

O *Aspergillus* sp. NA AVALIAÇÃO DA DEFICIÊNCIA DO POTÁSSIO NO SOLO

A. LIMA G. PEREIRA

Instituto Biológico, São Paulo

OLDEMAR C. ABREU

Serviço de Sericicultura, Campinas

A. G. ZAGATTO

Instituto Biológico, São Paulo

INTRODUÇÃO

A importância do solo no desenvolvimento técnico agrícola é universalmente reconhecida e seu estudo científico data de período recente. Aparentemente inanimado, constitui a grande reserva de quase todos os microrganismos bastante distintos e variáveis. É uma "usina" silenciosa, onde transformações vitais se processam dia e noite, através de uma população microbiana, cuja atividade se estende às águas e ao ar atmosférico levados da terra, que é seu "habitat" natural.

A flora microbiana do solo tem papel saliente nas funções essenciais de transformação da matéria orgânica e mobilização de elementos minerais para desenvolvimento das plantas. A avaliação da fertilidade do solo, mediante emprêgo de microrganismo baseia-se no princípio de que certos elementos minerais tais como nitrogênio, fósforo e potássio, são exigidos pelas plantas e também pelos microrganismos. Assim, pela inoculação de bactérias e fungos e seu subsequente desenvolvimento,

podemos obter informações sôbre a reserva do solo em elementos assimiláveis, funcionando como indicador biológico.

A ideia da utilização do *Aspergillus* sp. como indicador foi emitida por BUTKEWITSCH (1909) na Rússia. Só mais tarde, com os trabalhos de BENEKE & SODIN (1928), o assunto veio a merecer atenção, quando foi empregado um método baseado na comparação do crescimento do micélio do citado fungo, em meio nutritivo líquido, contendo quantidades conhecidas do fósforo e potássio, com aquêle verificado quando ao meio nutritivo fôsem adicionadas pequenas quantidades de solo. Esse método, que mais tarde foi desenvolvido em bases estatísticas, por NIKLAS e colaboradores (1930 a, b, 1932 e 1936) para o N, P e Mg, tendo sido verificado boa concordância entre os resultados por êle obtido e o de Neubauer-Schneider.

No presente trabalho foi empregado o método de NIKLAS modificado por MEHLICH et al (1933), também usado por MALAVOLTA et al (1951) na determinação de enzimas em solos por meio de *Aspergillus* sp.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi empregado o meio específico de cultura de MEHLICH (1933):

Sacarose	100 g
Ácido cítrico	10 g
(N H ₄) ₂ SO ₄	6 g
Peptona	1 g
CaH PO ₄ . 2H ₂ O	0,72 g
NH ₄ H ₂ PO ₄	1,215 g
Mg SO ₄ . 7 H ₂ O	0,614 g
Cu SO ₄ . 5 H ₂ O	traços
Zn SO ₄ . 7 H ₂ O	traços
Fe SO ₄ . 7 H ₂ O	traços
Água destilada	1.000 ml

50 ml desta solução nutritiva foram adicionados em 20 frascos de Erlenmeyer esterilizados de 125 ml com auxílio de uma pipeta de 50 ml.

Foram usadas duas espécies de *Aspergillus* sp. uma de cor verde e outra amarela. Foram isoladas no laboratório de Bacteriologia Vegetal do Instituto Biológico, São Paulo, Brasil, catalogadas, respectivamente como SBV-473 e SBV-474.

As amostras de solo em duplicatas, provieram de terrenos da horta da E.S.A. "Luiz de Queiroz", sendo retirada segundo as seguintes condições: limpeza da superfície do local a ser

retirada a amostra, escavar um buraco de mais ou menos 20 cm de profundidade, com uma espátula tirar algumas camadas do lado vertical e seu acondicionamento em saco plástico; des torroamento e passagem numa peneira de malha de 2 mm, e finalmente 200 g de terra, assim preparada, foram transferidas para um vaso de Boêmia que foi envolvido num saco plástico para evitar evaporação.

Dois soluções de K Cl foram preparadas, sendo uma decimolar (—) tomando 745 mg do sal, foram dissolvidas em 100 ml de água e outra centimolar (—) com 74,4 de K Cl em 100 ml de água.

O experimento com os 20 frascos contendo a solução nutritiva de MEHLICH, teve a seguinte distribuição:

Tratamento

1	4 frascos (A) com 0,25 ml de solução	M — 100
2	4 frascos (B) com 0,82 ml de solução	M — 100
3	4 frascos (C) com 0,38 ml de solução	M — 10
4	4 frascos (D) com nihil	
5	4 frascos (T) com 4 g de terra	

Os frascos assim preparados, e convenientemente tampoados com algodão, recobertos com papel e amarrados foram autoclavados a 100°C por 15 minutos.

Inoculou-se com os *Aspergillus* sp. de coloração verde e o amarelo, os tratamentos de 1 a 5 como duas repetições cada.

As inoculações foram efetuadas em câmara assética e com uma densa suspensão de esporos (5 dias de incubação, 35°C) de 4 tubos de cultura das duas linhagens de *Aspergillus* sp. Tomou-se 0,5 ml dessa suspensão por meio de uma pipeta esterilizada de 1 ml.

Concluindo a operação acima, os frascos foram novamente tampoados, recobertos com papel e amarrados, sendo em seguida colocados em estufa à 30-35°C, durante 4 dias.

Visando o emprêgo do papel de filtro em nossas operações, no terceiro dia foram tomados 20 papéis de filtro que foram

colocados em estufa à 70°C, aí permanecendo durante 24 horas para secagem. Sêcos foram pesados na balança analítica Mettler, anotando-se no mesmo papel, seu pêso respectivo.

No quarto dia retirados os frascos da estufa, verificou-se nos mesmos o crescimento do micélio ou melhor da *manta miceliana* que foi removida do fundo dos frascos com uma pinça e passados para uma placa de Pétri contendo água esterilizada, lavados e colocados no papel de filtro para coar, restando finalmente, só o micélio. Os papéis foram identificados com as anotações de cada frasco e dobrados com o micélio. O micélio e o papel foram novamente sêcos em estufa (70°C - 24h.) e novamente pesado na balança Mettler. A diferença da primeira pesagem com a segunda, resultou o pêso do micélio.

RESULTADOS

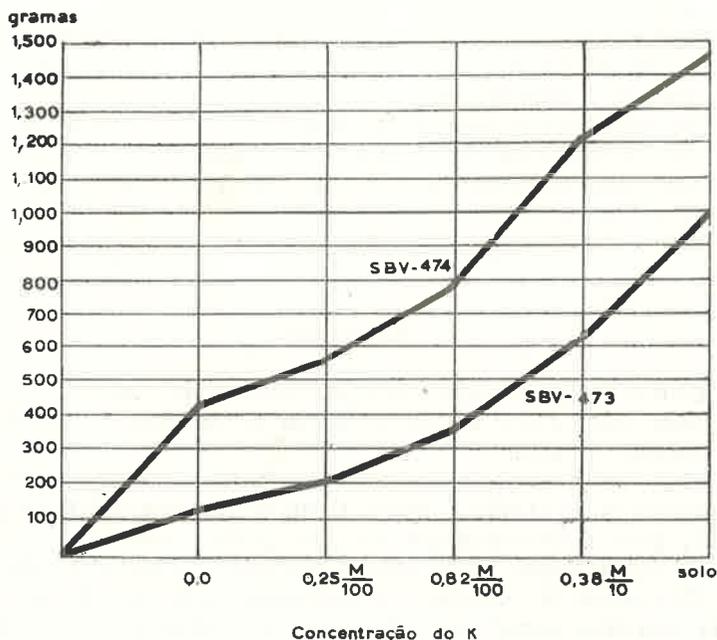
O levantamento revelou os seguintes dados:

Quadro I — Pêso em mg observado num ensaio em duplicata de *Aspergillus* SBV-473 e SBV-474

N.º	TRATAMENTOS	Aspergillus SBV-473			Aspergillus SBV-474		
		Repetições		Médias	Repetições		Médias
		1. ^a	2. ^a		1. ^a	2. ^a	
1	Aspergillus sem K	122	121	122	403	411	407
2	Asp. 0,25 ——— de KCL M 100	137	220	178	508	514	511
3	Asp. 0,82 ——— de KCL M 100	377	284	330	778	800	789
4	Asp. 0,38 ——— de KCL M 10	617	591	604	1.210	1.216	1.213
5	Asp. solo	886	1.113	1.000	1.452	1.440	1.446
Total		2.139 2.329			4.351 4.381		

Tomando como abscissas as quantidades de K e como ordenadas os pesos do micélio, obteremos a seguinte representação gráfica :

REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DO PÊSO SÉCO
MÉDIO DO MICÉLIO, EM GRAMAS



elaborado no S.D.I. - Serviço de Sericicultura

Analisando o gráfico, verifica-se com o aumento das concentrações de K, um evidente aumento em escala progressivamente ascendente do peso de micélio, tanto para o SBV-473 como para o SBV-474.

Entre um e outro, verificou-se que o SBV-474 deu formação a uma maior massa miceliana que o SBV-473.

Comparando o peso da massa miceliana dos frascos com adição de K, com os de solo, o desenvolvimento destes foi superior áqueles.

Os dados obtidos no quadro I, foram analisados estatisticamente, sendo determinado o teste "F" e feita a comparação entre os tratamentos com o teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade e com CV bem baixo.

CONCLUSÕES

Da análise estatística precedente se pode tirar as seguintes conclusões: o tratamento **Aspergillus** (SBV-473) mais solo, foi superior aos demais; o tratamento **Aspergillus** (SBV-473) com 0,38 de K em solução deci-molar, sem diferir do tratamento **Aspergillus** (SBV-473) mais 0,82 de K em solução centi-molar, foi estatisticamente superior aos do **Aspergillus** (SBV-473) sem K e **Aspergillus** com 0,25 de K em solução centi-molar; no tratamento **Aspergillus** sem K, a testemunha foi inferior estatisticamente aos tratamentos **Aspergillus** mais 0,38 de K, **Aspergillus** mais solo ao nível de 5%; verificou-se que o tratamento **Aspergillus** (SBV-474) pelo teste Tukey a 5% de probabilidade tôdas as médias são diferentes comparadas duas a duas.

RESUMO

Este trabalho estuda o comportamento de 2 espécies de **Aspergillus** (SBV-473 e SBV-474) a fim de detectar a deficiência de potássio no solo.

Foi empregado o método de NIKLAS modificado por MEHLICH et al (1933) e usado, também por MALAVOLTA et al (1951) para a determinação de enxofre nos solos.

O experimento foi realizado usando a solução de Mehlich em 20 frascos de Erlenmeyer contendo cada um, 50 ml dêsse meio nutritivo, sendo que cada grupo de 4 frascos foram adicionados sucessivamente:

	M	M
nados sucessivamente: 0,25 ml de solução	—	—
	100	100

M
0,38 ml de —
10

, nihil e 4 g de terra. Em cada um dêsses grupos,

2 frascos foram inoculados com a suspensão de esporos de **Aspergillus** (SBV-473) e os outros 2 frascos com a SBV-474; foram incubados à temperatura de 35°C durante 4 dias.

Os resultados obtidos dos pesos da manta miceliana podem ser verificados na tabela I; a representação gráfica da interrelação, pêso do micélio concentração de potássio está na figura 1 do qual podem ser extraídas as conclusões seguintes: a) aumentos dos níveis de concentração de potássio, correspondem aumentos progressivos do pêso micélio para as 2 espécies de **Aspergillus**; b) o **Aspergillus** (SBV-474) produziu maior massa miceliana; c) houve maior desenvolvimento do micélio nos frascos contendo solo sem adição de potássio.

ABSTRACT

This paper presents the results of an experiment carried out in order to study the behaviour of two species of *Aspergillus* (SBV-474) to detect the deficiency of potassium in the soil of Piracicaba, State of São Paulo, Brazil.

The Niklas method was employed, modified by Mehlich et al (1933), used also by Malavolta et al (1951) in determination of the sulfur in soil.

The experiment was performed by using Mehlich solution in 20 Erlenmeyer flasks with 50 ml of the solution. In each group of 4 flasks were added successively 0.25 ml of the solu-

tion $\frac{M}{100}$, 0,38 ml of the $\frac{M}{100}$, nihil and 4 g of the soil. In each

of that group 2 flasks were inoculated with a suspension of *Aspergillus* (SBV-473) and 2 other flasks with *Aspergillus* (SBV-474) spores and at incubation temperature of 35°C during 4 days.

The results of the weights of the micelium could be seen in table I and on the graphic representation in figure I.

The conclusions were: a) increase of the levels of potassium concentration correspond to the progressive increase of weight of the micelium for the 2 *Aspergillus*; b) the *Aspergillus* (SBV-474) produced more micelium; c) there was a greater increase of the micelium in the flasks where there was soil without addition of potassium.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a análise estatística feita pelos Eng.ºs. Agrs. EDUARDO ABRAMIDES e WANDERLEY RINALTO VENTURINI, chefe da seção Técnica Experimental do CIA.

BIBLIOGRAFIA

- EUTKEWITSCH, W., 1909 — Die Kultur des Schimmelpilzes *Aspergillus niger* als mittel zur Bodenuntersuchung. *Zhur Opytn. Agron. (Russian Jour. Landw.)* 10: 136-141.
- BENECKE, W. & H. SODING, 1920 — Beitrage zun Ausbau der microbiologischen Boden analyse. *Ztschr. Pfamzenerhahr., Dungung, u. Bodenk. (A)* 10: 129-159.

- MALAVOLTA, E., F. GALLI & I. R. NOGUEIRA, 1951 — Nota preliminar sôbre a determinação biológica do enxôfre em solos por meio de *Aspergillus niger*. *An. Esc. Sup. Agr. "Luiz de Queiroz"* 8: 183-172.
- NIKLAS H. & H. POSCHENRIEDER, 1932 — Die Ausföhrung der *Aspergillus* Methode zur Prufung auf Kali. *Ernahr. Pflanze* 28: 86-88.
- NIKLAS, H. & H. POSCHENRIEDER, 1936 — Zur Festellung der Magnesia Dungesbedurftigkeit und Magnesia Dungeswirkung in Boden mittles *Aspergillus niger* Boden. n. Pflanzenernahr. 1^o 235-247.
- NIKLAS, H., H. POSCHENRIEDER & J. TRISCHLER, 1930a — Eine neue microbiologische Method zur Festellun der Dungesbedurftigkeit der Boden. *Zitschr. Pflanzenerhahr., Dungen n. Boden* (a) 18: 129-157.
- NIKLAS, H., H. POSCHENRIEDER & J. TRISCHLER, 1930b — Die Kultur des Schimmelpilzes *Aspergillus niger* zur biochemischen Bestimmung der Kali und Phosphorsaurebedurftigkeit der Boden *Ernahr. Pflanze*. 26: 97-103.
- MEHLICH, A., TRUOG & E. B. FRED, 1933 — The *Aspergillus niger* method of measuring available potassium in soi. *Soil Sci.* 35: 259-279.