, G.M.B (2005). Interação de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* e de *Bacillus* spp. com a rizosfera de diferentes plantas. **45o. Congresso Brasileiro de Olericultura**, Fortaleza (CE), 7 a 12 de agosto de 2005.

CRUZ, J. C. S.; (2003). **Aspectos microbiológicos e químicos em solo submetido à solarização**. Dissertação (mestrado) – UNESP, Botucatu. 110 p.

D'ANDREA, A.F.; SILVA, M.L.N.; CURI, N.; SIQUEIRA, J.O. & CARNEIRO, M.A.C. (2002). Atributos biológicos indicadores da qualidade do solo em sistemas de

manejo na região do cerrado no sul do estado de Goiás. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, **26**:913-923.

DE BOER, W. & KOWALCHUK, G.A. (2001). Nitrification in acid soils: microorganisms and mechanisms. **Soil Biology & Biochemistry**, **33**:853-866.

DESAEGER, J. & RAO, M.R. (2001). Effect of field establishment methods on root-Knot nematode (*Meloidogyne* spp.) infection and growth of *Sesbania sesban* in western Kenya. **Crop Protection**, **20**:31-41.

DIGAT, B.; GAUDILLAT, M. & LABADIE, J. M. (1990). Susceptibility of various tomato and lettuce genotypes to plant-growth-promotion *Pseudomonas*. **Symbiosis**, **9**(1-3):295-303.

DONZELI, V. P. (2002). **Atividade e alguns componentes da comunidade microbiana do solo e microrganismos diazotróficos endofíticos sob influência do nitrogênio na cultura do milho**. Dissertação (mestrado)-UNICAMP, Campinas, 84p.

DORAN, J. W. & SAFLEY, M. (1997). Defining and assessing soil health and sustainable productivity. In: PANKHURST, C.; DOUBE, B. M.; GUPTA, V. (Eds), **Biological Indicators of Soil Health**. CAB international, Wallingford, p. 1-28.

DWIVEDI, R. (1998). Soil solarization and the survival of two fungal pathogens of sugarcane and the composition of the soil fungal community. **Soil Biology and Biochemistry**, **30**(13): 1849-1852.

EL-TARABILY, K; NASSAR, A.H.; HARDY, G. E. S.J. & SIVASITHAMPARAM, K. (2003). Fish emulsion as a food base for rhizobacteria promoting growth of radish (*Raphanus sativus* L. var. *sativus*) in a sand soil. **Plant and Soil**, **252**: 397-411.

ESHEL, D.; GAMLIEL, A.; GRINSTEIN, A.; DI PRIMO, P. & KATAN, J. (2000). Combined soil treatments and sequence of application in improving the control of soil borne pathogens. **Phytopathology**, **90**(7):751-757.

ESPINDOLA, J. A. A.; ALMEIDA, D. L.; GUERRA, J. G. M. & SILVA, E. M. R. (2001). Flutuação sazonal da biomassa microbiana e teores de nitrato e amônio de solo coberto com *Paspalum notatum* em um agrossistema. **Floresta e Ambiente**, **8**(1): 104-113.

FEIGL, B.J. (1994). **Dinâmica da matéria orgânica do solo na sucessão floresta/pastagem na Amazônia (Rondônia)**. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba.

FERNANDES, S.A.P.; BETTIOL, W. & CERRI, C.C. (2005). Effect of sewage sludge on microbial biomass, basal respiration, metabolic quotient and soil enzymatic activity. **Applied Soil Ecology**, **30**:65-77.

FERRAZ, L. C. L. (2001). **Práticas culturais para o manejo de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em feijoeiro**. Tese (doutorado), ESALQ. 154p.

FREITAS, L. G. (2005). Rizobactérias versus nematóides. Artigo da Universidade Federal de Viçosa: www.ufv.br/dfp/lab/nematologia/rizo.pdf. Acessado em julho de 2005.

FREITAS, S. S. (1989). Desenvolvimento de plântulas de café pela inoculação de *Pseudomonas* sp. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, **13**: 31-34.

FREITAS, S. S. (1994). **Rizobactérias e suas interações com plantas e microrganismos**. Tese (doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba 112p.

FREITAS, S.S. & AGUILAR-VILDOSO, C.I. (2004). Rizobactérias e promoção do crescimento de plantas cítricas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, **28**: 987-994.

FREITAS, S. S.; MELO, A. M. T. DE & DONZELI, V. P. (2003). Promoção de crescimento de alface por rizobactérias. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, **27**(1):61-70.

FREITAS, S. S.; SINIGAGLIA, C.; BARROS, B. C.; PATRÍCIO, F. R. A.; CANTARELLA, H. & TESSARIOLI NETO, J. (2002). Microrganismos e atividade microbiana em solo solarizado. **Fertbio**.

GAMLIEL, A.; AUSTERWEIL, M & KRITZMAN, G. (2000). Non-approach to soil borne pest management- organic amendments. **Crop Protection**, **19**:847-853.

GAMLIEL, A. & KATAN, J. (1992). Influence of seed and root exudates on fluorescent pseudomonads and fungi in solarized soil. **Phytopathology**, **82**:320-327.

GAMLIEL, A. & KATAN, J. (1991). Involvement of fluorescent pseudomonads and other microorganisms in increased growth response of plants in solarized soils. **Phytopathology**, **81**: 494-502.

GAMLIEL, A. & STAPLETON, J. J. (1993a) Characterization of antifungal volatile compounds evolved from solarized soil amended with cabbage residues. **Phytopathology**, **83**(9): 899-905.

GAMLIEL, A. & STAPLETON, J. J. (1993b) Effect of chicken compost or ammonium phosphate and solarization on pathogen control, rhizosphere microorganisms, and lettuce growth. **Plant Disease**, **77**(9): 886-891.

GASONI, L.; COZZI, J.; KOBAYASHI, K.; YOSSEN, V.; ZUMELZU, G.; BABBITT, S. & KAHN, N. (2001). Yield response of lettuce and potato to bacterial and fungal inoculants under field conditions in Cordoba (Argentina). **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection**, **108**(5):530-535.

GHINI, R. (1993). A solar collector for soil disinfestation. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, **99**: 45-50.

GHINI, R. (1997). Desinfestação do solo com o uso de energia solar: solarização e coletor solar. Jaguariúna: **EMBRAPA-CNPMA**, **29p. Circular 1**.

GHINI, R. & BETTIOL, W. (1995). Controle físico. In: BERGAMIN FILHO, A; KIMATI, I. L. & AMORIM, L. **Manual de fitopatologia**, 3e-SP: Agronômica Ceres, p. 786-803.

GHINI, R. & BETTIOL, W. (1991). Coletor solar para desinfestação de substratos. **Summa Phytopathologica**, **17**:281-286.

GHINI, R; PATRÍCIO, F.R.A.; SOUZA, M.D.; SINIGAGLIA, C.; BARROS, B. C.; LOPES, M. E. B. M.; TESSARIOLI NETO, J. & CANTARELLA, H. (2003). Efeito da solarização sobre propriedades físicas, químicas e biológicas de solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, **27**:71-79.

GHINI, R; SCHOENMAKER, I. A. S. & BETIOLL, W. (2002). Solarização do solo e incorporação de matéria orgânica no controle de *Pythium* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, **37**(9):1253-1261.

GOMES, A.M.A.; MARIANO, R.L.R.; SILVEIRA, E.B. & MESQUITA, J.C.P. (2003). Isolamento, seleção de bactérias e efeito de *Bacillus* spp. na produção de mudas orgânicas de alface. **Horticultura Brasileira**, **21**(4): 699-703.

GRISI, B. M. (1984). Metodologia na determinação de biomassa microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, **8**: 167-172.

GULLINO, M. L.; MINUTO, A. & GARIBALDI, A. (1998). Improved method of bench solarization for the control of soil borne diseases in basil. **Crop Protection**, **17**(6): 497-501.

GUO, J.H.; QI, H.Y.; GUO, Y.H.; GE, H.L.; GONG, L.Y.; ZHANG, L.X. & SUN, P.H. (2004). Biocontrol of tomato wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. **Biological Control**, **29**: 66-72.

HADAS, A.; KAUTSKY, L.; GOEK, M. & KARA, E.E. (2004). Rates of decomposition of plant residues and available nitrogen in soil, related to residue composition through simulation of carbon and nitrogen turnover. **Soil Biology & Biochemistry**, **36**:255-266.

HALVORSON, H. O. & ZIEGLER, N. R. (1932). Application of statistics to problems in bacteriology. I. A means of determining bacterial population by the dilution method. **Journal of Bacteriology**, **XXV**: 101-102.

HASING, J. E.; MOTSENBOCKER, C.E. & MONLEZUN, C.J. (2004). Agro-economic effect of soil solarization on fall-planted lettuce (*Lactuca sativa*). **Scientia Horticulture**, **101**:223-233.

HELAL, H. M. & SAUERBECK, D. (1986). Effect of plant roots on carbon metabolism of soil microbial biomass. **Z. Pflanzenernaehr Bodenk**, **149**:181-188.

HOFFMANN-HERGARTEN, S.; GULATI, M. K. & SIKORA, R. A. (1998). Yield response and biological control of *Meloidogyne incognita* on lettuce and tomato with rhizobacteria. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection**, **105**(4): 349-358.

HORWART, W.R. & PAUL, E.A. (1994). Microbial biomass. In: WEAVER, R.W.; ANGLE, J.S. & BOTTOMLEY, P.S. **Methods of Soil Analysis**, USA, Soil Science Society of America.

HUBBARD, R. M.; VOSE, J. M.; CLINTON, B. D.; ELLIOTT, K. J. & KNOEP, J. D. (2004). Stand restoration burning in oak-pine forests in the southern Appalachians: effects on aboveground biomass and carbon and nitrogen cycling. **Forest Ecology and Management**, **190**:1-11.

ILMÉM, M., SALHEIMO, A., ONNELA, M-L & PENTTILÄ, M.E. (1997) Regulation of cellulase gene expression in the filamentous fungus *Trichoderma reesei*. **Applied and Environmental Microbiology**, **63**(1):1298-1306.

IOANNOU, N (2000). Soil solarization as a substitute for methyl bromide fumigation in greenhouse tomato production in Cyprus. **Phytoparasitica**, **28**(3):1-9.

JARVIS, S. C.; STOCKDALE, E. A.; SHEPHERD, M. A. & POWLSON, D. A. (1996) Nitrogen mineralization in temperate agricultural soils: processes and measurement. **Advances in Agronomy**, **57**: 187-235.

JENKINSON, D. S. (1988). Determination of microbial biomass carbon and nitrogen in soils. In: Wilson, J. R. **Advances in Nitrogen Cycling Agricultural Systems**. Wallingford: CAB international, p. 368-386.

JJEMBA, P. K. & ALEXANDER, M. (1999). Possible determinants of rhizosphere competence of bacteria. **Soil Biology and Biochemistry**, **31**(4):623-632.

KAISER, C.; MEYER, H.; BIASI, C., RUSALIMOVA, O.; BARSUKOV, P. & RICHTER, A. (2005). Storage and mineralization of carbon and nitrogen in soils of a frost-boil tundra ecosystem in Siberia. **Applied Soil Ecology**, **29**:173-183.

KATAN, J. (2000). Physical and cultural methods for the management of soil-borne pathogens. **Crop Protection**, **19**:725-731.

KATAN, J.; GREENBERGER, A.; ALON, H & GRINSTEM, A. (1976). Solar heating by polyethylene mulching for the control of diseases caused by soil-borne pathogens. **Phytopathology**, **66**:683-688.

KING, E. O.; WARD, M. R. & RANEY, D. E. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. **J. Lab. Clin. Med.**, **44**:301-307.

KLOEPPER, J. W. (1993). Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. In: METTING, F. B., ed **Soil microbial ecology**. New York, Marcel Dekker, p. 255-274.

KLOEPPER, J; TUZUN, S. & KUÉ, J. (1992). Proposed definitions related to induced disease resistance. **Biocontrol Science and Technology**, **2**:347-349.

KOKALIS-BURELLI, N; KLOEPPER, J. W. & REDDY, M. S. (2005). Plant growth-promoting rhizobacteria as transplant amendments and their effects on indigenous rhizosphere microorganisms. **Applied Soil Ecology**, **in press**, disponível online desde 8 de junho de 2005.

KOKALIS-BURELLI, N.; VAVRINA, C. S.; ROSSKOPF, E.N. & SHELBY, R.A. (2002). Field evaluation of plant growth-promoting Rhizobacteria amended transplant mixes and soil solarization for tomato and pepper production in Florida. **Plant and Soil**, **238**: 257-266.

KUBAT, J.; NOVAKOVA, J.; CERHANOVA, D. & APFELTHALER, R. (1999). Organic nitrogen cycle, ammonification and nitrification activity in long-term field experiment. **Rostlina Vyroba**, **45**(9):397-402.

KUMAR B. S. D. (1998). Disease suppression and crop improvement through fluorescent pseudomonads isolated from cultivated soils. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, **14**(5): 735-741.

KUREK, E.; JAROSZUK-SCISEL, J. & SHTSLS, Z.(2003). Rye (*Secale cereale*) growth promotion by *Pseudomonas fluorescens* strains and their interactions with *Fusarium culmorum* under various soil conditions. **Biological Control**, **26** (1): 48-56

KUVA, M.A.; ALVES, P.L.C.A. & ERASMO, E.L.A. (1995). Efeitos da solarização do solo através de plástico transparente sobre o desenvolvimento da tiririca (*Cyperus rotundus*). **Planta Daninha**, **13**:26-31.

LANDA, B. B.; WERD, H. A. E. DE; GARDENER, B. B. M. & WELLER, D. M. (2002). Comparison of three methods for monitoring populations of different genotypes of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens* in the rhizosphere. **Phytopathology**, **92**(2):129-137.

LEMANCEAU, P.; CORBERAND, T.; GARDAN, L.; LATOUR, X.; LAGUERRE, G.; BOEUFGRAS, J. & ALABOUVETTE, C. (1995). Effect of two plant species, flax (*Linum usitatissimum*) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.), on the diversity of soilborne populations of fluorescent pseudomonads. **Applied and Environmental Microbiology**, **61**(3): 1004-1012.

LOPEZ-ESCUADERO, F. J. & BLANCO-LOPEZ, M. A. (2001). Effect of a single or double soil solarization to control *Verticillium* wilt in established olive orchards in Spain. **Plant Disease**, **85**(5): 489-496.

LOPES, M. E. B. M.; GHINI, R.; TESSARIOLI, J. & PATRÍCIO, F. R. A. (2000). Solarização do solo para o controle de *Pythium* na cultura do pepino em cultivo protegido. **Summa Phytopathologica**, **26**:224-227.

MANSOORI, B. & JALIANI, N. K. H. (1996). Control of soilborne pathogens of watermelon by solar heating. **Crop Protection**, **15**(5): 423-424.

MARENCO, R.A. & LUSTOSA, D.C (2000). Soil solarization for weed control in carrot. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, **35**(10):2025-2032.

MARIANO, R.L.R. & KLOEPPER, J.W. (2000). Método alternativo de biocontrole: resistência sistêmica induzida por rizobactérias, **RAPP**, **8**: 121-137.

MARQUES, T. C. L. L. S. M.; VASCONCELLOS, C. A.; PEREIRA FILHO, I.; FRANÇA, G. E. & CRUZ, J. C. (2000). Evolvimento de dióxido de carbono e mineralização de nitrogênio em latossolo vermelho-escuro com diferentes manejos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, **35**(3): 581-589.

MATSUKOA, M.; MENDES, I.C. & LOUREIRO, M.F. (2003). Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste (MT). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, **27**:425-433.

MAY-DE-MIO, L. L.; GHINI, R. & KIMATI, H. (2002). Solarização para controle de *Phytophthora parasitica* em mudas de citros (*Citrus spp.*). **Fitopatologia Brasileira**, **27** (3):254-258.

McLEAN, K. L.; SWAMINATHAN, J. & STEWART, A. (2001). Increasing soil temperature to reduce sclerotial viability of *Sclerotium cepivorum* in New Zealand soils. **Soil Biology & Biochemistry**, **33**:137-143.

MELLONI, R.; PEREIRA, E. G.; TRANNINI, I. C. B.; SANTOS, D. R.; MOREIRA, F. M. S. & SIQUEIRA, J. O. (2001). Características biológicas de solos sob mata ciliar e campo cerrado no sul de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, **25**(1): 7-13.

MEZZALAMA, M.; GHINI, R.; RUFFA, P.; AMBROSOLI, R. & GARIBALDI, A. (1997). Effect of antagonistic *Fusarium oxysporum* on functional groups of indigenous bacteria in soil. **Applied Soil Ecology**, **7**:31-40.

MILAN, P. (2002). Análise econômica e financeira da solarização na cultura de alface. **Economia e Administração e Sociologia**, São Paulo:ESALQ/USP.163p.

MILLER, A.E. & BOWMAN, W.D. (2003). Alpine plants show species-level differences in the uptake of organic and inorganic nitrogen. **Plant and Soil**, **250**: 283-293.

MONTEIRO, M.T. & GAMA-RODRIGUES, E.F. (2004). Carbono, nitrogênio e atividade da biomassa microbiana em diferentes estruturas de serrapilheira de uma floresta natural. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, **28**: 819-826.

MOORE, J. M.; KLOSE, S. & TABATABAI, A. M. (2000). Soil microbial biomass carbon and nitrogen as affected by cropping systems. **Biology and Fertility Soils**, **31**: 200-210.

NAIR, S. R.; PEETHAMBARAN, C. K.; GEETHA, D.; NAYAR, K. & NILSON, K. I. (1990). Effects of soil solarization on nodulation, infection by mycorrhizal fungi and yield cowpea. **Plant and Soil**, **125**(1):153-154.

NANDAKUMAR, R.; BABU, S.; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T & SAMIYAPPAN, R. (2001). Induction of systemic resistance in rice against sheath blight disease by *Pseudomonas fluorescens*. **Soil Biology and Biochemistry**, **33**: 603-612.

NICO, A. I.; JIMENEZ-DIAZ, R.M. & CASTILLO, P. (2003). Solarization of soil in piles for the control of *Meloidogyne incognita* in olive nurseries in southern Spain. **Plant Pathology**, **52**:770-778.

NUERNBERG, N. J.; VIDOR, C. & STAMMEL, J. G. (1984). Efeito de sucessões de culturas e tipos de adubação na densidade populacional e atividade microbiana. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, **8**: 197-203.

OLIVEIRA, F.F.; MIRANDA, S.C. & RICCI, M.S.F. (2002a) Influência do preparo do solo e seu posterior revolvimento sobre a eficiência da cobertura plástica utilizada no controle da tiririca (*Cyperus rotundus* L.). Seropédica. Embrapa Agrobiologia. 18 p. (**Embrapa Agrobiologia . Documentos**, 155)

OLIVEIRA, R. M.; CARVALHO, E. P. & SCHWAN, R. F. (2002b). Produção de enzimas hidrolíticas extra celulares por *Fusarium* em sistema de batelada simples. Centro Universitário do Sul de Minas, MG. <http://www.fepesmig.br/interação/n2/art2.htm>

OTIENO, W.; TERMORSHUIZEN, A.; JEGER, M. & OTHIENO, C. (2003). Efficacy of soil solarization, *Trichoderma harzianum*, and coffee pulp amendment against *Armillaria* sp. **Crop Protection**, **22**: 325-331.

OWEN, J.S.; WANG, M.K.; SUN, H.L.; KING, H.B.; WANG, C.H. & CHUANG, C.F. (2003). Comparison of soil nitrogen mineralization and nitrification in a mixed grassland and forested ecosystem in central Taiwan. **Plant and Soil**, **251**:167-174.

PATRÍCIO, F.R.A.; SINIGAGLIA, C.; BARROS, B.C.; FREITAS, S.S.; TESSARIOLI NETO, J.; CANTARELLA, H. & GHINI, R. (2005). **Crop protection**, **In press**, available on line.

PEREZ, K.S.S.; RAMOS, M.L.G. & McMANUS, C. (2004). Carbono da biomassa microbiana em solo cultivado com soja sob diferentes sistemas de manejo nos cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, **39**(6):567-573.

PIDELLO, A. (2003). The effect of *Pseudomonas fluorescens* strains varying in pyoverdine production of the soil redox status. **Plant and Soil**, **253**:373-379.

PINKERTON, J.N.; IVORS, K.L.; REISER, R.W.; BRISTOW, P.R. & WINDOW, G.B. (2002). The use of soil solarization for the management of soil borne plant pathogens in strawberry and red raspberry production. **Plant Disease**, **86**(6):645-651.

PINTO, A. (1992). **Efeitos em algumas características biológicas e químicas do solo, nas infestantes e na cultura de feijão-verde (*Phaseolus vulgaris*, L.)** Dissertação (mestrado), Universidade Técnica de Lisboa.

PINTO, A. F. M. A. & MORAIS, A. F. P. (2003). Solarização do solo: um contributo para a sua aplicabilidade em Cabo Verde. http://www.ipv.pt/millenium/esf8_solo.htm.

PORTER, I. J. & MERRIMAN, P.R. (1985). Evaluation of soil solarization for control of root diseases of row crops in Victoria. **Plant Pathology**, **34**(1): 108-118.

PRAMER, D. & SCHMIDT, E. L. (1964). **Experimental Soil Microbiology**. Burgess Publishing Company, Minneapolis.

PURI, G. & ASHMAN, M.R. (1998). Relationship between soil microbial biomass and gross n mineralization. **Soil Biology and Biochemistry**, **30**(2): 251-256.

RAMAMOORTHY, V.; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; PRAKASAM, V. & SAMIYAPPAN, R. (2001). Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Protection**, **20**: 1-11.

RAMETTE, A.; MOENNE-LOCCOZ, Y. & DEFAGO, G. (2003). Prevalence of fluorescent pseudomonads producing antifungal phloroglucinols and/or hydrogen cyanide in soils naturally suppressive or conducive to tobacco black root rot. **FEMS Microbiology Ecology**, **44**: 35-43.

RANDIG, O.; MEDEIROS, C. A. B. & SPERANDIO, C. A. (2002). Efeito da desinfestação do solo pelo uso da energia solar sobre fungos micorrízicos arbusculares. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, **26**: 135-140.

RANGARANJAN, S.; SALEENA, L.M.; VASUDEVAN, P & NAIR, S. (2003). Biological suppression of rice diseases by *Pseudomonas* spp. under saline soil conditions. **Plant and Soil**, **251**:73-82.

RICCI, M.S.F.; ALMEIDA, D.L.; FERNANDES, M. C.; RIBEIRO, R.L.D. & CANTANHEIDE, M.C.S. (2000). Efeitos da solarização do solo na densidade populacional da tiririca e na produtividade de hortaliças sob manejo orgânico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, **35**(11):2175-2179.

ROMEIRO, R.S. & BATISTA, U. G. (2002) Preliminary results on PGPR research at the Universidade Federal de Viçosa, Brasil. <http://www.ufv.br/dfp/bac/Cordoba.html>. Acessado em agosto de 2005.

ROSS, D. S.; LAWRENCE, G. B. & FREDRIKSEN, G. (2004). Mineralization and nitrification patterns at eight northeastern USA forested research sites. **Forest Ecology and Management**, **188**:317-335.

RUPELA, O. P. & SUDARSHANA, M. (1990). Displacement of native rhizobia nodulating chickpea (*Cicer arietinum* L.) by an inoculant strain through soil solarization. **Biology and Fertility of Soils**, **10**(3):207-212.

SCHLOTTER, M.; DILLY, O. & MUNCH, J.C. (2003). Indicators for evaluating soil quality. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, **98**:255-262.

SCHOENMAKER, I. A. S. (2001). **Solarização do solo associada à incorporação de matérias orgânicas para o controle de *Pythium* spp.** Dissertação (mestrado) ESALQ/USP, Piracicaba. 50p.

SCHÖNFELD, J.; GELSOMINO, A.; van OVERBEEK, L. S.; GORISSEN, A.; SMALLA, K. & van ELSAS, J. D. (2003). Effects of compost addition and simulated solarization on the fate of *Ralstonia solanacearum* biovar 2 and indigenous bacteria in soil. **FEMS Microbiology Ecology**, **43**:63-74.

SHARMA, A.; JOHRL, B.N.; SHARMA, A.K. & GLIK, B.R. (2003). Plant growth promoting bacterium *Pseudomonas* sp. Strain GRP3 influences iron acquisition in mung (*Vigna radiata* L. Wilgeck). **Soil Biology e Biochemistry**, **35**:887-894.

SKANNAVINI, M; ANTONIACCI, L; COBELI, L & BRUNELLI, A. (1993). Esperienze di solarizzazione del terreno in Emilia-Romagna per il contenimento del marciume del colletto della lattuga. **Informatore Fitopatológico**, **43**(10): 30-35.

SILVEIRA, A. P. D., FREITAS, S. S.; SILVA, L. R. C.; LOMBARDI, M. L.C. O. & CARDOSO, E. J. B. N. (1995). Interações de micorrizas arbusculares e rizobactérias promotoras de crescimento em plantas de feijão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, **19**:205-211.

SINIGAGLIA, C.; PATRÍCIO, R. A.; GHINI, R.; MALAVOLTA, V. M. A.; TESSARIOLI, J. & FREITAS, S. S. (2001). Controle de *Sclerotinia minor*, *Rhizoctonia solani* e plantas daninhas em alface pela solarização do solo e sua integração com controle químico. **Summa Phytopathologica**, **27**(2): 229-235.

SIQUEIRA, J.O. & FRANCO, A. (1988). **A biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas.** Brasília: MEC Ministério da Educação ABEAS; Lavras: ESAL/FAEPE, 236p.

SORENSEN, J. JENSEN, L.E. & NYBROE, O (2001). Soil and rhizosphere as habitats for *Pseudomonas* inoculants: new knowledge on distribution, activity and physiological state derived from micro-scale and single-cell studies. **Plant and Soil**, **232**:97-108.

SOTTERO, A. N. (2003). **Colonização radicular e promoção de crescimento de alface por rizobactérias**. Dissertação (mestrado)-Instituto Agronômico (IAC), Campinas, 47p.

SPADARO, D. & GULLINO, M.L. (2005). Improving the efficacy of biocontrol agents against soilborne pathogens. **Crop Protection**, **24**(7):601-693.

STAPLETON, J. J. (2000). Soil solarization in various agricultural production systems. **Crop Protection**, **19**: 837-841.

STEVENS, C.; KHAN, V. A.; RODRIGUEZ-KABANA, R.; PLOPER, L. D.; BACKMAN, D.; COLLINS, D. J.; BROWN, J. E.; WILSON, M.A. & IGWEGBE, E.C.K.(2003). Integration of soil solarization with chemical, biological and cultural control for the management of soil borne diseases of vegetables. **Plant and Soil**, **253**:493-506.

STRECK, N. A.; SCHNEIDER, F. M. & BURIOL, G. A. (1996). Soil heating by solarization inside plastic greenhouse in Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil. **Agricultural and Forest Meteorology**, **82**: 73-82.

TJAMOS, E. C.; ANTONIOU, P. P. & TJAMOS, S. E. (2000). Implementation of soil solarization in Greece: conclusions and suggestions. **Crop Protection**, **19**: 843-846.

TOGMITOVA, Z. D.; CHIMITDORZHIEVA, G. D.; EGOROVA, R. A. & GONCHIKOV, G. G. (1998). Changes in population of prokaryotic microorganisms in the deflated chestnut soil undergoing amelioration. **Eurasian Soil Science**, **31**(8):873-876.

UHLÍROVÁ, E.; SIMEK, M. & SANTRUCKOVÁ, H. (2005). Microbial transformation of organic matter in soils of montane grassland under different management. **Applied Soil Ecology**, **28**:225-235.

VALPASSOS, M. A. R.; CAVALCANTI, E. G. S.; CASSIOLATO, A. M. R. & ALVES, M. C. (2001). Effects of soil management systems on soil microbial activity, bulk density and chemical properties. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, **36**(12): 1539-1545.

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C. & JENKINSON, D. S. (1987). An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, **19**(6): 703-707.

VAN VEEN, J. A. & PAUL, E. A. (1979). Conversion of biovolume measurements of soil organisms, grow under various moisture tensions, to biomass and their nutrient content. **Applied and Environmental Microbiology**, **37**:686-692.

VAN VEEN, J.A.; VAN OVERBEEK, L.S. & VAN ELSAS, J.D. (1997). Fate and activity of microorganisms introduced into soil. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, **61**(2):121-135.

VENZKE FILHO, S. P. (1999). **Microbiologia e sua atividade em uma cronossequência sob plantio direto**. Dissertação (mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 65p.

VENZKE FILHO, S. P. (2003). **Biomassa microbiana do solo sob sistema de plantio direto na região de Campos Gerais, Tibagi. PR**. Tese (doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

VILLACIEROS, M.; POWER, B.; SÁNCHEZ-CONTRERAS, M; LLORET, J.; ORVEZABA, R. I.; MARTÍN, M.; FERNÁNDEZ-PIÑAS, F.; BONILLA, I.; WHELAN, C.; DOWLING, D. N. & RIVILLA, R. (2003). Colonization behavior of *Pseudomonas fluorescens* and *Sinorhizobium meliloti* in the alfafa (*Medicago sativa*) rhizosphere. **Plant and Soil**, **251**:47-54.

VISWANATHAN, R. & SAMIYAPPAN, R. (2002a). Induced systemic resistance by fluorescent pseudomonads against red rot disease of sugarcane caused by *Colletotrichum falcatum*. **Crop Protection**, **21**:1-10

VISWANATHAN, R. & SAMIYAPPAN, R. (2002b). Role of oxidative enzymes in the plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) mediated induced systemic resistance in sugarcane against *Colletotrichum falcatum*. **Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection**, **109**(1): 88-100.

VORONEY, R. P.; WINTER, J. P. & BEYAERT, R. P. (1993). Soil biomass C and N. In: Carter, M. R. **Soil Sampling and Methods of Analysis**. Lewis Pub. CRC Press, Boca Raton, Florida, p. 277-286.

WARDLE, D.A. (1992). A comparative assessment of factors with influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. **Biological review**, **67**:321-358.

WARDLE, D. A. (1994). Metodologia para a quantificação da biomassa de microrganismos do solo. In: Hungria, M. & Araújo, R. S. **Manual de Métodos Empregados em Estudos de Microbiologia**. Brasília; EMBRAPA - SPI.

WATANABE, K & HAYANO, K. (1995). Seasonal variation of soil protease activities and their relation to proteolytic bacteria and *Bacillus* spp. in paddy field soil. **Soil Biology and Biochemistry**, **27**(2): 197-203.

WHIPPS, J. M. (2001) Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, **52**: 487-511.

WRIGHT, A.L.; HONS, F.M. & MATOCHA JR, J. E. (2005). Tillage impacts on microbial biomass and soil carbon and nitrogen dynamics of corn and cotton rotations. **Applied Soil Ecology**, **29**:85-92.

YOKOMIZO, N.K.S. (2002). **Solarização do substrato de mudas de *Pinnus elliottii* Elgelmann var. elliottii: efeitos na população de fungos, bactérias e plantas invasoras, com ênfase nas ectomicorrizas e inoculantes à base de *Pisolithus tinctorius* (Mich. & Pers.) Coker e *Suillus luteus* (L. ex FR.) Gray.** Tese (doutorado), UNESP.

ZAGO, V.C.P.; DE-POLLI, H. & RUMJANEK, N. G. (2000). *Pseudomonas* spp. fluorescentes – bactérias promotoras de crescimento de plantas e biocontroladoras de fitopatógenos em sistemas de produção agrícola. Seropédica, **EMBRAPA Agrobiologia: documentos**, **127**. 32p.

ZILLI, J. E.; RUMJANEK, N.G.; XAVIER, G.R.; COUTINHO, H. L.C. & NEVES, M.C.P. (2003). Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, **20**(3):391-411.