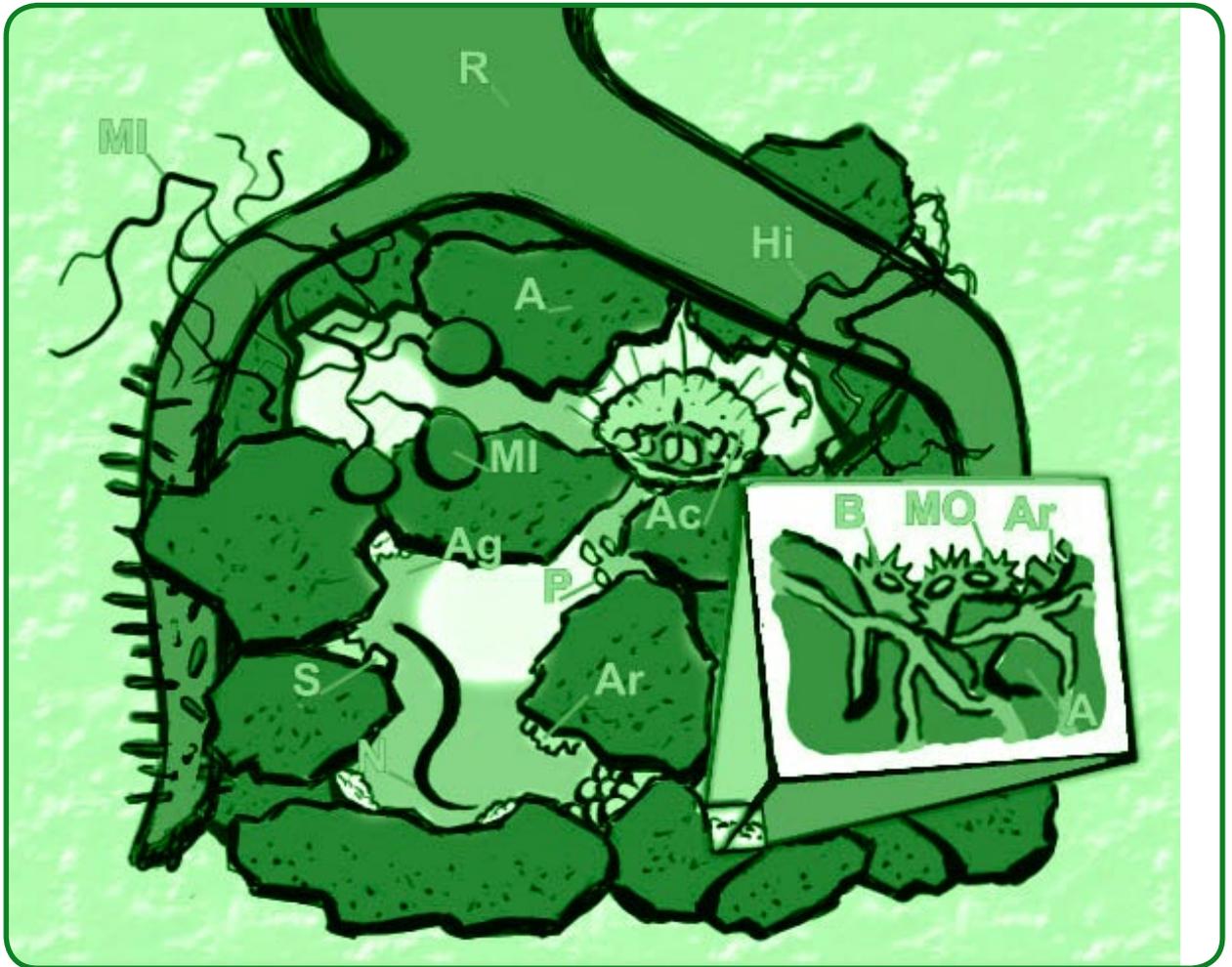


UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
CURSO DE AGRICULTURA FAMILIAR  
E SUSTENTABILIDADE



## BIOLOGIA DO SOLO

2º semestre



Ministério  
da Educação



### Presidente da República Federativa do Brasil

**Luiz Inácio Lula da Silva**

### Ministério da Educação

**Fernando Haddad**

Ministro do Estado da Educação

**Ronaldo Mota**

Secretário de Educação Superior

**Carlos Eduardo Bielschowsky**

Secretário da Educação a Distância

### Universidade Federal de Santa Maria

**Clóvis Silva Lima**

Reitor

**Felipe Martins Muller**

Vice-Reitor

**João Manoel Espina Rossés**

Chefe de Gabinete do Reitor

**André Luís Kieling Ries**

Pró-Reitor de Administração

**José Francisco Silva Dias**

Pró-Reitor de Assuntos Estudantis

**João Rodolfo Amaral Flores**

Pró-Reitor de Extensão

**Jorge Luiz da Cunha**

Pró-Reitor de Graduação

**Charles Jacques Prade**

Pró-Reitor de Planejamento

**Helio Leães Hey**

Pró-Reitor de Pós-Graduação e Pesquisa

**João Pillar Pacheco de Campos**

Pró-Reitor de Recursos Humanos

**Fernando Bordin da Rocha**

Diretor do CPD

### Coordenação de Educação a Distância

**Cleuza Maria Maximino Carvalho Alonso**

Coordenadora de EaD

**Roseclea Duarte Medina**

Vice-Coodenadora de EaD

**Roberto Cassol**

Coordenador de Pólos

**José Orion Martins Ribeiro**

Gestão Financeira

### Centro de Ciências Rurais

**Dalvan José Reinert**

Diretor do Centro de Ciências Rurais

**Ricardo Simão Diniz Dalmolin**

Coordenador do Curso de Graduação Tecnológica em  
Agricultura Familiar e Sustentabilidade a Distância

### Elaboração do Conteúdo

**Carlos Alberto Ceretta**

**Celso Aita**

Professores pesquisadores/conteudistas

**Equipe Multidisciplinar de Pesquisa e Desenvolvimento em Tecnologias da Informação e Comunicação Aplicadas à Educação - ETIC**

**Carlos Gustavo Matins Hoelzel**

Coordenador da Equipe Multidisciplinar

**Cleuza Maria Maximino Carvalho Alonso**

**Rosiclei Aparecida Cavichioli Laudermann**

**Silvia Helena Lovato do Nascimento**

**Ceres Helena Ziegler Bevilaqua**

**André Krusser Dalmazzo**

**Edgardo Gustavo Fernández**

**Marcos Vinícius Bittencourt de Souza**

Desenvolvimento da Plataforma

**Ligia Motta Reis**

Gestão Administrativa

**Flávia Cirolini Weber**

Gestão do Design

**Evandro Bertol**

Designer

**ETIC - Bolsistas e Colaboradores**

**Orientação Pedagógica**

**Elias Bortolotto**

**Fabício Viero de Araujo**

**Gilse A. Morgental Falkembach**

**Leila Maria Araújo Santos**

**Revisão de Português**

**Andréa Ad Reginatto**

**Ceres Helena Ziegler Bevilaqua**

**Máisa Augusta Borin**

**Silvia Helena Lovato do Nascimento**

**Ilustração e Diagramação**

**Camila Rizzatti Marqui**

**Evandro Bertol**

**Flávia Cirolini Weber**

**Helena Ruiz de Souza**

**Lucia Cristina Mazetti Palmeiro**

**Ricardo Antunes Machado**

**Suporte Técnico**

**Adílson Heck**

**Cleber Righi**

## Sumário

### UNIDADE A

<b>Origem e evolução da vida no planeta terra</b> .....	<b>6</b>
Introdução .....	6
Objetivos .....	6
1. Origem da vida na terra e evolução dos seres vivos .....	7
2. Organismos procarióticos e eucarióticos .....	10
2.1 Célula procariótica .....	10
2.2 Célula eucariótica .....	11
2.3 Diversidade celular e evolução dos tipos de células .....	12
2.4 Classificação dos organismos .....	13
2.5 Características gerais dos microrganismos .....	14
Bibliografia .....	21

### UNIDADE B

<b>Organismos do solo</b> .....	<b>22</b>
Introdução .....	22
Objetivos .....	22
1. Organismos do solo: microrganismos e fauna do solo .....	23
1.1 Microrganismos .....	23
1.2 Fauna do solo .....	27
2. Classificação, localização e regimes alimentares dos organismos do solo .....	29
3. Densidade, biomassa e funções dos microrganismos e da fauna do solo .....	30
3.1 Densidade e biomassa .....	30
3.2 Principais funções dos microrganismos e da fauna do solo .....	32
4. Fatores que afetam os microrganismos e a fauna do solo .....	34
Bibliografia .....	36

### UNIDADE C

<b>Ecologia do solo</b> .....	<b>37</b>
Introdução .....	37
Objetivos .....	37
1. Conceitos gerais .....	38
2. Natureza dos organismos do solo e suas interações .....	39
3. Influência das plantas sobre os microrganismos .....	40
4. Interações entre organismos .....	41
4.1 Interações positivas .....	41
4.2 Interações negativas .....	42
5. Diversidade de organismos no solo .....	43
6. Transformações de origem microbiana no solo .....	44
Bibliografia .....	45

### UNIDADE D

<b>Metabolismo microbiano</b> .....	<b>46</b>
Introdução .....	46
Objetivos .....	47
1. Metabolismo bioenergético .....	48
Bibliografia .....	70

### UNIDADE E

<b>Crescimento microbiano</b> .....	<b>71</b>
Introdução .....	71
Objetivos .....	71
1. Crescimento celular bacteriano .....	72
1.1 Fases do crescimento de uma cultura bacteriana .....	73
1.2 Expressão matemática do crescimento .....	75
2. Fatores que afetam o crescimento microbiano .....	76
2.1 Umidade .....	76
2.2 Temperatura .....	77
2.3 Oxigênio (O <sub>2</sub> ) .....	81
2.4 pH .....	84
2.5 Composição química do substrato .....	85
Bibliografia .....	86

**UNIDADE F**

<b>Ciclo biogeoquímico do carbono</b> .....	<b>87</b>
Introdução .....	87
Objetivos .....	88
1. Natureza dos materiais orgânicos adicionados ao solo .....	89
1.1 Resíduos de origem vegetal .....	89
1.2 Resíduos de origem animal .....	89
1.3 Composição (qualidade) dos materiais orgânicos .....	90
2. Importância dos microrganismos do solo no ciclo do carbono .....	91
3. Dinâmica da decomposição de materiais orgânicos .....	92
3.1 Tipos de Decomposição .....	93
3.2 Decomposição dos principais constituintes de resíduos vegetais .....	95
3.3 Avaliação da decomposição de resíduos vegetais no solo .....	99
3.4 Efeito das condições ambientais, composição bioquímica e manejo dos materiais orgânicos sobre o processo de decomposição .....	101
3.5 Formação, composição, funções e decomposição da matéria orgânica do solo .....	103
4. Metanogênese .....	107
Bibliografia .....	110

**UNIDADE G**

<b>Ciclo biogeoquímico do nitrogênio</b> .....	<b>111</b>
Introdução .....	111
Objetivos .....	112
1. Natureza e metabolismo das fontes nitrogenadas .....	113
1.1 Nitrogênio inorgânico .....	113
1.2 Nitrogênio orgânico .....	114
1.3 Nitrogênio atmosférico (N <sub>2</sub> ) .....	115
2. Principais transformações biológicas do nitrogênio .....	116
2.1 Mineralização e imobilização do N .....	116
2.2 Nitrificação .....	128
2.3 Desnitrificação .....	133
3. Fixação biológica de nitrogênio (FBN) .....	138
3.1 Fixação simbiótica de N <sub>2</sub> .....	139
3.2 Fixação assimbiótica de N <sub>2</sub> .....	153
Bibliografia .....	157

**UNIDADE H**

<b>Ciclo biogeoquímico do fósforo</b> .....	<b>158</b>
Introdução .....	158
Objetivos .....	159
1. Formas de P no solo .....	160
2. Transformações microbianas do fósforo no solo .....	161
2.1 Mineralização .....	161
2.2 Imobilização .....	162
2.3 Solubilização microbiana de fosfatos .....	164
3. Micorrizas .....	165
3.1 Importância das micorrizas para o ciclo do P .....	165
3.2 Tipos de micorrizas .....	166
3.3 Benefícios das micorrizas .....	169
3.4 Efeito dos sistemas de manejo sobre as micorrizas .....	170
4. Aspectos ambientais do ciclo do P .....	170
Bibliografia .....	172

**UNIDADE I**

<b>Ciclo biogeoquímico do enxofre</b> .....	<b>173</b>
Introdução .....	173
Objetivos .....	174
1. Importância dos microrganismos do solo no ciclo do enxofre .....	175
1.1 Oxidação microbiana de compostos inorgânicos de enxofre .....	175
1.2 Redução microbiana de compostos inorgânicos de enxofre .....	176
1.3 Mineralização e Imobilização (assimilação) de S .....	177
Bibliografia .....	180

## UNIDADE A

### Origem e evolução da vida no planeta terra

#### Introdução

De acordo com a análise de dados geoquímicos, a terra tem cerca de 4,6 bilhões de anos, enquanto a primeira evidência de vida microbiana é encontrada em rochas de aproximadamente 3,8 bilhões de anos. Um tema comum à biologia corresponde à enorme diversidade atual de seres vivos. Essa diversidade é especialmente verdadeira em relação aos microrganismos. Nesse primeiro capítulo serão abordados inicialmente aspectos relativos à síntese abiótica dos primeiros compostos bioquímicos na atmosfera primitiva, os quais estabeleceram o cenário para o surgimento da primeira célula viva do planeta. Também serão apresentadas evidências de que as células eucarióticas evoluíram a partir de um ancestral procariótico primitivo, além de apresentar uma comparação entre esses dois tipos de células. Por último serão discutidas a sistemática dos organismos vivos e as características gerais dos microrganismos, com ênfase no grupo das bactérias.

#### Objetivos

O objetivo dessa primeira unidade da disciplina de biologia do solo é fornecer subsídios ao aluno para que ele entenda que a grande diversidade atual de organismos do planeta é resultado de um processo evolutivo, a partir de um ancestral universal. Pretende-se que ao final do capítulo os alunos saibam responder os seguintes questionamentos: Qual a origem das células e da vida no planeta terra? De onde surgiu a primeira célula no planeta? Como era a primeira célula viva? Quais as semelhanças entre todas as formas de vida que habitam o nosso planeta?

## 1. Origem da vida na terra e evolução dos seres vivos

Os organismos que habitam a terra atualmente apresentam uma extraordinária diversidade morfológica e fisiológica. Muitos pesquisadores aceitam a idéia de que os organismos tiveram uma única origem histórica, sendo que todas as células que conhecemos atualmente evoluíram de um ancestral comum, provavelmente uma bactéria.

Charles Darwin em 1859, com a publicação do livro "A Origem das Espécies", revolucionou a ciência. Pela primeira vez o homem encarou a vida como um processo histórico originado em uma época muito remota de nosso planeta. Darwin criou a Teoria da Evolução em que *"variações casuais e a seleção natural podem dirigir a produção de organismos com novas características"*.

Com base na teoria de Darwin, o russo OPARIN apresentou a seguinte hipótese materialista (Figura A.1) para explicar o surgimento da primeira forma de vida na terra: a atmosfera primitiva era diferente da atual, sendo constituída de metano ( $\text{CH}_4$ ), gás carbônico ( $\text{CO}_2$ ), amônia ( $\text{NH}_3$ ) e gás hidrogênio ( $\text{H}_2$ ) e o gás oxigênio ( $\text{O}_2$ ) não estava presente. O planeta apresentava temperaturas extremamente elevadas. Reações fotoquímicas, através de descargas elétricas e raios ultravioletas, originaram o acúmulo de matéria orgânica no planeta, a qual gerou uma verdadeira sopa de compostos orgânicos nos oceanos. A interação desses compostos orgânicos resultou no aparecimento da primeira célula viva da terra, gerada há cerca de 3,8 bilhões de anos. Apesar dessa teoria já ter sido parcialmente comprovada, até hoje não se conseguiu originar uma célula em laboratório. Todavia, não se deve esquecer que este processo de evolução físico-químico demorou bilhões de anos para que pudesse ser realizado pela natureza. O ator desse processo é o tempo e ele não pode ser reproduzido em condições de laboratório.



Figura A.1. Resumo esquemático da hipótese de Oparin.

A comprovação dos principais pontos da hipótese de Oparin foi feita por Miller em 1953, que desenvolveu um aparelho para simular as condições da atmosfera primitiva. Nele estavam contidos todos os supostos gases, bem como eletrodos para simular as descargas elétricas. Bastaram apenas alguns dias para que fossem produzidos quase todos os aminoácidos existentes nos seres vivos. Durante o experimento foram produzidas outras substâncias orgânicas, conforme

havia previsto Oparin. Sidney Fox em 1957, retirou aminoácidos de uma experiência de Miller e colocou-os sobre uma superfície de rochas quentes, obtendo assim, uma grande variedade de proteínas e bases nitrogenadas, fundamentais para a síntese de DNA.

A fermentação deve ter sido o tipo de metabolismo energético utilizado pelas primeiras células, pois não existia oxigênio na atmosfera. Com a fermentação houve liberação de  $\text{CO}_2$  para a atmosfera e também a exaustão gradual da “sopa” orgânica, forçando os organismos a desenvolver uma nova forma de metabolismo energético para sobreviverem. Surgiram então os organismos que aprenderam a realizar a fotossíntese, captando a energia do sol e fixando o  $\text{CO}_2$  atmosférico. Como consequência, o oxigênio começou a aparecer e o metabolismo dos organismos evoluiu para a respiração aeróbica que é o tipo de metabolismo bioenergético mais comum encontrado atualmente nas diferentes formas de vida que habitam a terra.

Do ponto de evolução celular, é admitido que as primeiras células foram as procarióticas (pró = antes; caryon = núcleo) ou seja, células desprovidas de uma área nuclear envolvida por uma membrana (carioteca). A evolução dessas células primitivas resultou nas células eucarióticas atuais, possuidoras de um núcleo (envolto por membrana) onde se situa o DNA celular.

## 2. Organismos procarióticos e eucarióticos

O exame cuidadoso da estrutura interna das células permite diferenciá-las em dois tipos estruturais: as procarióticas e as eucarióticas.

### 2.1 Célula procariótica

A célula procariótica é a mais simples (Figura A.2), encontrada apenas em alguns microrganismos e, provavelmente, não tenha sofrido grande evolução. As bactérias, incluindo as cianobactérias, são os microrganismos que apresentam esse tipo de célula. As bactérias, que encontramos hoje no planeta, são parentes próximos dos primeiros organismos formados na Terra. Alguns grupos bacterianos, como as Archaeobactérias (bactérias metanogênicas), são representantes muito próximos em estrutura e metabolismo aos primeiros organismos vivos. As bactérias metanogênicas permanecem até hoje como eram há bilhões de anos e são encontradas em ambientes anaeróbicos como por exemplo o estômago dos ruminantes, pântanos e solos alagados.

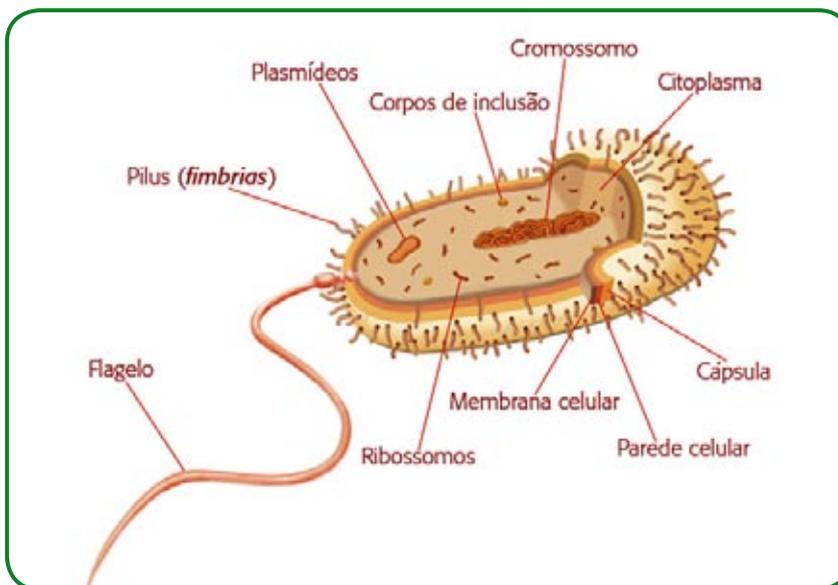


Figura A.2. Célula bacteriana típica.

### Principais características das células PROCARIÓTICAS

1. Ausência de compartimentalização. As estruturas internas da célula não são circundadas por unidade de membrana. A membrana citoplasmática é geralmente a única unidade de membrana presente na célula.
2. Cromossomo único (DNA com dupla hélice), localizado no citoplasma, mas não possui membrana (**carioteca**) envolvendo-o.
3. Não apresenta mitose. A segregação (separação) do cromossomo após duplicação é "intermediada" pela membrana celular.

4. Presença de ribossomos do tipo 70S no citoplasma, menores que os ribossomos citoplasmáticos encontrados nas células eucarióticas.
5. As células procarióticas apresentam na sua parede celular um amino açúcar denominado **PEPTIDOGLICANO**. Este composto não é encontrado na parede celular de células eucarióticas.

## 2.2 Célula eucariótica

A célula eucariótica (Figura A.3) é maior, mais evoluída e mais complexa do que a célula procariótica, sendo encontrada em fungos, algas, protozoários, plantas e animais.

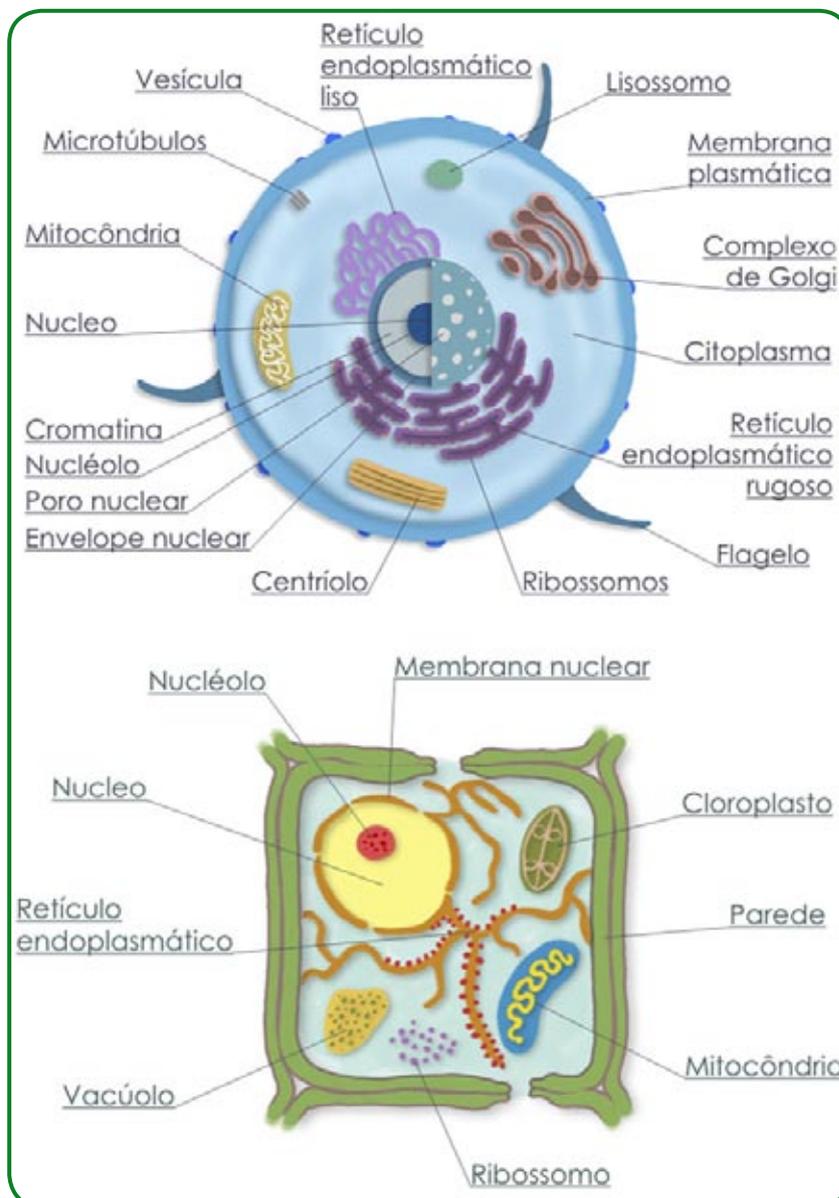


Figura A.3. Células eucarióticas encontradas em animais e vegetais.

### Principais características das células EUCARIÓTICAS

1. Caracterizadas pela presença de estruturas delimitadas por membrana, denominadas de organelas. Dentre as principais organelas temos o núcleo, as mitocôndrias e os cloroplastos.
2. Cromossomos múltiplos (DNA com dupla hélice), associados com proteínas básicas, circundados por uma membrana nuclear (carioteca). Apresentam, portanto, o que chamamos de núcleo celular.
3. Replicação e segregação do material genético por mitose.
4. Presença de ribossomo do tipo 80S no citoplasma e do tipo 70S nas organelas (mitocôndria e cloroplasto)

### 2.3 Diversidade celular e evolução dos tipos de células

Após o surgimento da primeira célula na terra, a qual deve ter sido uma bactéria (procariótica) heterotrófica (que requer um composto orgânico como fonte de carbono) e anaeróbica (que cresce na ausência de O<sub>2</sub> livre), houve evolução celular do ponto de vista fisiológico e bioquímico, dando origem a diversos tipos de células procarióticas (diversidade procariótica). Com a continuidade da evolução, surgiu a primeira célula eucariótica da terra.

A teoria mais aceita para explicar esse processo evolutivo de transformação de células procarióticas em eucarióticas, é a teoria da **ENDOSSIMBIOSE**, segundo a qual as organelas mitocôndria e cloroplasto um dia foram organismos livres que viviam isoladamente e que, possivelmente, por pressão do ambiente, se associaram com outros organismos (eucarióticos primitivos), gerando uma célula eucariótica moderna, onde cada uma dessas organelas passou a possuir funções específicas. Por exemplo, uma bactéria que fazia respiração aeróbica foi absorvida por outra bactéria, e ficou com a função de produzir energia, evoluindo para o que hoje chamamos de **mitocôndria** nas células animais e vegetais. Na célula eucariótica, a mitocôndria é responsável pela realização da respiração celular, pois nela estão contidas as enzimas respiratórias. O fato de as mitocôndrias possuírem ribossomos 70S (como nas células procarióticas) constitui uma forte evidência de que a atual estrutura celular eucariótica tenha sido originada a partir de uma célula procariótica de vida livre.

Da mesma maneira, é provável que o **cloroplasto**, responsável pela realização da fotossíntese na célula vegetal, tenha sido originado por endossimbiose, a partir de uma cianobactéria que vivia isoladamente.

A semelhança do que ocorreu com as células procarióticas, após o surgimento da primeira célula eucariótica, o processo evolutivo dessa célula conduziu à diversidade eucariótica existente atualmente na terra.

### Similaridades entre os organismos e evidências da evolução

Durante o curso da evolução, vestígios foram deixados nas células que nos permitem inferir como o processo ocorreu. As principais **evidências de que houve evolução** da vida no planeta são as seguintes:

- Presença invariável, em qualquer célula, de três moléculas orgânicas complexas: proteína, DNA, RNA (todos os organismos vivos apresentam uma composição química comum).
- Embora o metabolismo dos seres vivos seja diverso, todos os organismos são obrigados a: 1) sintetizar os constituintes da matéria viva a partir de nutrientes externos à célula e 2) gerar a energia necessária para realizar essa síntese celular.
- Todas as células são circundadas por uma membrana (membrana celular ou citoplasmática)
- Se a teoria da evolução é falsa, como explicar que a bioquímica e a fisiologia de todos os organismos, desde bactérias (os mais simples) até o homem, são tão similares? Isto é uma forte indicação de que a evolução da vida no planeta ocorreu a partir de um ancestral comum (ancestral universal)

### 2.4 Classificação dos organismos

Levando em consideração a teoria da evolução e da endossimbiose, WITTAKER propôs, em 1969, um sistema de classificação para organismos vivos em cinco reinos, baseado em três níveis de organização celular e com divergências nutritivas em cada nível (Figura A.4)

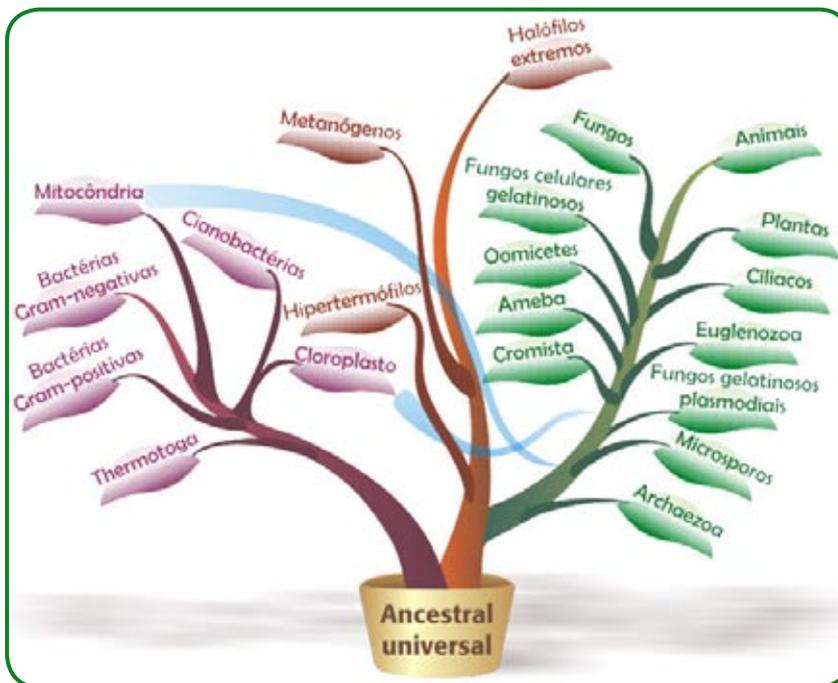
Reino	Organização celular	Modo de nutrição	Exemplos
Monera	Procariotos (todos unicelulares)	Autotróficos e heterotróficos	Bactérias
Protista	Eucariotos unicelulares	Autotróficos e heterotróficos	Protozoários, algas
Plantae	Eucariotos multicelulares	Autotróficos	Árvores, arbustos, gramíneas
Fungi	Eucariotos multicelulares	Heterotróficos	Fungos filamentosos, cogumelos
Animalia	Eucariotos multicelulares	Heterotróficos	Mamíferos, anelídeos, peixes

**Figura A.4.** Sistema de classificação para organismos vivos em cinco reinos.

Os reinos 1, 2 e 4 são formados por seres vivos denominados **microrganismos**, por serem de tamanho microscópico. Os vários grupos de microrganismos, tão mais simples em estrutura e desenvolvimento do que os vegetais e animais superiores, podem ser considerados como uma série de linhas evolutivas isoladas que **sobreviveram**, pro-

vavelmente sem grandes modificações, desde a época de sua diferenciação, num estágio antigo da evolução biológica. Outras linhas, onde ocorreram mutações, provavelmente mais aptas ao desenvolvimento evolutivo, resultaram nos organismos vivos que hoje encontramos no planeta, tão complexos como o homem.

Mais recentemente, o microbiologista americano Carl Woese propôs outro sistema de classificação dos organismos vivos, a partir da análise comparativa de seqüências de RNA (ácido ribonucléico) ribossomal. Três linhagens celulares filogeneticamente distintas foram identificadas; duas são compostas somente por procarióticos, enquanto a terceira é constituída por eucarióticos. Essas linhagens, designadas **domínios** evolutivos foram denominadas Bacteria, Archaea e Eukarya, conforme mostrado na Figura A.5.



**Figura A.5.** Árvore filogenética da vida, definida a partir de comparações entre seqüências de RNA ribossomal.

## 2.5 Características gerais dos microrganismos

Os **microrganismos**, os quais são os principais componentes da biota do solo e têm desempenhado um papel importante nos últimos anos como **célula modelo** para os estudos dos processos biológicos básicos como, por exemplo, nas áreas de genética, fisiologia e bioquímica. Isso se deve à facilidade e rapidez com que células, principalmente de bactérias, podem ser manuseadas em laboratório. Após estudos com bactérias, processos genéticos e bioquímicos podem ser estudados em organismos superiores com maior facilidade.

Se as bactérias são os ancestrais de todos os organismos vivos

presentes no planeta terra, tudo o que aprendermos com o cultivo e funcionamento básico das células bacterianas pode ser verdadeiro para organismos formados por tecidos e órgãos. Apenas a complexidade dos sistemas aumentará.

Será dada ênfase maior nesse capítulo à descrição, ainda que sucinta, das células procarióticas, que correspondem às bactérias, as quais incluem as cianobactérias. Isso em função do elevado número de processos microbianos importantes no solo desempenhados pelas bactérias, conforme será detalhado na parte aplicada desta disciplina, nos capítulos relativos aos ciclos biogeoquímicos de alguns elementos.

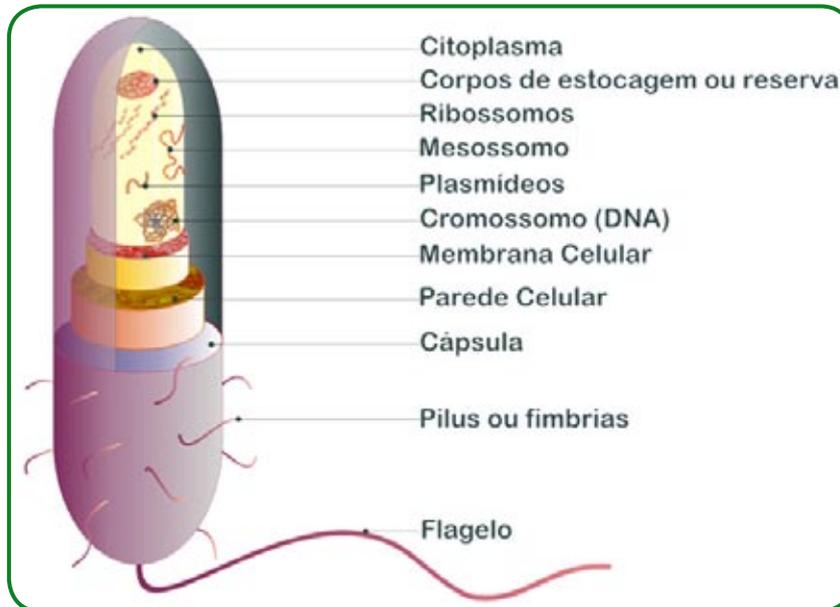
De todos os organismos vivos, nenhum é tão versátil e diverso quanto o grupo das bactérias. Em qualquer ambiente em que um organismo superior está presente, bactérias também estão presentes. Em ambientes onde seres superiores estão ausentes como, por exemplo, em locais com temperaturas elevadas (águas termais) e extremamente ácidos, muitas vezes encontramos bactérias.

Embora uma grande diversidade estrutural exista entre bactérias, sua versatilidade e diversidade são expressas primeiramente em termos de particularidades metabólicas com respeito ao tipo de metabolismo responsável pela produção de energia. Os principais tipos de metabolismo energético encontrados entre eucarióticos, tais como fotossíntese, respiração aeróbica e fermentação, também ocorrem entre procarióticos e em adição temos outros. **Somente bactérias** (algumas) possuem:

- Tipo especial de fotossíntese. A fonte de elétrons não é a água para a maioria das bactérias que realizam a fotossíntese e, portanto, a fotossíntese bacteriana não libera oxigênio, sendo, por isso, denominada de fotossíntese anoxigênica. No caso das cianobactérias, a fonte de elétrons é a água e ocorre a produção de oxigênio, como ocorre na fotossíntese dos vegetais;
- Respiração anaeróbica. O oxigênio não é o receptor final de elétrons na cadeia respiratória. Outros íons, como o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), o sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) e o ferro ( $\text{Fe}_3^+$ ) podem exercer essa função;
- Fermentação com maior gama de produtos. Os tipos de rotas fermentativas são mais diversos em bactérias do que em microrganismos unicelulares fermentadores eucarióticos, como as leveduras;
- Oxidação de compostos inorgânicos. Algumas bactérias podem oxidar compostos inorgânicos para a produção de energia como, por exemplo, a amônia e compostos reduzidos de enxofre ( $\text{S}^0$  e  $\text{H}_2\text{S}$ ) e ferro ( $\text{Fe}_2^+$ ).

### PRINCIPAIS COMPONENTES CELULARES ENCONTRADOS EM BACTÉRIAS

Apesar de metabolicamente diversas, as bactérias apresentam, relativamente poucas estruturas celulares (Figura A.6).



**Figura A.6.** Esquema de uma bactéria “completa” mostrando as várias estruturas celulares. Existem variações quanto à forma e presença de todas as estruturas representadas nesse desenho. Exemplo: algumas bactérias têm forma cilíndrica e nem todas as bactérias possuem flagelo.

**1. Membrana celular ou citoplasmática** - A membrana citoplasmática corresponde a uma estrutura delgada que envolve completamente a célula, atuando como barreira que separa o interior da célula (citoplasma) de seu ambiente. Se a membrana for rompida, a integridade celular é destruída, havendo extravasamento do conteúdo citoplasmático, levando a célula à morte. Além disso, a membrana é uma **barreira altamente seletiva**, impermeável às substâncias ionizadas e substâncias moleculares maiores (não ionizadas). Essa seletividade é dada pela composição da membrana, a qual apresenta, internamente, uma bicamada lipídica altamente hidrofóbica (Figura A.7). Assim, moléculas carregadas, grandes e hidrofílicas, como açúcares, aminoácidos, etc., necessitam de “moléculas transportadoras” para que possam penetrar na célula, e estes transportadores são as enzimas chamadas **permeases**. Normalmente uma permease é específica a um tipo de molécula a ser transportada. Outra função importante da membrana citoplasmática em procarióticos (bactérias) é servir de sede das enzimas respiratórias, envolvidas na produção de energia na célula. Em eucarióticos o processo produtor de energia ocorre na membrana interna das mitocôndrias.

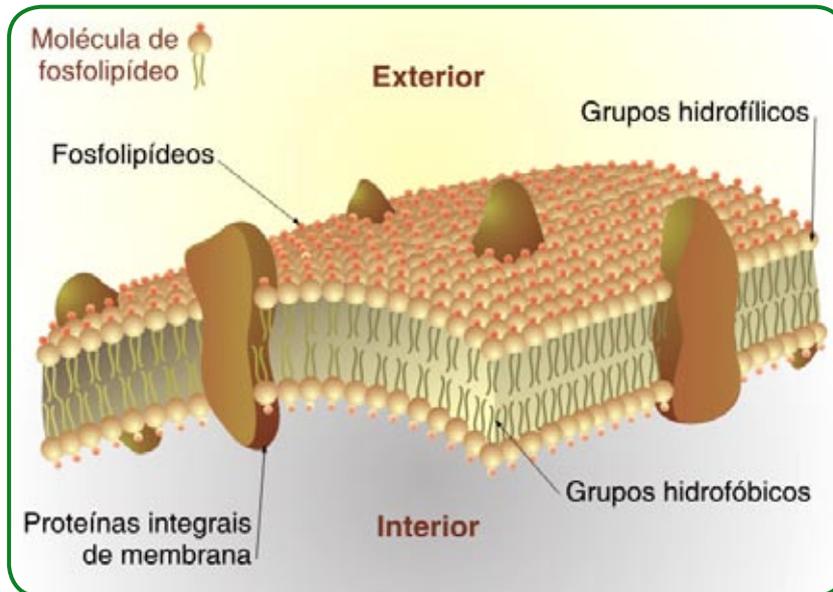


Figura A.7. Diagrama representativo da estrutura da membrana citoplasmática.

**2. Endósporos** - Algumas bactérias são capazes de transformar a própria célula em um esporo (endósporo), como um meio de preservação das espécies, já que eles são estruturas resistentes aos fatores adversos, como dessecação, calor e radiação. Em condições ambientais adversas alguns grupos de bactérias têm condições de se transformar em endósporos e permanecer em estado de dormência até que o fator limitante ao crescimento desapareça. Por outro lado, aquelas bactérias (a grande maioria) não esporulantes podem ser eliminadas de seu ambiente. No solo, as bactérias do gênero *Bacillus* são as mais numerosas e têm a capacidade de produzir endósporos.

Os endósporos de algumas bactérias possuem efeito inseticida, especialmente na fase larval do inseto. *Bacillus thuringiensis* é uma bactéria Gram-positiva que exerce esse efeito através de seus endósporos e, por isso, está sendo estudada intensivamente. Os endósporos produzidos por esse bacilo possuem cristais de uma toxina protéica (toxina Bt) que mata certas larvas de insetos. Quando os insetos ingerem os endósporos, os cristais da toxina Bt dissolvem-se e destroem o revestimento do seu trato intestinal. A toxina não é prejudicial a animais e humanos e, pelo fato de ser uma proteína, ela é rapidamente degradada, não acumulando no ambiente.

Recentemente, as técnicas de engenharia genética têm fornecido novos rumos com relação ao uso da toxina Bt. O gene para a toxina, que é a porção do DNA que contém as instruções codificadas que permitem a produção da toxina pelo *Bacillus thuringiensis*, tem sido transferido da bactéria para células de plantas. Isto permite que as células vegetais produzam a toxina. Quando o inseto ingere o tecido vegetal ele consome a toxina, sendo assim envenenado. Essa biotec-

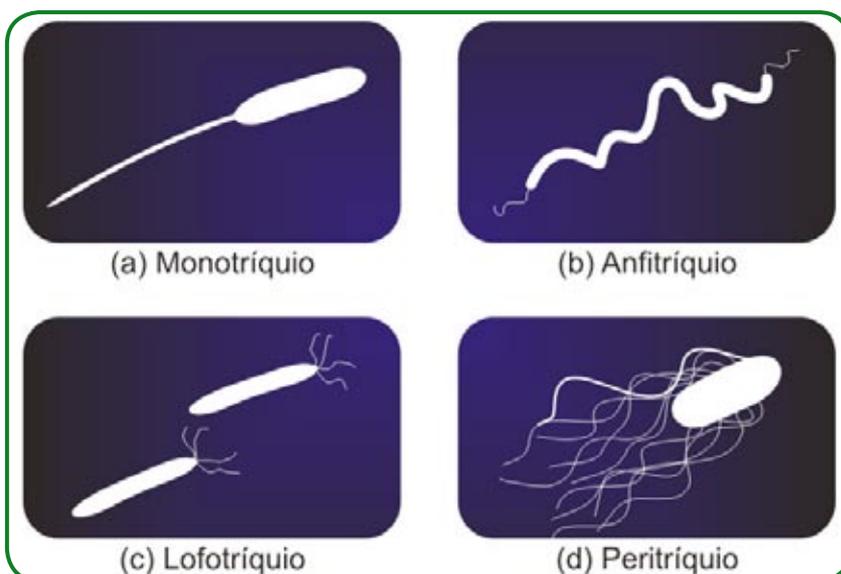
nologia foi empregada no milho, gerando o milho Bt, o qual é resistente ao ataque de diversos insetos.

**3. Mesossoma** - São invaginações da membrana celular. As funções propostas para sua presença na célula são:

- aumento do “comprimento” da membrana celular.
- possivelmente contenha as enzimas para duplicação do DNA, ou seja, o DNA gruda-se nesta parte da membrana plasmática e começa a ser duplicado. Esta função é duvidosa pois nem todas as bactérias apresentam mesossoma, e duplicam o DNA.
- neste local pode haver concentração de enzimas respiratórias.

**4. Ribossomos** - Os ribossomos são responsáveis pela síntese proteica na célula e o conjunto de ribossomos é também conhecido como polissomos. Em cortes finos, observados em microscópio eletrônico, os ribossomos aparecem como pequenas partículas escuras no citoplasma. Eles são compostos por 60% de ácido ribonucléico (RNA) e 40% de proteína.

**5. Flagelos** - A função dos flagelos, naquelas espécies bacterianas que os possuem, é a locomoção, sendo que o número de flagelos é variável dependendo da espécie de bactéria. O flagelo de bactérias (Figura A.8) é composto de subunidades protéicas e a proteína é chamada FLAGELINA. As bactérias possuidoras dessa estrutura de locomoção apresentam vantagens em relação àquelas desprovidas de flagelo, pois podem se aproximar mais facilmente da fonte de alimento (substrato) ou se afastar de fatores ambientais adversos.



**Figura A.8.** Arranjos básicos de flagelos em células bacterianas.

**6. Cápsula ou camada gomosa** - Alguns organismos procarióticos secretam em sua superfície materiais gomosos, compostos de polissacarídeos e proteínas. Quando esse material é arranjado de forma compacta ao redor da célula é chamado CÁPSULA e quando o material está levemente aderido ao redor da célula é chamada CAMADA GOMOSA. Estas estruturas têm função de adesão das bactérias aos substratos, além de servirem como fonte d'água em condições de déficit hídrico.

**7. Pilus** – A sua função não é ainda bem conhecida. Pode ser um órgão de reconhecimento para a bactéria realizar troca de plasmídeos, que são pedaços de DNA soltos no citoplasma da célula.

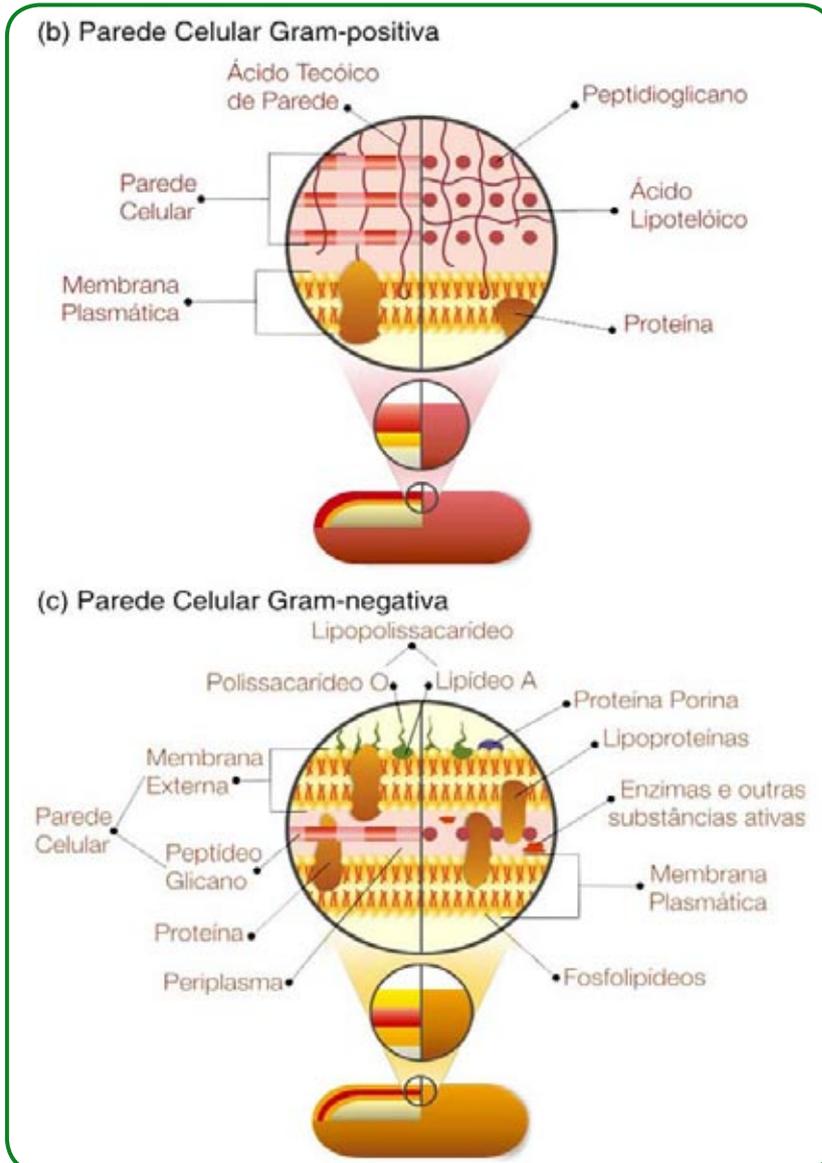
**8. Cromossomo**- Composto de DNA (ácido desoxirribonucléico), carrega toda a informação genética da célula, ou seja, todas as propriedades ou “habilidades bioquímicas” de uma célula.

**9. Corpos de inclusão ou de estocagem** - São materiais de reserva que muitos microrganismos podem acumular dentro da célula. São de diferente natureza dependendo da espécie microbiana. Três dos compostos mais comuns encontrados em bactérias que têm essa função de reserva são o **Ácido Poli-Beta-Hidroxi-butírico (PHB)**, o fosfato inorgânico (**grânulos de polifosfato**) e o enxofre elementar (**grânulos de S<sup>0</sup>**). Outro composto de reserva, mais comum em fungos, é o **Glicogênio**. Este acúmulo de substâncias de reserva ocorre em ambiente rico em nutrientes e o microrganismo poderá utilizá-las quando houver a exaustão de nutrientes do meio.

**10. Parede celular** - A composição da parede celular em bactérias, quando comparada com outros organismos que possuem parede celular, é “única” (diferencial) pois é formada por um composto chamado peptidoglicano o qual não é encontrado em nenhum outro organismo. Uma das principais funções da parede celular bacteriana é manter a forma da célula e protegê-la de variações bruscas do meio, especialmente de possíveis choques osmóticos. Toda vez que existir uma maior concentração de substâncias (solutos) dentro da célula, em relação ao ambiente externo, a tendência da água é entrar na célula aumentando a pressão osmótica contra a membrana celular. A parede celular previne a expansão incontrolável da célula e a sua explosão.

Em bactérias existem dois **tipos de parede celular** que permitem separá-las em dois grandes grupos: **as Gram-positivas e as Gram-negativas** (Figura A.9). Nas bactérias Gram-positivas a parede é constituída basicamente de uma camada espessa de peptidoglicano en-

quanto nas Gram-negativas a parede é composta por uma membrana externa, de composição química semelhante à membrana citoplasmática, e de uma fina camada de peptidoglicano. Essa diferenciação entre as bactérias é facilmente percebida através da sua observação ao microscópio quando as mesmas são submetidas à técnica de **coloração de Gram**. Essa característica diferencial é extremamente útil para a identificação das bactérias, após serem isoladas de algum ambiente.



**Figura A.9.** Paredes celulares bacterianas. (a) Parede celular gram-positiva e (b) parede celular gram-negativa

## **Bibliografia**

MOREIRA, F.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2ª edição, Editora UFLA, 2006. 623 p.

CARDOSO, E. J. B. N TSAI, S. M.; NEVES, M.C.P. **Microbiologia do solo**. Campinas, SBCS. 1992. 360p.

MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., PARKER, J. Brock : **Microbiologia de Brock**. São Paulo: Prentice-Hall, 2004. 608p.

TORTORA, G.J., FUNKE, B.R., CASE, C.L. **Microbiologia**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 894 p

## **UNIDADE B**

### **Organismos do solo**

#### **Introdução**

O solo é considerado um dos mais importantes reservatórios de biodiversidade do planeta terra, devido a enorme diversidade de organismos vivos que habitam esse ambiente. Os organismos do solo são classificados em microrganismos e macrorganismos (fauna do solo). Esses dois grupos de organismos, principalmente os microrganismos, são responsáveis pela realização de processos-chaves para a manutenção da vida no planeta, sendo a atividade dos organismos bastante influenciada pelas práticas agrícolas. Nesta unidade serão apresentados os diferentes organismos que habitam o solo e as atividades que eles realizam e práticas de manejo do solo que influenciam sua atividade.

#### **Objetivos**

- **apresentar os organismos do solo**
- **estudar as funções que os organismos realizam no solo**
- **relacionar práticas de manejo do solo com a atividade dos organismos**

## 1. Organismos do solo: microrganismos e fauna do solo

Os organismos do solo são diversos e numerosos. Em função do seu tamanho eles podem ser divididos em microrganismos e macrorganismos. O grupo dos microrganismos é formado por bactérias, fungos, algas e protozoários. Esse grupo também é denominado de **microflora**. Já o grupo dos macrorganismos inclui, por exemplo, nematóides, minhocas e cupins. Embora os protozoários sejam considerados microrganismos juntamente com os macrorganismos eles compõem a fauna do solo.

### 1.1 Microrganismos

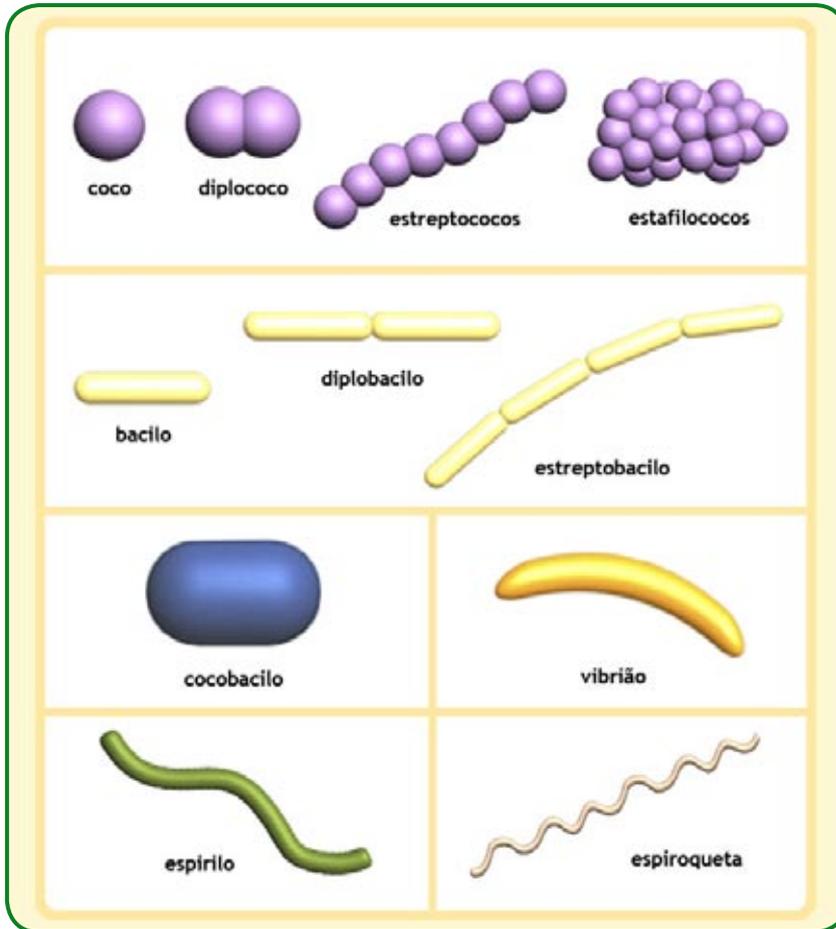
#### BACTÉRIAS

As bactérias são consideradas os organismos mais antigos da Terra. Atualmente elas estão classificadas em dois grandes grupos: *Bactéria* e *Archaea*. O grupo Bactéria engloba a maioria das bactérias presentes no solo e o grupo Archaea é composto principalmente por bactérias extremófilas e metanogênicas. Com exceção das metanogênicas, que estão presentes em solos cultivados com arroz irrigado por inundação, os extremófilos não são habitantes comuns de solos agrícolas. As bactérias extremófilas são capazes de crescer sob condições extremas de temperaturas e pH. Essas condições são encontradas principalmente em fontes termais e em áreas de mineração.

A morfologia das células bacterianas é bastante variável (Figura B.1). Entre os diversos tipos morfológicos observados, os mais frequentes são os **cocos** (célula esférica ou ovalada), os **bacilos** (célula cilíndrica) e os **espirilos** (célula em forma de espiral). Embora todas as bactérias sejam unicelulares, algumas espécies permanecem agrupadas após a divisão celular (diplococos, sarcina e tétradas) que em alguns casos formam longas cadeias de células.

#### + SAIBA MAIS

O termo **microflora** é originado da primeira classificação dos microrganismos realizada por Linnaeus quando esses eram agrupados junto com as plantas (flora) no Reino Vegetal (Plantae). Considerando a classificação atual dos microrganismos o termo microflora não é adequado para representar os microrganismos.



**Figura B.1.** Formas celulares (morfologia) representativas de procariotos e arranjos das células bacterianas após sua divisão.

No solo existem também bactérias filamentosas, denominadas de **actinomicetos**. Essas bactérias formam filamentos ramificados que darão origem ao micélio. Embora de dimensões bacteriana, o micélio é em vários aspectos, parecido ao micélio formado por fungos filamentosos.

As bactérias são os menores organismos encontrados no solo, sendo que a unidade de medida usada para expressar o tamanho das células bacterianas é o micrômetro ( $1 \mu\text{m} = 0,001 \text{ mm}$ ). As bactérias apresentam tamanhos variáveis, desde células muito pequenas, com diâmetro de  $0,1\text{-}0,2 \mu\text{m}$ , até outras com mais de  $50 \mu\text{m}$  de diâmetro. As dimensões médias de uma bactéria em forma de bacilo, como, por exemplo, a bactéria *Escherichia coli*, correspondem a cerca de  $1 \times 3 \mu\text{m}$ .

A maioria das bactérias presentes no solo é aeróbia, ou seja, necessitam do  $\text{O}_2$  para seu crescimento. No solo existem também as bactérias que conseguem viver na presença e/ou na ausência de  $\text{O}_2$  (p.ex. *Pseudomonas aeruginosa*). Além dessas existem aquelas que

crecem somente na ausência de  $O_2$ , como as bactérias do gênero *Clostridium*. Um outro exemplo de bactérias que não toleram o  $O_2$  são as metanogênicas do grupo *Archaea*. Essas bactérias são as principais responsáveis pelo metano (gás natural) presente na Terra. As metanogênicas também são responsáveis pela produção de metano nas lavouras de arroz irrigado por inundação. Porém nesse caso o metano é emitido para a atmosfera contribuindo para o efeito estufa. Na unidade 5 será apresentada uma classificação das bactérias em função das suas exigências em oxigênio, temperatura, água e pH.

As cianobactérias são classificadas como bactérias (grupo *Bactéria*) fotossintetizantes, seu metabolismo gera oxigênio molecular ( $O_2$ ) da mesma maneira que nas plantas. Alguns estudos demonstraram que as cianobactérias desempenharam papel importante na evolução da vida, pois foram os primeiros organismos fototróficos oxigênicos a surgir na Terra. Conforme verificado na unidade 1, esse evento foi importantíssimo para o surgimento da “vida aeróbica” na Terra.

As cianobactérias apresentam enorme diversidade morfológica. São conhecidas tanto formas unicelulares quanto filamentosas, com variações consideráveis entre esses tipos morfológicos. Algumas espécies de cianobactérias filamentosas podem apresentar heterocistos, os quais atuam na fixação de nitrogênio. As células de cianobactérias variam quanto ao tamanho, desde o típico tamanho bacteriano (diâmetro de 0,5-1  $\mu m$ ) até células grandes, com diâmetro de 40  $\mu m$  (*Oscillatoria princeps*).

Além da diversidade morfológica, a diversidade bioquímica e fisiológica é uma característica marcante das bactérias. Devido a essa característica, esses organismos são capazes de colonizar ambientes inabitados pelos eucariotos. A diversidade bioquímica e fisiológica permite que as bactérias utilizem várias fontes de energia e utilizem diversos tipos de substrato (alimento) e tolerem ambientes com condições extremas. Na unidade 4 iremos discutir um pouco mais sobre a classificação nutricional das bactérias.

## FUNGOS

Os fungos são microrganismos eucariotos que apresentam habitats relativamente diversos, sendo que a maioria vive no solo ou sobre material vegetal morto. Todos os fungos são organismos heterotróficos e apresentam exigências nutricionais simples. Várias espécies podem crescer em ambientes de pH baixo ou com altas temperaturas (até 62°C). Essas características associadas a sua capacidade de produzir esporos, torna-os organismos contaminantes, comumente isolados de produtos alimentícios e da maioria das superfícies.

São reconhecidos três principais grupos de fungos: os bolores também conhecidos como fungos filamentosos (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Pe-*

*nicilium*), os cogumelos e as leveduras. Esse último grupo são fungos unicelulares com células esféricas, ovais ou cilíndricas. As leveduras crescem abundantemente em habitats onde há a presença de açúcares, como frutas, flores e cascas de árvores. As principais leveduras de importância econômica correspondem ao gênero *Saccharomyces*, utilizadas na panificação e na produção de bebidas alcoólicas.

Os fungos filamentosos encontram-se amplamente disseminados na natureza. Cada filamento cresce principalmente na extremidade, pela extensão da célula terminal. Um único filamento recebe a denominação de hifa. As hifas geralmente crescem em conjunto, ao longo de uma superfície, formando tufo compactos, sendo este conjunto denominado micélio, que pode ser facilmente visualizado sem o auxílio de um microscópio. O micélio surge porque as hifas individuais, ao crescerem, formam ramificações que se entrelaçam, resultando em uma massa compacta.

Cogumelos correspondem a basidiomicetos filamentosos, que formam grandes corpos de frutificação (p.ex. *Coriolus*, *Marasmius*). Durante a maior parte de sua existência, o cogumelo vive como um simples micélio, crescendo no solo, em restos de folhas, ou troncos em decomposição. No entanto, quando as condições ambientais tornam-se favoráveis, geralmente após períodos de clima úmido e frio, os corpos de frutificação se desenvolvem, inicialmente como uma estrutura pequena, em forma de botão, abaixo da superfície, que depois se expande, formando o corpo de frutificação totalmente desenvolvido, que observamos acima do solo. Esporos sexuais, denominados basidiósporos são formados na face inferior do corpo de frutificação, em regiões achatadas denominadas lamelas, que se encontram ligadas ao píleo do cogumelo. Os basidiósporos dos cogumelos são dispersos pelo vento.

Diversas espécies de fungos do grupo dos filamentosos e dos cogumelos podem formar simbioses mutualísticas com plantas, denominadas micorrizas. Essa associação será tratada com mais detalhes quando abordaremos o ciclo biogeoquímico do fósforo.

## ALGAS

As algas compõem um grande e diverso grupo de organismos eucarióticos que contêm clorofila e realizam a fotossíntese (liberam  $O_2$ ). As algas não devem ser confundidas com as cianobactérias, que também são fototróficas, pertencentes ao grupo *Bacteria* e, desse modo, bastante distintas evolutivamente das algas. Embora a maioria das algas apresente tamanho microscópico, correspondendo claramente a microrganismos, algumas formas são macroscópicas, com algumas algas marinhas podendo atingir mais de 30 m de comprimento.

As algas podem ser unicelulares ou coloniais, sendo as últimas correspondentes a agregados celulares. Quando as células assumem um arranjo linear, a alga é denominada filamentosa. Dentre as formas filamentosas, ocorrem filamentos não ramificados e ramificados. As algas contêm clorofila e, conseqüentemente, exibem coloração verde. No entanto, alguns tipos de algas comuns não são verdes, exibindo coloração marrom ou vermelha devido à presença de outros pigmentos tais como xantofilas, além da clorofila, os quais mascaram a coloração verde. As células de algas contêm um ou mais cloroplastos - estruturas membranosas que armazenam os pigmentos fotossintéticos. Os cloroplastos podem freqüentemente ser reconhecidos microscopicamente no interior das células de algas por sua coloração verde distinta.

## 1.2 Fauna do solo

O termo fauna do solo é utilizado quando se deseja referenciar a comunidade de organismos que vivem permanentemente ou que passa um ou mais ciclos de vida no solo. Entre os organismos que formam a fauna do solo temos os unicelulares (protozoários) e organismos multicelulares (nematóides, minhocas, insetos). Com o objetivo de facilitar o estudo da funcionalidade dos diferentes grupos taxonômicos que compõem a fauna do solo diversas classificações foram propostas. A seguir serão apresentadas algumas dessas classificações.

Considerando o tamanho e a mobilidade dos organismos a fauna do solo é dividida em três grandes grupos (Figura B.2).

Classificação	Tamanho	Mobilidade	Organismos
Microfauna	<0,2 mm	São mais móveis que os microrganismos	Protozoários e nematóides
Mesofauna	0,2 a 4 mm	Através de fissuras, poros e próximo a serrapilheira	Ácaros, colêmbolos, pequenos miriápodes, pequenos insetos
Macrofauna	>4 mm	Constroem ninhos, cavidades e galerias e transportam material de solo	Minhocas, térmitas, formigas, coleópteros.

**Figura B.2.** Classificação da fauna do solo em função do seu tamanho e da mobilidade dos organismos no solo.

A microfauna vive nos filmes de água presentes nas superfícies dos agregados e, ou na água que ocupa os espaços porosos do solo. Os principais integrantes desse grupo são os protozoários e os nematóides. Os dois organismos são eucariotos e se alimentam preferencialmente de bactérias e fungos. A maioria dos protozoários alimenta-se por ingestão através da **fagocitose**. Alguns protozoários são literalmente capazes de engolir células bacterianas ou pequenas células eucarióticas pela ação de uma estrutura especial denominada citóstoma.

### **AE** GLOSSÁRIO

**Fagocitose:** processo no qual os protozoários ingerem partículas de alimento e microrganismos pela membrana celular. O alimento no interior da célula permanece dentro de um vacúolo digestivo, o qual realizara a digestão da partícula.

Os nematóides também se destacam por serem parasitas de plantas (fitonematóides), infectando principalmente o sistema radicular das mesmas e provocando alterações nas raízes (p.ex. galhas) que reduzem a absorção de água e nutrientes pela planta.

A mesofauna habita os espaços porosos do solo e é altamente restrita pela existência desses espaços. Os colêmbolos juntamente com os ácaros constituem a maior parte da mesofauna edáfica. Os colêmbolos são coloridos ou de cor branca, possuem peças bucais mastigadoras. Esses organismos podem viver junto aos resíduos vegetais ou no interior do solo. A alimentação dos colêmbolos é constituída principalmente de fungos ou de restos de folhas. Os colêmbolos do solo podem consumir tecidos vegetais vivos ao passo que outros se alimentam de folhas em decomposição.

A macrofauna tem a habilidade de criar seus espaços através da sua atividade, gerando bioporos e galerias no interior do solo. Esse grupo é composto principalmente pelas minhocas, formigas e térmitas (cupins), os quais são considerados os engenheiros do ecossistema. As minhocas aparecem com maior abundância em solos de floresta e pastagens naturais. As formigas são insetos com organização social bastante evoluída e constituem um dos grupos mais importantes da fauna edáfica, particularmente em regiões tropicais e subtropicais. Isso devido principalmente pela sua influência na regulação do equilíbrio ecológico (muitas espécies são parasitas ou predadores de várias pragas de insetos) e pela sua ação pedológica. Os cupins alimentam-se principalmente de material vegetal ingerido geralmente misturado com solo. São os únicos insetos com capacidade de digerir a celulose a qual é obtida na madeira. Alguns cupins possuem protozoários no tubo digestivo, em simbiose, para digerir a celulose.

Em função do seu habitat a fauna do solo é classificada em dois grupos. Organismos que passam o ciclo completo de sua vida no solo são denominados de geobiontes (p.ex. minhocas e colêmbolos). Já os organismos que passam apenas uma parte de sua vida no solo são chamados de geófilos (p.ex. dípteros e coleópteros).

Considerando a posição em que os organismos vivem no solo, os mesmos podem ser classificados em epiedáficos (vivem na superfície do solo), hemiedáficos (habitantes da camada orgânica) e euedáficos (vivem junto à camada mineral do solo).

Baseado em aspectos ecológicos, os organismos que compõem a fauna do solo podem ser agrupados em três categorias:

1. Micropredadores: microfauna, principalmente nematóides e protozoários que ingerem os microrganismos.
2. Transformadores de serrapilheira: mesofauna, principalmente colêmbolos que fragmentam os resíduos vegetais aumentando a superfície de ataque para os microrganismos.

3. Engenheiros do ecossistema: macrofauna, principalmente minhocas, cupins e formigas, os quais alteram a estrutura do solo influenciando os fluxos de nutrientes e energia.

## 2. Classificação, localização e regimes alimentares dos organismos do solo.

O regime alimentar, constitui uma característica que permite classificar os diferentes tipos de organismos (Figura B.3.) Pelo hábito alimentar é possível avaliar as relações existentes entre os diferentes organismos e estimar sua influência nas características do solo. Frequentemente os organismos apresentam regimes alimentares mistos, porém existem também aqueles organismos com estreita especialização alimentar.

Regime alimentar	Material	Exemplos
Saprófagos	Alimentam-se de restos orgânicos ou matéria orgânica em decomposição	Oligoquetas, ácaros, colêmbolos
Fitófagos	Alimentam-se de tecidos vegetais vivos ou seiva destes	Nematóides e pulgões
Necrófagos	Alimentam-se de animais mortos	Algumas formigas
Coprófagos	Alimentam-se de excrementos de outros animais	Coleópteros
Predadores	Alimentam-se exclusivamente de animais vivos	Aranhas

**Figura B.3.** Classificação da fauna edáfica segundo o regime alimentar

A classificação apresentada na Figura B.4 relaciona o regime alimentar da fauna do solo com as atividades que os mesmos realizam no solo. A chamada fauna de superfície habita o horizonte superficial e é composta por organismos que vivem sob resíduos orgânicos, movimentam-se com agilidade, apresentam olhos e sensores bem desenvolvidos e são pigmentados. Essas populações sofrem bastante influência das condições climáticas.

As espécies subterrâneas habitam o interior do solo e raramente vêm a superfície. Apresentam um conjunto de hábitos e características comuns como: movimentação e visão restritas, sensibilidade química e mecânica muito desenvolvida, corpo segmentado e resistência ao gás carbônico. Esses organismos são menos afetados pelos eventos climáticos da atmosfera e manejo da superfície do solo.

Grupos	Papel	Organismos
Epigeicos	Vive e se alimenta na superfície do solo. Fragmenta os materiais que ingere e participa da decomposição da matéria orgânica do solo.	Pequenos artrópodes saprófagos; pequenos anelídeos pigmentados; miriápodes, algumas formigas.
Anegeicos	Alimenta-se na superfície e vive em camadas subsuperficiais do solo; constroem galerias para se movimentar.	Anelídeos grandes e pigmentados e a maioria dos térmitas geófagos
Endogeicos	Vive no interior do solo; consome raízes vivas e/ou mortas; é geófago e constrói pequenas galerias.	Anelídeos e térmitas despigmentados

**Figura B.4.** Classificação da fauna do solo segundo o hábito alimentar, baseado no papel que os organismos desempenham no ecossistema.

A grande maioria dos organismos que compõem a fauna do solo encontra-se nos primeiros centímetros da superfície, onde ocorre a maior concentração de matéria orgânica, a qual é a base alimentar da maioria desses organismos.

### 3. Densidade, biomassa e funções dos microrganismos e da fauna do solo

#### 3.1 Densidade e biomassa

Na Figura B.5 podemos verificar que os organismos do solo são numerosos. Quanto menor o tamanho dos organismos maior é a sua densidade no solo. Bactérias destacam-se pela maior densidade e juntamente com os fungos apresentam também maior biomassa. Embora os componentes da fauna do solo apresentem-se em menor número e biomassa do que os microrganismos, as atividades realizadas por esses organismos são de grande importância, pois afetam a estrutura do solo e a dinâmica da matéria orgânica e a ciclagem de nutrientes. É importante ressaltar que os dados apresentados na Figura B5 são apenas de referência e que os mesmos são dependentes das **condições edafoclimáticas** predominantes no ambiente.

#### **AE** GLOSSÁRIO

**Condições edafoclimáticas** são as condições de solo e clima como, por exemplo, temperatura e umidade e pH do solo.

Grupo de organismo	Tamanho (µm)	Número (nº g <sup>-1</sup> de solo)	Biomassa úmida (kg ha <sup>-1</sup> )
Bactéria	0,5 x 1	10 <sup>8</sup> - 10 <sup>9</sup>	300 - 3.000
Actinomicetos	0,5 - 2*	10 <sup>7</sup> - 10 <sup>8</sup>	300 - 3.000
Fungos	8*	10 <sup>5</sup> - 10 <sup>6</sup>	500 - 5.000
Algas	5 x 13	10 <sup>3</sup> - 10 <sup>6</sup>	10 - 1.500
Protozoários	15 x 50	10 <sup>3</sup> - 10 <sup>5</sup>	5 - 200
Colêmbolos	0,5 a 4,0	16.000**	
Minhocas	100.000	>10 a <2000	10 - 1.000

\* diâmetro da hifa    \*\* número por metro quadrado

**Figura B.5.** Grupo de organismos do solo com valores representativos de tamanho, número e biomassa.

Atualmente mais de 4.700 espécies de bactérias foram identificadas no solo. Algumas estimativas indicam que esse número pode chegar a 53.000. No caso de fungos são conhecidas aproximadamente 75.000 espécies, representando apenas 5% do número de espécies de fungos que estima-se que estejam habitando o solo. Alguns gêneros de bactérias e fungos encontrados no solo são apresentados na Figura B.6. O gênero *Bacillus* é uma das bactérias mais comumente encontrada nos solos, a qual pode representar até 67% das bactérias do solo. Possivelmente isso esteja relacionado a sua capacidade de produzir endósporo em condições adversas de umidade e temperatura.

Bactéria	Actinomicetos	Fungos
<i>Arthrobacter, Bacillus, Pseudomonas, Agrobacterium, Alcaligene Flavobacterium Corynebacterium Xantomonas Mycobacterium Bradyrhizobium*</i>	<i>Streptomyces, Actinomyces, Nocardia</i>	<i>Aspergillus, Fusarium, Penicillium, Rhizopus</i>

\* presente em solos onde foi realizado o cultivo da soja com o uso de inoculação

**Figura B.6.** Principais gêneros de microrganismos encontrados no solo.

### 3.2 Principais funções dos microrganismos e da fauna do solo

No solo as bactérias realizam diversos processos essenciais no ciclo da vida como:

- decomposição de resíduos orgânicos de origem vegetal e animal.
- transformações biogeoquímicas e ciclagem de elementos como nitrogênio (N), fósforo (P) e enxofre (S).
- síntese de substâncias húmicas.
- fixação de N<sub>2</sub> atmosférico.
- agregação do solo.
- degradação de **xenobióticos**
- produção de antibióticos (p.ex. Streptomyces).

A principal atividade da maioria dos fungos corresponde à decomposição de materiais vegetais ricos em celulose e lignina. Os fungos através de suas hifas também auxiliam na agregação do solo unindo partículas minerais e microagregados em macroragregados. Além disso, podem agir como agentes de controle biológico e formar simbiose mutualística com plantas (micorrizas) e algas ou cianobactérias (liquens).

Embora os microrganismos sejam responsáveis por mais de 90% da atividade que ocorre no solo, a fauna apresenta importante função nesse ambiente. A microfauna em função de seu tamanho reduzido apresenta pouco efeito sobre alterações diretas na estrutura do solo. Todavia eles afetam a disponibilidade de nutrientes no solo através de interações com microrganismos. Protozoários e alguns nematóides são predadores de bactérias e fungos e, dependendo da intensidade de predação, eles podem diminuir significativamente o número de microrganismos, influenciando a taxa de renovação da biomassa microbiana. Com isso, são afetadas a taxa de mineralização da matéria orgânica do solo e a disponibilidade de nutrientes.

A mesofauna do solo apresenta uma grande diversidade de estratégias de alimentação e de funções em processos do solo. Os colêmbolos atuam na regulação das populações de fungos e da microfauna além de atuar na fragmentação de resíduos orgânicos, como por exemplo a palhada das culturas após a colheita. Outros componentes ativos da mesofauna, com destaque para os enquitreídeos, além de participarem ativamente da fragmentação de resíduos orgânicos também contribuem para a agregação do solo, através de excreções fecais.

Quanto à macrofauna, ela participa no fracionamento dos resíduos orgânicos e na sua redistribuição ao longo do perfil do solo, aumentando a superfície de contato e, portanto a disponibilidade de substrato or-

#### **AE** GLOSSÁRIO

**Xenobióticos** são compostos químicos sintéticos que não ocorrem naturalmente na Terra. Esses compostos são gerados pela atividade humana e estão presentes em diversos materiais como detergentes, lubrificantes, plásticos e agrotóxicos.

gânico à atividade microbiana. Certos grupos, com destaque para termitas e minhocas, podem modificar substancialmente a estrutura do solo pela formação de macroporos biológicos e agregados. Isto pode influenciar a infiltração de água e a lixiviação de solutos no solo e, portanto, a capacidade do solo funcionar como um tampão ambiental.

As minhocas estão entre os principais componentes da fauna do solo, atuando na porosidade biológica e na estabilidade dos agregados. Existem cada vez mais evidências sugerindo que, além do efeito positivo das minhocas na estrutura do solo, através da abertura de galerias, elas também podem afetar significativamente a fertilidade do solo pela sua influência em atributos biológicos e químicos.

A partir do exposto observa-se que os organismos do solo apresentam grande influência sobre a ciclagem de nutrientes e a estruturação do solo. Na Figura B.7 é apresentada um resumo das atividades dos organismos do solo que influenciam a ciclagem de nutrientes e a estrutura do solo.

<b>Grupo de organismos</b>	<b>Ciclagem de nutrientes</b>	<b>Estrutura do solo</b>
<b>Microorganismos</b>	<b>Catabolisa a matéria orgânica Mineraliza e imobiliza nutrientes</b>	<b>Produz compostos orgânicos que unem agregados Hifas aglomeram partículas em agregados</b>
<b>Microfauna</b>	<b>Regula populações de bactérias e fungos Altera a ciclagem de nutrientes</b>	<b>Pode afetar a estrutura de agregados por meio da interação com a microflora</b>
<b>Mesofauna</b>	<b>Regula populações de fungos e da microfauna Altera a ciclagem de nutrientes Fragmenta resíduos de plantas</b>	<b>Produz coprólitos Cria bioporos Promove a humificação</b>
<b>Macrofauna</b>	<b>Fragmenta resíduos de plantas Estimula a atividade microbiana</b>	<b>Mistura partículas orgânicas e minerais Redistribui a MO e microrganismos Cria bioporos Promove a humificação Produz coprólitos</b>

**Figura B.7.** Influência da biota em processos do ecossistema solo

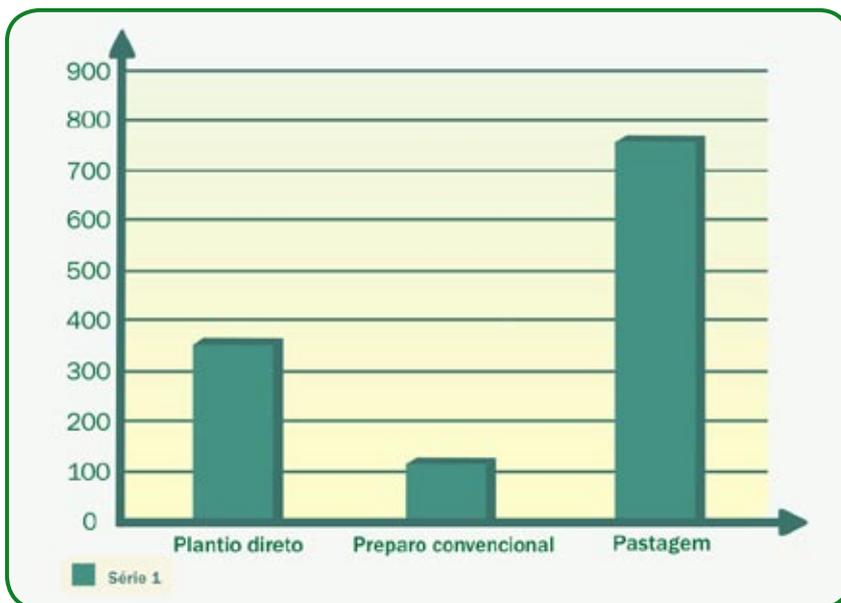
#### 4. Fatores que afetam os microrganismos e a fauna do solo

As práticas de manejo utilizadas em sistemas agrícolas podem afetar de forma direta e indireta os organismos do solo. Os impactos diretos correspondem à ação mecânica de equipamentos, efeitos tóxicos do uso de agroquímicos e ação do fogo. Os efeitos indiretos estão relacionados à modificação do ambiente e dos recursos alimentares. Os organismos apresentam alguma variação sazonal, principalmente, associada aos fatores climáticos, como temperatura e umidade. Os efeitos desses fatores, mais aqueles do pH e do oxigênio sobre os organismos do solo serão estudados na unidade 5.

As principais práticas de manejo do solo que exercem impactos negativos sobre os organismos do solo são:

- Preparo do solo. O uso repetido do preparo do solo com lavração e gradagens ocasiona um empobrecimento gradativo do solo em nutrientes e em matéria orgânica. Uma consequência disso é a diminuição da diversidade no solo, já que a cadeia alimentar dos organismos do solo depende da ciclagem de nutrientes, garantida pela decomposição da matéria orgânica.
- Queima de áreas para fins de plantio ou colheita. Além da eliminação direta de praticamente todos os organismos que vivem na superfície do solo, a eliminação dos resíduos culturais altera o ambiente e reduz a fonte de alimento.
- Remoção dos resíduos culturais da superfície do solo. Essa prática promove a perda de umidade pelo solo e proporciona maiores variações de temperatura o que afeta negativamente as populações de organismos do solo. Além disso, ocorre uma diminuição de alimento para os organismos do solo, haja vista, que os resíduos culturais são a principal fonte de C para o solo.
- Uso de monocultura. Essa prática torna o sistema mais simplificado, por ocasionar uma diminuição na diversidade de organismos no solo. Isso em função da monocultura favorecer apenas os organismos que se adaptarem aquela condição. Além disso, a monocultura leva normalmente a uma maior incidência de organismos considerados patógenos.
- Aplicação ou deposição de xenobióticos tóxicos e uso de agroquímicos. Quanto aos agroquímicos, os herbicidas em geral têm um efeito inibidor nas populações da fauna do solo, no entanto, menos pronunciado que os fungicidas e inseticidas. Os inseticidas apresentam efeitos negativos tanto sobre a macrofauna quanto a mesofauna.

Os organismos do solo constituem um dos marcadores biológicos mais sensíveis e mais úteis para classificar sistemas degradados ou contaminados uma vez que a sua diversidade pode ser afetada por pequenas mudanças que ocorrem em um ecossistema. Nesse sentido vários estudos estão sendo realizados na busca de selecionar os organismos que poderiam ser utilizados como indicadores das alterações do sistema. Atualmente considera-se que as minhocas estão entre esses organismos. Na Figura B.8 observa-se que o número de minhocas é reduzido com o cultivo do solo e esse efeito é maior no preparo convencional do solo (aração + gradagem). No preparo convencional ocorre a destruição das galerias e a mudanças nas condições físicas, com destaque para a umidade e a temperatura do solo. Aliado a isso ocorre o empobrecimento do solo em matéria orgânica. Isto sugere que a diminuição na população de minhocas, encontrada frequentemente sob condições de preparo convencional, esteja diretamente relacionada à degradação do solo, associada a sistemas agrícolas meramente extrativistas.



**Figura B.8.** Número de minhocas sob plantio direto, preparo convencional e pastagem permanente. (Fonte: Chan, 2001).

A densidade e a atividade dos organismos do solo podem ser favorecidas pela adoção das seguintes práticas:

- Redução nas práticas de uso e manejo que provocam distúrbios no solo.
- Retorno dos resíduos culturais e materiais orgânicos ao solo.
- Cultivo diversificado de plantas, tanto em culturas consorciadas como solteiras.

- Melhoria no condicionamento físico e químico do solo.
- Inoculações com microrganismos desejáveis como, por exemplo, os fixadores de N.

Uma vez que o solo é um ambiente cuja quantidade de C disponível é usualmente limitada, os organismos do solo, principalmente os microrganismos, respondem rapidamente à adição de materiais orgânicos. Assim pode-se dizer que, sistemas de culturas que promovam elevado aporte de resíduos culturais ao solo, são benéficos para os organismos do solo.

## Bibliografia

- MOREIRA, F.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2ª edição, Editora UFLA, 2006. 623 p.
- CARDOSO, E. J. B. N TSAI, S. M.; NEVES, M.C.P. **Microbiologia do solo**. Campinas, SBCS. 1992. 360p.
- MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., PARKER, J. Brock : **Microbiologia de Brock**. São Paulo: Prentice-Hall, 2004. 608p.
- TORTORA, G.J., FUNKE, B.R., CASE, C.L. **Microbiologia**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 894 p
- ANTONIOLLI, Z.I.; MENEZES, J.P. & MELLO, A.H. **Apostila de Biologia do Solo**. Santa Maria: Departamento de Solos. UFSM, 2007. 122p.
- PRIMAVESI, A. **O manejo ecológico do solo: agricultura em regiões tropicais** . São Paulo. Nobel. 1980.541p.

## UNIDADE C

### Ecologia do solo

#### Introdução

A Ecologia é o estudo das interações dos organismos entre si e suas interações com o ambiente. No caso da ecologia do solo, ela busca estudar essas relações no ecossistema solo. Nesse ecossistema, cada organismo interage com seu meio ambiente e com outros organismos. Essas interações podem resultar em alterações que podem afetar tanto os organismos do solo como as plantas. Em outros casos, as atividades realizadas pelos microrganismos e pela fauna do solo, são essenciais para os organismos superiores.

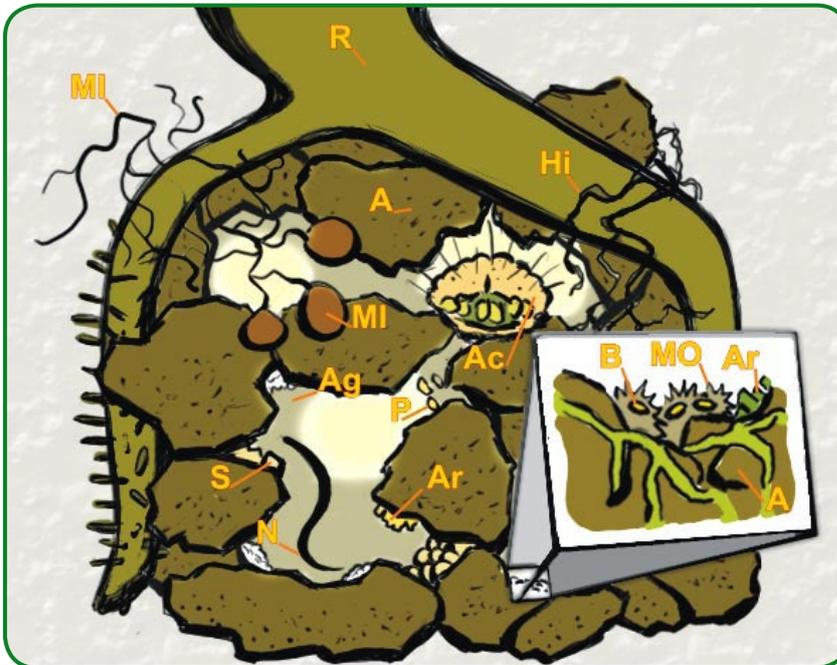
#### Objetivos

- apresentar alguns conceitos básicos relacionados à ecologia do solo;
- estudar as principais interações entre organismos do solo;
- verificar a importância da diversidade de organismos.

## 1. Conceitos gerais

No solo, os organismos não vivem isolados, mas sim em comunidades. Uma comunidade pode ser definida pelo conjunto de populações que interagem, ocupando um mesmo espaço num mesmo tempo. A população compreende um conjunto de indivíduos da mesma espécie que ocupam o mesmo espaço num mesmo tempo. As comunidades biológicas e os componentes abióticos do ambiente formam os ecossistemas. Os ecossistemas podem ser amplos como uma floresta ou diminutos como a rizosfera de uma planta.

Na Figura C.1 é mostrado os componentes abióticos (partículas de minerais, matéria orgânica, água) e bióticos (microrganismos, fauna do solo, raízes da planta) de um ecossistema rizosférico. Observa-se que os diferentes tipos de organismos estão distribuídos em função do seu tamanho e da distribuição dos poros presentes no solo. Percebe-se que as bactérias, devido ao seu tamanho microscópico, estão distribuídas em diversos **habitats** dentro do ecossistema considerado. Já os organismos maiores (ácaros e nematóides) estão presentes em alguns locais onde o espaço poroso é maior. Isso mostra que no solo, a diversidade e a densidade de organismos, assim como suas funções, estão relacionadas a características intrínsecas desse habitat. O espaço físico ocupado por um organismo, seu papel funcional na comunidade e suas características de adaptação a condições ambientais é denominado de nicho ecológico.



**Figura C.1.** Rizosfera como exemplo de um ecossistema. Partículas minerais (Areia: A, Silte: S e Argila: Ar), material orgânico: MO, água: Ag, raiz: R e organismos do solo (bactérias: B, actinomicetos: Act, esporos e hifas de micorrizas: Mi, hifas de fungos: Hi, nematóides: N, protozoários:P, ácaros: Ac)

### **AE** GLOSSÁRIO

**Habitat** é o lugar específico onde uma espécie pode ser encontrada. Endereço dentro do ecossistema. Habitat também pode ser definido como o local dentro da comunidade onde vivem organismos de uma mesma população. Para microrganismos o seu habitat pode ser denominado de micro-habitat ou microsítio devido a extensão do mesmo

O solo é um habitat extremamente heterogêneo tanto em condições climáticas como nutricionais. Essas características permitem que diversos organismos com características distintas vivam nesse ambiente, interagindo em estado de equilíbrio dinâmico, muitas vezes com relações de dependências essenciais para sua sobrevivência, proporcionando, assim, condições ideais para uma biodiversidade extremamente elevada.

Em um ecossistema microbiano, as células individuais crescem formando populações. As populações metabolicamente relacionadas são denominadas associações, enquanto os conjuntos de associações integram as comunidades. As comunidades microbianas interagem com comunidades de organismos macroscópicos e o meio ambiente, definindo o completo ecossistema.

Para entender melhor a ecologia do solo é necessário ressaltar alguns pontos fundamentais: a) a comunidade reflete seu habitat; b) um organismo se multiplica até que limitações bióticas ou abióticas sejam impostas contrabalançando a taxa de crescimento; c) quanto maior a complexidade da comunidade biológica, maior sua estabilidade; d) para qualquer mudança de um fator, um ótimo diferente passa a existir para todos os outros.

## **2. Natureza dos organismos do solo e suas interações**

Como vimos na unidade B, muitos tipos de organismos passam toda vida ou uma parte dela no solo. Estes incluem organismos microscópicos (bactérias e fungos) e macroscópicos (colêmbolos, minhocas). A maioria dos solos contém altas populações de organismos, principalmente de microrganismos, que apresentam como característica marcante a versatilidade nutricional e o metabolismo acelerado. Estas características permitem que os microrganismos desempenhem papel fundamental na decomposição de materiais orgânicos e na mineralização de nutrientes essenciais para as plantas.

A composição e a diversidade dos organismos edáficos podem ser modificadas pelas práticas agrícolas em diferentes graus de intensidade, em função de mudanças de habitat, fornecimento de alimento, criação de micro ambientes e competição intra e interespecífica. Em algumas situações, dependendo do tipo de solo, a combinação do preparo convencional do solo com a presença de resíduos culturais pode criar um ambiente favorável às bactérias, as quais irão predominar sobre a comunidade dos outros decompositores. A elevada capacidade das bactérias em decompor rapidamente os resíduos culturais nessa condição, liberando os nutrientes dos mesmos, favorece o desenvolvimento de uma fauna composta predominantemente por predadores de bactérias (protozoários e nematóides).

Por outro lado, com a manutenção dos resíduos culturais na superfície do solo, no plantio direto, a população de decompositores é dominada pelos fungos, com menor ciclagem de nutrientes. Essa situação favorece o desenvolvimento de uma fauna composta por nematóides predadores de fungos, colêmbolos e minhocas. Essas interações entre micro, meso e macrofauna são definidas conceitualmente como “cadeia alimentar do solo”.

A estrutura desta cadeia alimentar, composta pelos organismos do solo, determina a direção e as taxas do fluxo de energia e nutrientes através do sistema. Em termos de fluxo energético da cadeia trófica, os macrorrorganismos (macro e mesofauna) desenvolvem principalmente as funções dentritívoras, e os microrganismos são os principais responsáveis pela mineralização dos nutrientes, cerca de 90%, tornando-os disponíveis na solução do solo.

### 3. Influência das plantas sobre os microrganismos

As plantas são a fonte primária de energia que controla o ecossistema solo. Em função de que o solo apresenta baixa disponibilidade de nutrientes as plantas através de seu sistema radicular exploram um grande volume de solo a fim de obter nutriente e água em quantidades satisfatórias. O volume de solo influenciado pelas raízes pode ser bastante expressivo. Através do sistema radicular, as plantas liberam para o solo compostos orgânicos que são facilmente degradados pelos organismos do solo. Isso faz com que próximo ao sistema radicular na região denominada de **rizosfera** a população de microrganismos supera aquela no solo não influenciado pelas raízes em 10 a 100 vezes. Em função dessa maior densidade de microrganismos na rizosfera observa-se junto ao sistema radicular também uma maior população de predadores como os protozoários e nematóides.

Os resíduos culturais das plantas também afetam as populações de organismo no solo. Esses materiais orgânicos ao atingirem o solo são atacados por microartropodes e minhocas que promovem um aumento na área superficial dos resíduos vegetais melhorando a eficiência dos microrganismos na decomposição do material vegetal. Além disso esses organismos distribuem parte dos resíduos vegetais no interior do solo, misturando os resíduos vegetais com as partículas de minerais distribuindo melhor a atividade dos microrganismos no solo. Concluindo pode-se dizer que o efeito das plantas sobre os organismos do solo deve-se principalmente devido essas alterarem a disponibilidade de alimento para esses organismos no solo.

#### **AE** GLOSSÁRIO

**Rizosfera:** volume de solo que é influenciado biológica e bioquimicamente pela raiz

## 4. Interações entre organismos

Os organismos no solo interagem entre si, sendo que essas interações podem ser positivas ou negativas (Figura C.2). A seguir serão apresentadas as principais interações que ocorrem entre organismos no solo. As interações dos organismos do solo com as plantas serão tratadas em unidades posteriores.

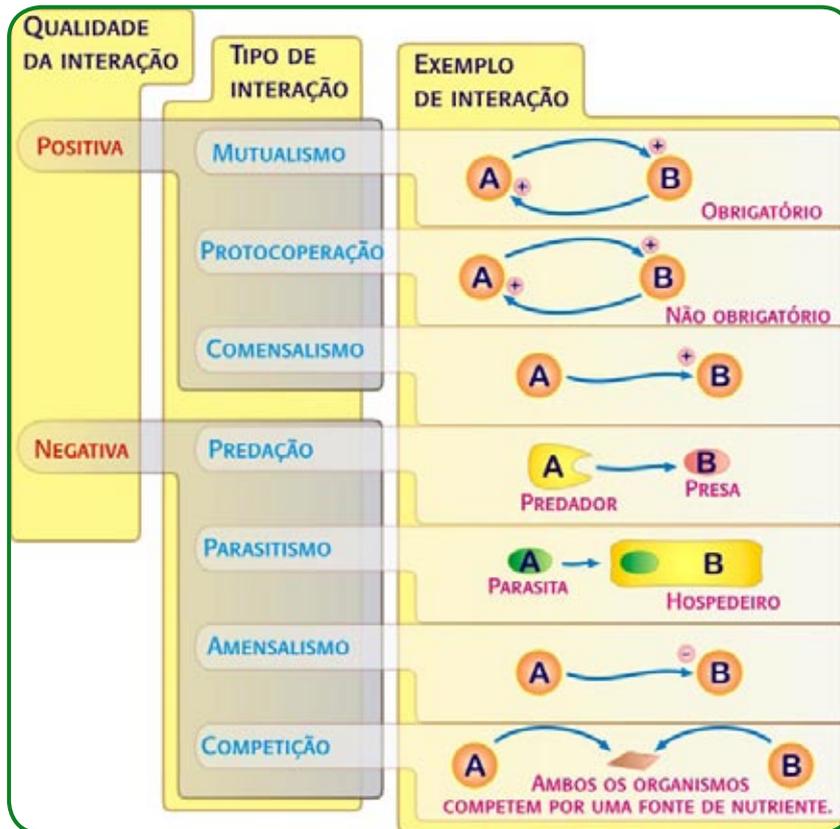


Figura C.2. Interações que ocorrem entre organismos no solo

### 4.1 Interações positivas

#### MUTUALISMO

O mutualismo é uma interação obrigatória que traz benefícios para ambos os organismos. Nessa interação os dois organismos são metabolicamente dependetes entre si. O mutualismo entre os organismos (A e B) tem vantagens ecológicas como fontes estáveis de nutrientes, proteção contra predadores, parasitas e estresses ambientais.

A relação protozoário-térmita é um exemplo clássico de mutualismo onde os protozoários flagelados vivem no intestino de térmitas (cupins). No intestino dos cupins, os protozoários se alimentam de carboidratos, gerados a partir da celulose ingerida pelos cupins. Os protozoários engolfam partículas de madeira (celulose) oxidando a celulose e metabolizando até acetato e outros produtos. Os térmitas utilizam o acetato liberado pelos protozoários.

Uma outra associação mutualística bastante conhecida são os líquens. Os líquens correspondem a estruturas semelhantes a folhas, freqüentemente encontrados sobre rochas, árvores e outras superfícies. Os líquens consistem em um fungo associado a um organismo fototrófico, seja uma alga (eucarioto) ou uma cianobactéria (procarioto). O organismo fototrófico atua como produtor primário, enquanto o fungo fornece um substrato de fixação e confere proteção ao produtor primário.

### **PROTOCOOPERAÇÃO**

Na protocooperação os dois organismos se beneficiam da interação (A e B). Essa associação difere do mutualismo por não ser obrigatória, ou seja, na ausência de interação as duas espécies não são afetadas. Um exemplo dessa interação é a associação entre as bactérias do gênero *Cellulomonas* e *Azotobacter*. A primeira ao se beneficiar do N fixado via FBN pela *Azotobacter* degrada a celulose em compostos mais biodegradáveis que podem ser usados pela *Azotobacter*.

### **COMENSALISMO**

Comensalismo é uma interação em que o organismo A não é afetado interagindo ou não com o organismo B. No entanto na ausência de interação B é prejudicado e quando interage com A é estimulado. Isso ocorre entre as bactérias oxidantes de amônia e as amonificadoras. As amonificadoras ao atacarem compostos ricos em nitrogênio liberam ao solo amônia. A amônia é o substrato que as bactérias oxidantes de amônia (*Nitrossomonas*) utilizam para obter energia. Desta forma, subprodutos do metabolismo de um determinado organismo, podem favorecer o crescimento de outros organismos.

## **4.2 Interações negativas**

### **PREDAÇÃO**

A predação ocorre quando uma espécie (A) captura e mata um indivíduo de outra espécie (B) para alimentar-se. Nematóides e protozoários se alimentam de fungos e bactérias reduzindo o número desses microrganismos no solo.

### **PARASITISMO**

Parasitismo é um das interações microbianas mais complexas, pois é difícil definir os limites entre o que é parasitismo e predação. No parasitismo a espécie A vive à custa da espécie B, a qual é prejudicada. A espécie A pode beneficiar-se de proteção e/ou da aquisição de nutrientes a partir da espécie B. O organismo parasita pode ou não determinar a morte do hospedeiro. Como exemplo pode-se citar o

fungo *Rhizoctonia solani* o qual é parasita dos fungos dos gêneros *Mucor* e *Pythium*.

### COMPETIÇÃO

Competição ocorre quando diferentes organismos (A e B) dentro de uma população ou comunidade utilizam os mesmos recursos para sobreviver. No solo, as populações competem principalmente por substratos de carbono (principalmente glicose), nutrientes, fatores de crescimento, O<sub>2</sub>, água e espaço. A capacidade genotípica e a resposta fenotípica são as principais características dos organismos que afetam sua capacidade de competir eficientemente e sobreviver no ambiente.

### AMENSALISMO

Amensalismo é uma interação negativa onde uma espécie (A) produz e libera substâncias que dificultam o crescimento ou a reprodução de outras (B), podendo até mesmo matá-las. Um exemplo clássico de amensalismo é a produção do antibiótico penicilina pelos fungos do gênero *Penicillium* que produzem, antibiótico que mata bactérias.

## 5. Diversidade de organismos no solo

Em virtude da sua longa história evolutiva e da necessidade de adaptação aos mais distintos ambientes, os organismos do solo, principalmente os microrganismos, acumularam uma impressionante diversidade genética. Essa diversidade genética resulta em inúmeras espécies de organismos com diferentes tipos morfológicos. Em função desse elevado número de espécies nos diferentes grupos de organismos do solo, o estudo da diversidade baseado no conceito de espécie é quase impossível.

Uma estratégia para facilitar a compreensão da diversidade das populações de organismos do solo é classificar os mesmos em grupos funcionais. Tais grupos são formados por organismos que desempenham funções semelhantes em processos biológicos vitais para o ecossistema. Como exemplo de grupos, podemos citar os organismos da fauna do solo relacionados à fragmentação dos resíduos vegetais, os microrganismos decompositores, as bactérias relacionadas ao ciclo do N como, as fixadoras de nitrogênio, as desnitrificadoras e as nitrificadoras.

A diversidade de espécies em um grupo funcional resulta no que se denomina "redundância". Quanto maior a redundância de um grupo, menor é a possibilidade do processo realizado por esse grupo ser paralisado. Isso devido que uma maior redundância significa que a perda e, ou a redução na atividade de uma espécie pode ser com-

pensada pela presença de várias outras com a mesma função no sistema. Por exemplo, durante a degradação de restos vegetais, atuam centenas de espécies de fungos e bactérias com diferentes níveis de especializações. No entanto se ocorrerem perdas de espécies chave em etapas iniciais do processo de degradação da lignina e celulose, por exemplo, pode afetar negativamente o processo de decomposição como um todo.

Assim percebe-se que a diversidade de organismos é essencial para o funcionamento e equilíbrio do ecossistema, porque há a necessidade da manutenção de processos ecológicos como a decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes, agregação do solo e controle de patógenos dentro do ecossistema. Nas unidades dedicadas ao estudo dos ciclos geoquímicos do C, N, P e S conheceremos melhor os diferentes grupos funcionais que atuam ativamente nos ciclos desses elementos.

## **6. Transformações de origem microbiana no solo**

A biomassa microbiana é o componente vivo da matéria orgânica do solo, excluindo-se as raízes, a meso e a macrofauna. A biomassa microbiana contém, proporcionalmente, a menor fração de C e de N orgânico do solo (apenas 1 a 3 % do C e 2 a 6% do N). Ela apresenta rápida ciclagem e responde intensamente às flutuações sazonais de umidade e temperatura, ao cultivo e ao manejo de resíduos orgânicos.

Além de controlar as transformações dos materiais orgânicos adicionados no solo, como por exemplo, resíduos culturais e dejetos de animais, e da própria matéria orgânica no solo, afetando o armazenamento de C, a biomassa constitui um reservatório e também uma fonte de nutrientes para as plantas e de energia aos ecossistemas terrestres. Enquanto a biomassa imobiliza nutrientes nos tecidos microbianos durante a decomposição de materiais orgânicos ela representa um depósito temporário de nutrientes no solo. Por outro lado, durante a fase de renovação da biomassa microbiana, aquela fração dos microrganismos que vai morrendo vai sendo decomposta pelos microrganismos sobreviventes, constituindo uma fonte de nutrientes minerais às plantas.

A atividade metabólica bastante variada dos microrganismos, especialmente das bactérias, regula a ciclagem de energia e de nutrientes no solo. Da atividade microbiana depende o ciclo biogeoquímico do N, P e S, os quais estão ligados ao C em diferentes compostos orgânicos presentes em resíduos de origem animal e vegetal. Somam-se a essas atividades realizadas pelos microrganismos aquelas já apresentadas na unidade C.

## **Bibliografia**

MOREIRA, F.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2ª edição, Editora UFLA, 2006. 623 p.

CARDOSO, E. J. B. N TSAI, S. M.; NEVES, M.C.P. **Microbiologia do solo**. Campinas, SBCS. 1992. 360p.

MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., PARKER, J. Brock : **Microbiologia de Brock**. São Paulo: Prentice-Hall, 2004. 608p.

TORTORA, G.J., FUNKE, B.R., CASE, C.L. **Microbiologia**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 894 p

ANTONIOLLI, Z.I.; MENEZES, J.P. & MELLO, A.H. **Apostila de Biologia do Solo**. Santa Maria: Departamento de Solos. UFSM, 2007. 122p.

## UNIDADE D

### Metabolismo microbiano

#### Introdução

O metabolismo consiste em um conjunto de reações químicas interconectadas de um organismo. Para poder crescer, cada microrganismo necessita de substâncias a partir das quais ele possa obter sua energia através de **reações catabólicas**. Essa energia, normalmente na forma de adenosina trifosfato (ATP), é utilizada para o microrganismo converter nutrientes como carbono, nitrogênio e outros íons inorgânicos em material celular, através de **reações anabólicas** ou de biossíntese. Assim, a sobrevivência e o crescimento de um microrganismo qualquer em um ecossistema particular da natureza dependem, em primeiro lugar, da disponibilidade de fontes de energia e de nutrientes que o mesmo oferece.

A partir de moléculas orgânicas e inorgânicas simples do ambiente, as células das comunidades microbianas do solo produzem novo material celular e se dividem, dando origem a novas células. Açúcares, com destaque para a glicose, são usualmente requeridos como fonte de carbono e energia para essa atividade celular. Um grupo de enzimas intracelulares degrada os polissacarídeos e outras substâncias complexas (polímeros) e os microrganismos que crescem em condições aeróbicas excretam gás carbônico ( $\text{CO}_2$ ). Aqueles microrganismos capazes de crescer anaerobicamente excretam, principalmente, ácidos orgânicos. Esse processo simultâneo de produção (catabolismo) e consumo (anabolismo) de energia para a síntese microbiana é de crucial importância na decomposição de materiais orgânicos no solo, como os restos de culturas e os esterco de animais.

No solo há uma carência de compostos orgânicos (fonte de energia e de nutrientes) a maior parte do ano, mas podem ocorrer períodos repentinos e irregulares de excesso de alimentos, como por exemplo, logo após a colheita dos grãos, quando restos de culturas são deixados no solo. Dessa maneira, os microrganismos vivem sob condições de “banquete” e de “fome”.

A relação entre a concentração de nutrientes e o crescimento dos microrganismos tem sido estudada principalmente em condições de laboratório. As bactérias, por exemplo, quando estão vivendo em um ambiente completamente favorável e que forneça todos os recursos necessários para o crescimento, o número de células ou indivíduos (bactérias são organismos unicelulares) aumenta de forma exponen-

cial, duplicando a população a cada período de tempo definido. Tomando a bactéria *Escherichia coli* como exemplo, a sua população poderá duplicar a cada 20 minutos sob condições ambientais favoráveis.

Embora esse capítulo seja focado mais especificamente no metabolismo microbiano, vale lembrar que em todos os organismos vivos existem grandes similaridades metabólicas o que, conforme destacado no capítulo 1, constitui uma forte evidência da evolução das formas atuais de vida da terra a partir do ancestral universal.

Nesse capítulo, pretende-se analisar as principais reações anabólicas e catabólicas que ocorrem nas células microbianas, com ênfase maior no grupo das bactérias. Isso porque esse grupo de procarióticos apresenta algumas particularidades metabólicas, além de ser responsável por um grande número de biotransformações no solo, com impactos diretos sobre a produtividade das culturas e sobre a qualidade do ambiente.

## Objetivos

Para poder estudar os **diferentes grupos de microrganismos** e melhor compreender a sua ação em processos agrícolas importantes, é preciso entender seus requerimentos nutricionais, bem como as suas capacidades biossintéticas e degradativas. Ao pensar em metabolismo microbiano surgem três questionamentos que devem nortear o conhecimento sobre o assunto:

- 1) O que cada microrganismo necessita para crescer?
- 2) O que cada microrganismo em estudo tem condições de sintetizar e de degradar?
- 3) Qual a influência das condições ambientais sobre o metabolismo microbiano e, em consequência, sobre a dinâmica de nutrientes no solo?

Assim, o principal objetivo desse capítulo é fornecer as bases para que o aluno possa responder a esses questionamentos e, com isso, possa compreender melhor a participação dos organismos do solo, principalmente dos microrganismos, em processos de interesse agrícola como a decomposição de materiais orgânicos no solo (ciclo do carbono), a fixação biológica de nitrogênio e as biotransforma envolvidas nos ciclos do nitrogênio, do fósforo e do enxofre.

## 1. Metabolismo bioenergético

Para melhor compreender o metabolismo, são apresentados na Figura D.1 os principais tipos de moléculas que constituem o corpo das bactérias, as quais são microorganismos procarióticos.

CONTEÚDO MÉDIO EM MACROMOLÉCULAS	
Macromolécula	g/100
Proteínas	55-65
Polissacarídeos	10-20
Lipídeos	5-10
DNA	2-4
RNA	10-20

Figura D.1. Composição química de uma célula bacteriana.

Note que, em média, as proteínas perfazem 60 % da massa celular das bactérias. Isso porque há necessidade de um grande número de enzimas para a célula funcionar e **toda a enzima é uma proteína**.

### COMO AS BACTÉRIAS SINTETIZAM ESTES COMPONENTES A PARTIR DE MATERIAIS SIMPLES COMO A GLICOSE?

É importante enfatizar que as bactérias são organismos tridimensionais. Na representação de um corte de uma bactéria, mostrado na Figura D.2, aparecem os principais constituintes celulares que a bactéria deve sintetizar a partir da glicose para poder crescer.

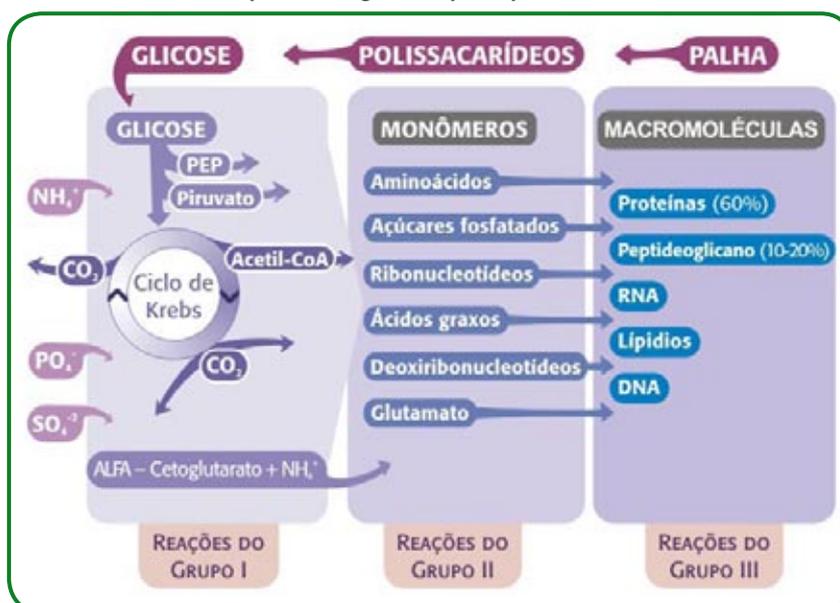


Figura D.2. Diagrama representativo das principais reações que ocorrem na célula durante a degradação da glicose para a biossíntese de macromoléculas.

**Reações do grupo I:** Todo o complexo enzimático da célula decompõe a glicose ou outros substratos em compostos com menor número de carbono. Esse processo, realizado por enzimas chamadas degradativas, é exergônico (liberam energia) e produz esqueletos de carbono para reações de síntese celular (produção de novas células).

**Reações do grupo II:** A partir dos esqueletos de carbono formados pelas reações do grupo I, uma série de enzimas catalisa a formação de moléculas básicas que irão constituir as macromoléculas que formam a célula microbiana.

**Reações do grupo III:** As moléculas básicas, geradas através das reações do grupo II, são convertidas enzimaticamente em macromoléculas. Quando essas macromoléculas forem sintetizadas em quantidade suficiente, ocorre a divisão da célula, gerando outro indivíduo. Bactérias são unicelulares.

Estas reações de biossíntese necessitam de energia para que todas as enzimas que irão sintetizar moléculas básicas, a partir do substrato, possam funcionar. Energia em sistemas biológicos é sinônimo de **ATP**. Várias **enzimas intracelulares** existem nas células, mas as mais diretamente envolvidas na produção de ATP são as oxiredutases.

Dependendo das moléculas disponíveis que os microrganismos irão utilizar no seu metabolismo eles terão que iniciar a degradação dessas moléculas através de outro conjunto de enzimas denominadas de **enzimas extracelulares**, pois algumas moléculas, como amido e celulose, são muito grandes (polímeros) para passar pela membrana celular e entrar no citoplasma da célula. Exemplos importantes de enzimas extracelulares produzidas pelos microrganismos decompositores de materiais orgânicos no solo, como a palha das culturas, são a amilase e a celulase, as quais liberam a glicose (monômero), constituinte dos polímeros amido e celulose, respectivamente.

### **COMO OS RESÍDUOS ORGÂNICOS SÃO DECOMPOSTOS NO SOLO E EM OUTROS AMBIENTES?**

Os resíduos orgânicos deixados no solo após a colheita dos grãos em sistemas agrícolas (raízes e palhada) constituem a fonte de energia, carbono e demais nutrientes para a maioria das populações microbianas do solo. Para que estes microrganismos possam absorver as moléculas orgânicas (principalmente glicose) que estão unidas em polímeros, eles terão que sintetizar enzimas extracelulares para quebrar estes polímeros. Os monômeros resultantes dessa quebra passarão então pela membrana celular. No interior da célula, estas moléculas serão oxidadas (perderão elétrons) e, para isto, é necessária a presença de uma molécula para receber esses elétrons. Para a grande maioria dos microrganismos do solo, esse acceptor de elétrons (agente

oxidante) é o oxigênio. Nesse processo de decomposição dos resíduos culturais, ilustrado na Figura D.3, resulta o ATP.

A facilidade na decomposição dos resíduos orgânicos está diretamente relacionada aos componentes bioquímicos que fazem parte de suas moléculas. As plantas, de acordo com a espécie, diferem em sua constituição e podem apresentar diferentes quantidades de materiais de fácil ou difícil decomposição. Algumas moléculas bioquímicas são mais fáceis de serem atacadas por enzimas microbianas do que outras devido à natureza química que une os carbonos, ou do próprio arranjo dos carbonos nas moléculas.

Além disso, algumas enzimas necessárias para a decomposição estão presentes em um maior número de espécies microbianas, enquanto que outras são fabricadas por somente alguns micróbios. Amido, proteínas e celulose, por exemplo, fazem parte dos vegetais e são moléculas para as quais a grande maioria dos microrganismos possui enzimas que permitem a sua degradação e utilização como fonte de carbono e energia. Já a lignina, outro constituinte comum nos tecidos vegetais, é mais difícil de ser atacada e permanecerá no solo por mais tempo até ser completamente degradada. Durante a decomposição do substrato, alguns microrganismos podem transformar compostos simples em polissacarídeos de difícil decomposição posterior, evidenciando a possibilidade de ocorrer a síntese de moléculas mais complexas do que o próprio substrato inicial.

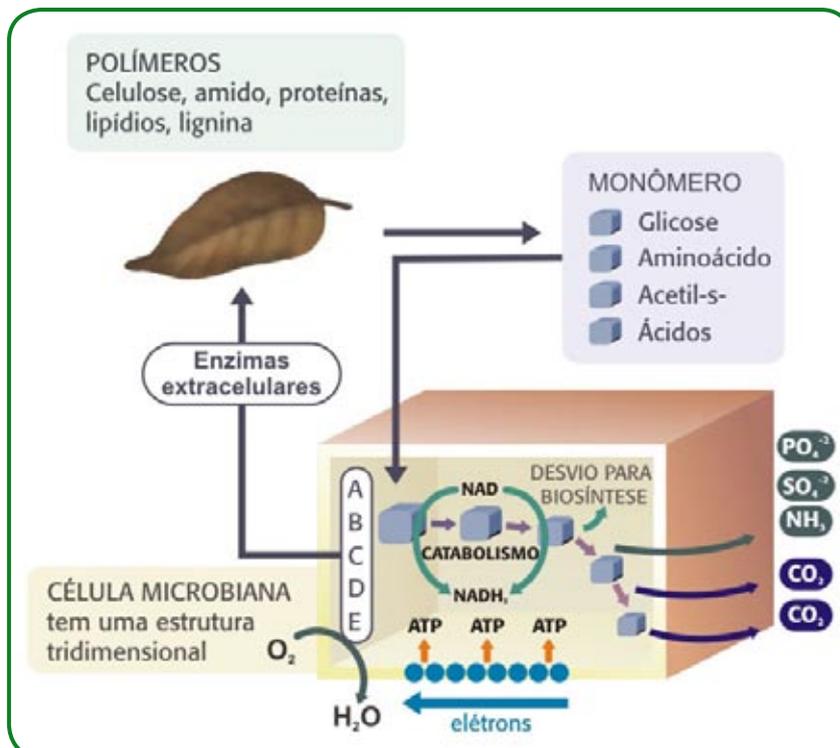


Figura D.3. Esquema da decomposição de palhada por microrganismos do solo

### COMO OS NUTRIENTES ENTRAM NA CÉLULA?

Existem basicamente três mecanismos pelos quais as substâncias orgânicas e inorgânicas entram na célula microbiana para atender as suas necessidades energéticas e biossintéticas:

- **Difusão simples:** Ocorre em função do gradiente de concentração dos solutos entre o interior e o exterior da célula. Ou seja, quando a concentração das substâncias orgânicas ou inorgânicas (solutos) for maior fora do que dentro da célula, a tendência é que estas substâncias entrem na célula através dos poros da membrana celular. Todavia, como a membrana é altamente seletiva, esse mecanismo de entrada de solutos livremente na célula é muito pouco efetivo. Através da difusão simples apenas alguns íons pequenos, a água e alguns gases podem entrar na célula.

- **Difusão facilitada:** Também ocorre a favor de um gradiente de concentração, embora as substâncias não passem livremente pela membrana, mas são carregadas através de carregadores protéicos (proteínas carregadoras denominadas **permeases**). Muitas proteínas carregadoras são específicas para um tipo de molécula, enquanto outras têm afinidade por outra determinada classe química de moléculas. A difusão facilitada é um mecanismo que a célula possui para controlar o fluxo de substâncias entre o ambiente externo e o seu interior.

- **Transporte ativo:** Contrariamente à difusão simples e à difusão facilitada, o transporte ativo de nutrientes ocorre contra o gradiente de concentração, ou seja, quando no interior da célula existem mais nutrientes do que fora dela. Essa é a situação mais comum em que se encontram os microrganismos do solo na maior parte do tempo, exceto logo após a adição ao solo de fertilizantes orgânicos ou minerais. Por isso, o transporte ativo constitui o principal processo de transporte de nutrientes em microrganismos. Pelo fato de ocorrer na direção oposta ao gradiente de concentração de solutos, ocorre gasto de energia (ATP) nesse processo, o qual também envolve permeases.

### PRODUÇÃO DE ENERGIA NA CÉLULA

A produção de energia para microrganismos pode ser considerada como sinônimo de produção de ATP, que é uma molécula orgânica e pode ser considerada como a “**Moeda Energética**” da célula. Isto porque, o ATP é produzido nas reações catabólicas ou na fotossíntese, e é utilizado para a biossíntese de compostos orgânicos (anabolismo) e outras funções vitais na célula. Como exemplo, ATP é requerido no movimento das bactérias e na absorção de nutrientes contra um gradiente de concentração. Pode-se dizer que energia é estocada nesta molécula de ATP (como energia é estocada na bateria de um carro) e a célula utiliza esta energia onde e quando necessitar.

Organismos fototróficos contêm pigmentos que lhes permitem utilizar a luz para produção da energia e assim converter o  $\text{CO}_2$  atmosférico em compostos orgânicos (fotossintatos). Essa capacidade de realizar a fotossíntese existe nos vegetais e também em microrganismos como algas, cianobactérias e algumas bactérias. Esses organismos, denominados de produtores primários, ou os produtos por eles, excretados serão utilizados como alimento aos microrganismos organotróficos (heterotróficos) do solo. Qualquer composto ou molécula orgânica sintetizada através da fotossíntese, como aminoácidos, glicose, ácidos graxos etc, possui energia estocada. Essa energia pode ser liberada quando estes compostos forem degradados pelos organismos do solo, com destaque para a vasta população de microrganismos. Portanto, em sistemas agrícolas, os resíduos vegetais constituem a fonte de nutrientes e de energia à maioria da população de organismos do solo.

Substâncias inorgânicas como amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), gás hidrogênio ( $\text{H}_2$ ) e compostos de enxofre ( $\text{S}^0$  e  $\text{H}_2\text{S}$ ) também têm energia estocada e certas bactérias podem crescer oxidando esses compostos.

A maioria das reações químicas utilizadas pelos microrganismos para retirar energia dos compostos orgânicos ou inorgânicos e estocá-la na molécula de ATP são denominadas reações de **oxidação-redução** ou simplesmente de reações **redox**.

## PROCESSOS METABÓLICOS PRODUTORES DE ATP E DE INTERMEDIÁRIOS À SÍNTESE CELULAR

### Oxidação de compostos orgânicos

Quando são adicionados materiais orgânicos ao solo, como dejetos de animais (ex. suínos, aves e bovinos) e resíduos de colheita das culturas, estão sendo adicionados nutrientes e energia, a qual está armazenada em compostos orgânicos. Essa energia será retirada pela biota do solo (macro e microrganismos) para seu crescimento, sobrevivência e perpetuação das espécies no seu habitat.

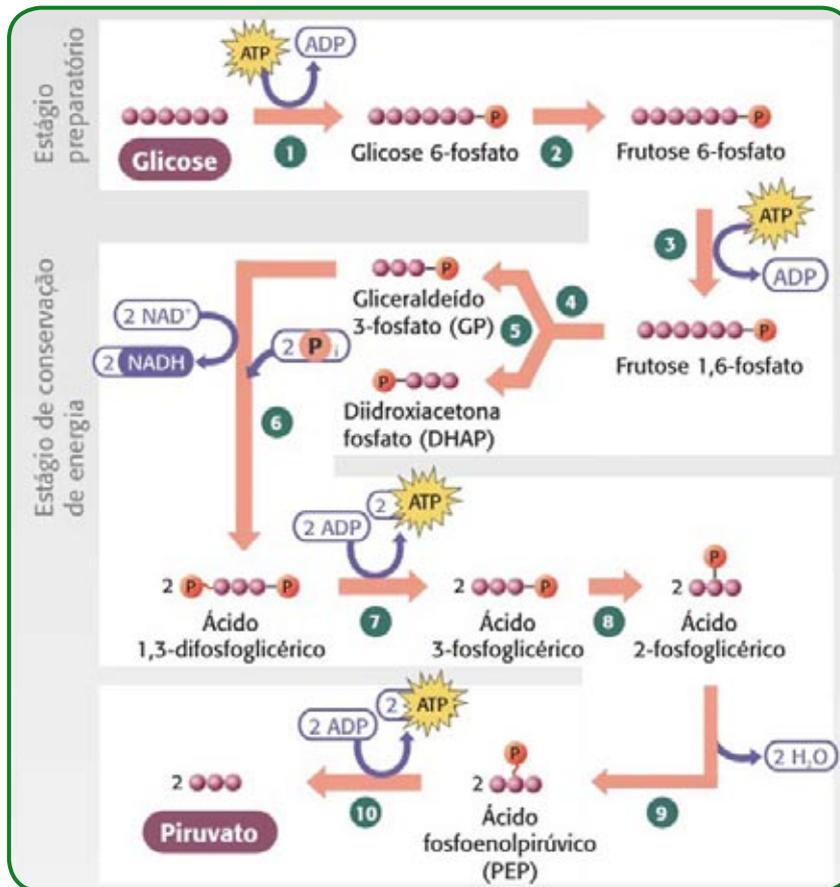
A maioria dos organismos do solo depende da assimilação de compostos orgânicos para satisfazer suas necessidades metabólicas em termos de carbono e, por isso, são denominados de **heterotróficos**. A glicose é um dos principais constituintes presentes nos materiais orgânicos que é utilizada por esses organismos como fonte de carbono e energia. Dependendo das condições ambientais, a glicose poderá ser degradada através de três processos metabólicos: **respiração aeróbica**, **respiração anaeróbica** ou **fermentação**.

Em qualquer um desses processos o composto orgânico (substrato) é transformado através de uma série de intermediários metabólicos. Nestas rotas metabólicas de transformação alguns passos são **exergônicos** (liberam energia) e podem ser acoplados à produção da

molécula energética de ATP. Outros passos nestas rotas metabólicas requerem energia e são denominados bioquimicamente de **endergônicos** (consomem energia), ou seja, a reação não ocorre dentro da célula se esta não colocar energia (ATP) no processo. Fazendo-se um **Balanco Energético** é possível afirmar que sempre no final de uma oxidação ocorre sobra de energia.

#### **Principais rotas metabólicas**

Durante a decomposição de materiais orgânicos pelos organismos do solo a glicose liberada dos polissacarídeos, através da ação das enzimas extracelulares, é transportada via carregadores protéicos e atravessa a membrana celular chegando ao citoplasma. A primeira rota bioquímica da glicose no citoplasma da célula, comum para a maioria dos microrganismos (ou seja, uma rota conservada durante a evolução das diferentes formas de vida) é a **glicólise**, também chamada de rota de **Embden-Meyerhof** em homenagem aos nomes de seus dois descobridores. Essa rota glicolítica, de quebra da glicose, envolve a conversão de uma molécula de glicose em duas de piruvato + duas de ATP e duas de NADH + H<sup>+</sup> (Figura D.4). Na célula, as duas funções principais dessa primeira etapa de transformação da glicose em piruvato (glicólise) são: a retirada de energia (elétrons) da glicose para a sua estocagem na moeda energética da célula (ATP) e a produção de intermediários metabólicos importantes para a síntese de novas células. A glicólise independe da presença de oxigênio. Por isso, tanto em organismos que estão crescendo em condições aeróbicas, quanto naqueles que estão crescendo em anaerobiose (ausência de O<sub>2</sub>), as moléculas intermediárias e os produtos finais da glicólise são os mesmos.



**Figura D.4.** Sequência das reações enzimáticas da glicólise (Via de Embden-Meyerhof).

Note na Figura D.4 que durante a glicólise a molécula da glicose ( $C_6H_{12}O_6$ ) vai sendo transformada em moléculas com menor número de carbonos. Nessa rota metabólica, observa-se ainda que ocorre a produção de ATP (processo denominado de produção de ATP em nível de substrato, já que não envolve transporte de elétrons) e a produção de intermediários metabólicos (ex. glicose 6-fosfato e fosfoenolpiruvato) essenciais para a biossíntese ou seja, para a produção de aminoácidos e outros componentes celulares). Por último, observa-se que parte da energia contida inicialmente na molécula da glicose vai sendo aprisionada na coenzima Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo ( $NADH + H^+$ ) para posterior transferência dessa energia à molécula do ADP e sua conversão em ATP, na cadeia de transporte de elétrons (cadeia respiratória). Esse processo de obtenção de energia ocorre apenas naqueles organismos que desenvolveram a capacidade de realizar respiração.

Oxidação de um substrato envolve a retirada de elétrons ( $e^-$ ) do mesmo. Portanto, retirada de elétrons significa retirada de átomos de Hidrogênio ( $H^+$ ) (desidrogenação) do substrato já que cada átomo de H é constituído de 2 prótons ( $H^+$ ) e 2 elétrons ( $e^-$ ). É preciso que esses elétrons, retirados do substrato, sejam transportados no interior da

célula e esse papel é desempenhado, principalmente, pela coenzima NAD. Pela sua constituição molecular, cada molécula de NAD no estado oxidado ( $\text{NAD}^+$ ) é capaz de transportar dois elétrons ( $e^-$ ) e um próton ( $\text{H}^+$ ), adquirindo a sua forma reduzida ( $\text{NADH} + \text{H}^+$ ). Considerando que a célula necessita constantemente de moléculas de NAD no seu estado oxidado ( $\text{NAD}^+$ ) para retirar energia ( $e^-$ ) do substrato e que a célula possui um número limitado de cópias de  $\text{NAD}^+$ , é necessário que as moléculas de NAD reduzidas ( $\text{NADH} + \text{H}^+$ ) sejam constantemente reoxidadas, entregando seus elétrons a um aceptor terminal desses elétrons. Sem essa reoxidação do NAD cessariam a produção de energia e de intermediários necessários à biossíntese. Ou seja: não haveria crescimento microbiano e, conseqüentemente, não ocorreria a decomposição dos materiais orgânicos no campo como, por exemplo, a palhada das culturas.

A quebra da glicose através da glicólise não é capaz de garantir o fornecimento de todos os intermediários necessários à biossíntese. Por isso, uma parte das moléculas da glicose é convertida em piruvato através de uma rota metabólica auxiliar, denominada de **pentose fosfato**. Essa rota produz o intermediário ribose 5-fosfato, essencial à síntese de DNA e RNA, além do intermediário eritrose 4-fosfato, precursor dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina e triptofano), essenciais à síntese protéica. Portanto, a célula vai satisfazendo suas necessidades energéticas e biossintéticas, combinando diferentes rotas metabólicas durante a decomposição de um substrato.

O piruvato formado nessas rotas iniciais de quebra da glicose (glicólise) é metabolizado na célula, ou seja, continua sendo oxidado. Em condições aeróbicas, o caminho para isso é o **ciclo de Krebs** (Figura D.5), também denominado de ciclo do ácido cítrico.

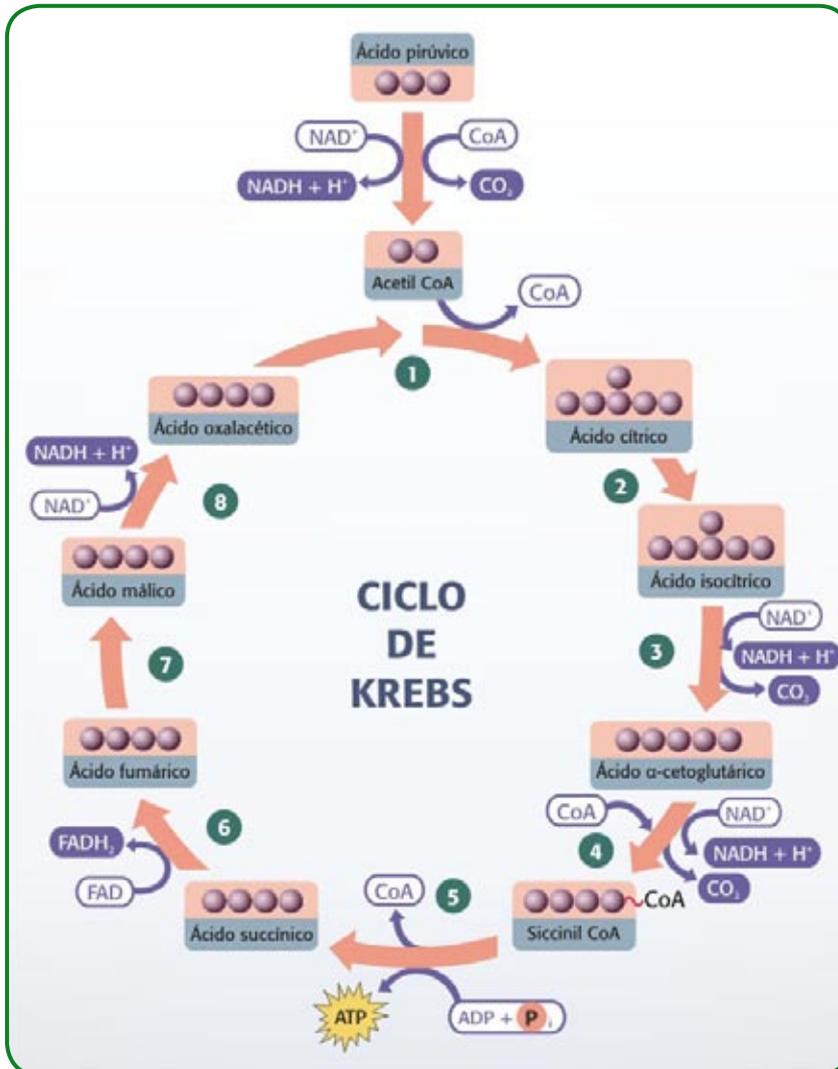


Figura D.5. O ciclo de Krebs.

Na figura Figura D.5 é importante destacar três aspectos principais, relativos às funções do ciclo de Krebs nas células:

a) Ele só ocorre integralmente em organismos capazes de realizar respiração;

b) É a rota metabólica onde ocorre a maior parte da retirada de energia (e<sup>-</sup>) do substrato e o seu aprisionamento em coenzimas (FAD<sup>+</sup> e, principalmente NAD<sup>+</sup>). Note que cada molécula de piruvato, a qual sofre uma descarboxilação (perda de C como CO<sub>2</sub>) antes de entrar no ciclo de Krebs como Acetil-CoA, gera quatro moléculas de NADH + H<sup>+</sup> e uma molécula de FADH<sub>2</sub>. Lembre que na glicólise, cada molécula de glicose gera duas moléculas de piruvato. Portanto, essas duas moléculas de piruvato irão gerar 8 moléculas de NADH + H<sup>+</sup> e duas de FADH<sub>2</sub>, as quais necessitam ser reoxidadas posteriormente para que o metabolismo celular continue;

c) Os intermediários Alfaetoglutarato e Oxaloacetato são utilizados pela célula para a síntese protéica;

d) Ocorre a produção de energia (ATP) em nível de substrato, na passagem de succinil-CoA para succinato. Para cada molécula de glicose oxidada são geradas duas moléculas de ATP (uma para cada molécula de piruvato que entra no Krebs);

e) O ciclo de Krebs é o local de produção de  $\text{CO}_2$  nas células que realizam respiração. A oxidação completa de uma molécula de glicose gera seis moléculas de  $\text{CO}_2$ .

Observando a glicólise (Figura D.4) e o ciclo de Krebs (Figura D.5) percebe-se que uma quantidade muito pequena da energia contida no substrato (glicose) foi armazenada na molécula do ATP e que a maior parte da energia permanece aprisionada nas coenzimas carreadoras de elétrons ( $\text{NADH} + \text{H}^+$  e  $\text{FADH}$ ). Na seqüência do metabolismo, os elétrons, arrancados da glicose durante a sua oxidação e transferidos às coenzimas, são transportados para a cadeia de transporte de elétrons (**Cadeia Respiratória**) onde ocorre a maior parte da produção de ATP na célula daqueles organismos capazes de respirar.

A cadeia de transporte de elétrons (cadeia respiratória), situada na membrana interna das mitocôndrias em organismos eucarióticos e na membrana citoplasmática de procarióticos, é constituída de moléculas (a maioria proteicas) que têm a habilidade de, alternativamente, se reduzir e se oxidar, ou seja, de receber e doar elétrons, respectivamente (Figura D.6). Embora não exista um modelo único de cadeia respiratória, em todas elas o seu princípio de funcionamento é o mesmo: os elétrons vão migrando de compostos mais reduzidos (mais eletronegativos) para compostos mais oxidados (mais eletropositivos) até um aceptor terminal desses elétrons. Cada molécula de  $\text{NADH} + \text{H}^+$  que entrega seus dois elétrons na cadeia respiratória é capaz de gerar até três moléculas de ATP enquanto cada molécula de  $\text{FADH}_2$  pode gerar apenas duas moléculas de ATP. Esse modo de geração de energia (ATP) em que há o transporte de elétrons é denominado de **fosforilação oxidativa** e a teoria mais aceita para explicar o princípio pelo qual a energia é gerada é a teoria **Quimioosmótica**.

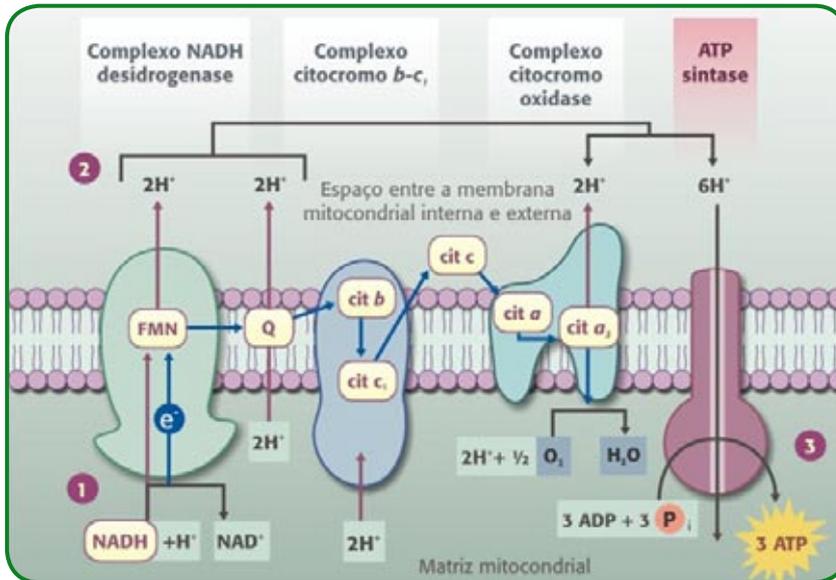


Figura D.6. Cadeia de transporte de elétrons.

Considerando um organismo que utilize a glicose como fonte de carbono e energia e que realize o transporte de elétrons na cadeia respiratória, a soma de moléculas de ATP que podem ser potencialmente geradas pela oxidação completa da glicose até  $\text{CO}_2$  é de 38. Nesse valor estão computadas as moléculas de ATP geradas em nível de substrato da glicólise e do ciclo de Krebs e aquelas geradas por fosforilação oxidativa na cadeia respiratória.

Um aspecto importante a destacar é que todas essas transformações, desde a entrada da glicose na célula até a sua conversão nos produtos finais da respiração ( $\text{CO}_2$  e água) são mediadas por enzimas. Por isso uma célula bacteriana, por exemplo, apresenta um teor tão elevado de proteínas (Figura D.1).

Existem dois processos básicos de produção de energia envolvendo a cadeia de transporte de elétrons: a **respiração aeróbica** e a **respiração anaeróbica**.

### RESPIRAÇÃO AERÓBICA

A **respiração aeróbica** consiste na reoxidação das moléculas reduzidas de NAD ( $\text{NADH} + \text{H}^+$ ) e FAD ( $\text{FADH}_2$ ). Para isso, essas moléculas reduzidas entregam os elétrons à cadeia respiratória e os mesmos são transferidos ao longo da cadeia por carregadores até o aceptor terminal que é o oxigênio ( $\text{O}_2$ ), o qual reage com prótons do citoplasma formando água. Esse processo metabólico, que acontece em ambientes bem aerados, é o de maior rendimento energético (maior produção de ATP) e utilizado pela maioria dos organismos. Entre os microrganismos, todos os eucarióticos que dependem da oxidação de compostos orgânicos para o seu crescimento, como fungos e protozoários, respi-

ram utilizando o  $O_2$  como acceptor terminal de elétrons. Quanto aos procarióticos, a maioria das bactérias também respira utilizando o  $O_2$ , embora muitas também possam respirar em ambientes livres de  $O_2$ , utilizando outros íons (respiração anaeróbica).

Em função do alto rendimento energético da respiração aeróbica, os organismos do solo que utilizam esse processo metabólico para degradar materiais orgânicos apresentam elevada taxa de crescimento e, em consequência, a decomposição do substrato é mais rápida do que em ambientes deficientes em  $O_2$ . Isso ajuda a entender porque a lavração e a gradagem contribuem para diminuir gradativamente o teor de matéria orgânica do solo, em relação a sistemas em que o solo não é mobilizado, como no plantio direto. Com a lavração aumenta a exposição da matéria orgânica ao ataque dos microrganismos, os quais têm o número e a atividade aumentados em função da maior oxigenação do solo proporcionada pela própria lavração.

### RESPIRAÇÃO ANAERÓBICA

A **respiração anaeróbica** também consiste na reoxidação das moléculas reduzidas de NAD ( $NADH+H^+$ ) e FAD ( $FADH_2$ ), sendo que, diferentemente da respiração aeróbica, o acceptor terminal de elétrons da cadeia respiratória não é o  $O_2$ , mas outros íons, como o nitrato ( $NO_3^-$ ) o sulfato ( $SO_4^{2-}$ ) e o ferro férrico ( $Fe^{3+}$ ) os quais são reduzidos para nitrogênio elementar ( $N_2$ ), sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ) e ferro ferroso ( $Fe^{2+}$ ), respectivamente. Outra diferença fundamental, em relação à respiração aeróbica, é que apenas alguns microrganismos (procarióticos) são capazes de respirar utilizando outros íons diferentes do  $O_2$ . Somente **algumas bactérias realizam respiração anaeróbica**. Algumas são capazes de respirar com  $O_2$  e, na sua ausência, utilizam outro íon como, por exemplo, o  $NO_3^-$  (anaeróbicas facultativas) enquanto outras respiram apenas em ambientes desprovidos de  $O_2$  (ex. bactérias redutoras de sulfato).

A respiração anaeróbica tem conseqüências negativas importantes em sistemas agrícolas. Através desse processo bioquímico, o  $NO_3^-$  e o  $SO_4^{2-}$ , os quais são absorvidos pelos vegetais para a síntese de compostos orgânicos (ex. proteínas), são perdidos para a atmosfera como gases, na suas formas reduzidas ( $N_2$  e  $H_2S$ ). Essas transformações microbianas, realizadas por algumas bactérias, serão melhor discutidas posteriormente, nos capítulos relativos aos ciclos biogeoquímicos do nitrogênio e do enxofre.

Além da respiração anaeróbica, outro mecanismo de geração de energia, que ocorre na ausência de  $O_2$ , é a **fermentação**.

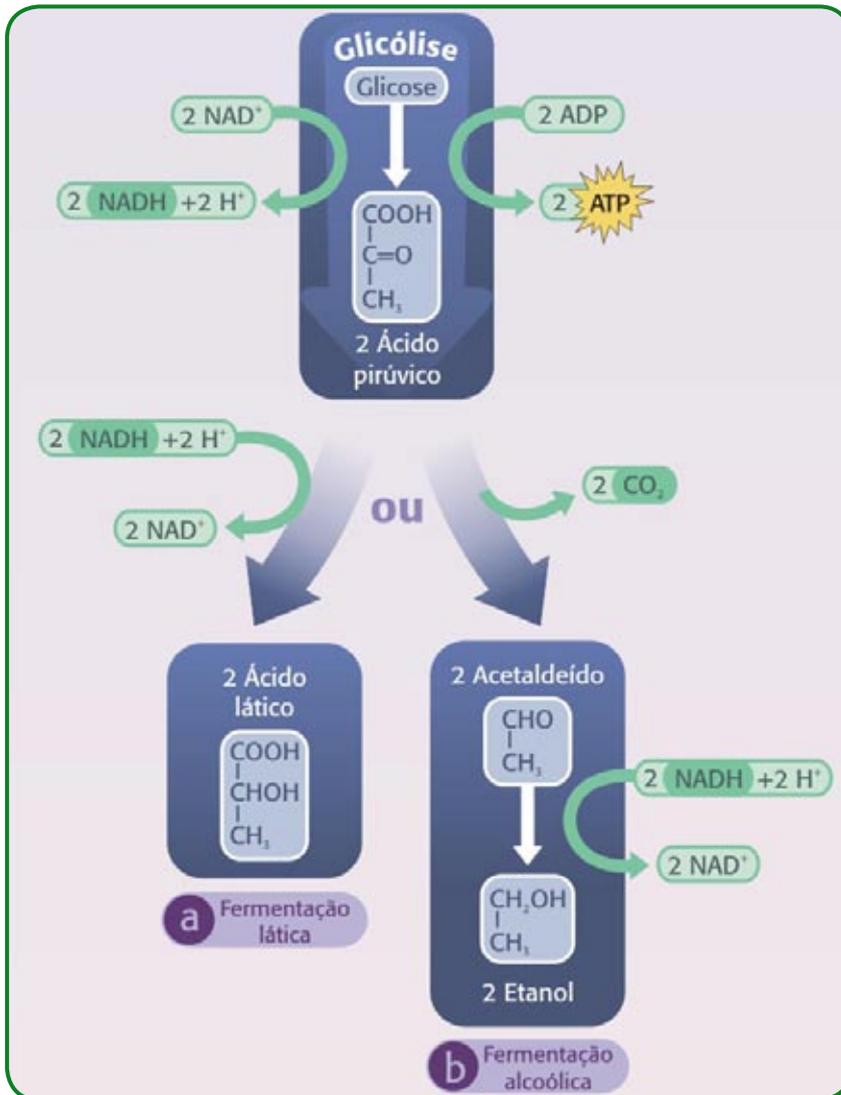
### FERMENTAÇÃO

Fermentação é um tipo de metabolismo energético que não envolve transporte de elétrons em cadeias respiratórias. É um processo

de oxidação incompleta de compostos orgânicos (o substrato mais comum é a glicose) em que a maior parte (cerca de 90%) da energia presente dos mesmos ainda vai estar presente nos produtos finais da fermentação. Na fermentação que, com exceção das bactérias do ácido láctico, ocorre em condições estritamente anaeróbicas, os microrganismos usam o  $\text{NADH} + \text{H}^+$  produzido durante a glicólise, para formar uma variedade de produtos orgânicos finais, sendo que a maioria são ácidos orgânicos. Isso acontece porque a célula necessita transformar as moléculas de  $\text{NADH} + \text{H}^+$  (reduzidas) em moléculas de  $\text{NAD}^+$  (oxidadas). Esta regeneração de moléculas de  $\text{NAD}$  se faz necessária para que mais moléculas de glicose possam ser oxidadas, mais energia produzida, e como consequência os microrganismos possam crescer anaerobicamente. Cabe lembrar que uma célula tem em seu interior certo número de cópias de  $\text{NAD}^+$  e quando todas elas estiverem ocupadas com elétrons o metabolismo cessa.

É importante destacar também que, conforme visto anteriormente, nas respirações, tanto na aeróbica quanto na anaeróbica, a reoxidação das moléculas de  $\text{NADH} + \text{H}^+$  ocorre quando os elétrons são transferidos para moléculas transportadoras de elétrons em cadeias respiratórias, em direção a um acceptor terminal externo e inorgânico. Como nas fermentações não há transferência de elétrons em cadeias respiratórias, essa reoxidação do  $\text{NADH} + \text{H}^+$  ocorre através da utilização de um composto orgânico como acceptor dos elétrons do  $\text{NADH} + \text{H}^+$ . Normalmente é um intermediário da própria rota metabólica utilizada pelo microrganismo. Como exemplo de bactérias fermentadoras pode-se citar as bactérias do ácido láctico, as quais utilizam o piruvato como acceptor de elétrons do  $\text{NADH} + \text{H}^+$  reoxidando-o. Nesse processo, o piruvato é transformado em lactato. A fermentação por bactérias do ácido láctico é de grande utilidade na indústria alimentícia para a produção de fermentados derivados do leite.

Outra característica importante das fermentações é que, dependendo do microrganismo envolvido e da rota metabólica utilizada pelo mesmo, irá variar o produto final. Observa-se na figura D.7 que a fermentação da glicose pode gerar ácido láctico quando fermentada por bactérias do ácido láctico ou etanol e  $\text{CO}_2$  quando fermentada por leveduras. Ainda existem fermentações que geram diversos produtos finais, como exemplo, temos aquela realizada pelas bactérias do gênero *Clostridium* que produzem ácido butírico, butanol, acetona, álcool isopropílico e  $\text{CO}_2$ . Como os produtos finais de fermentação ainda contêm carbono e energia, esse processo conduz a uma oxidação apenas parcial do substrato, contrariamente às respirações onde o substrato é totalmente oxidado.



**Figura D.7.** Exemplos de fermentação. (a) fermentação láctica e (b) fermentação alcoólica.

A fermentação é um processo metabólico amplamente distribuído entre os microrganismos, estando presente tanto em eucarióticos (ex. leveduras) como em procarióticos (bactérias). Diversas bactérias como, por exemplo, aquelas do gênero *Clostridium*, são estritamente anaeróbias, tendo a fermentação como único mecanismo produtor de energia. Existem outras bactérias, como *Escherichia coli*, que podem respirar aerobicamente na presença de  $\text{O}_2$ , respirar anaerobicamente na presença de  $\text{NO}_3^-$  e fermentar na ausência de  $\text{O}_2$  ou  $\text{NO}_3^-$ . As bactérias do ácido láctico (ex, gênero *Lactobacillus*) são os únicos microrganismos que, mesmo na presença de  $\text{O}_2$ , realizam fermentação.

Além da aplicação em processos biológicos industriais, a fermentação também tem grande importância agrícola, especialmente na dinâmica de decomposição de materiais orgânicos. Em ambientes com

baixo suprimento de  $O_2$ , como nas várzeas, observa-se que ocorre um acúmulo de compostos orgânicos (solos escuros) já que nesse ambiente predomina a fermentação que, conforme mencionado anteriormente, resulta na decomposição apenas parcial dos substratos orgânicos. Por outro lado, a drenagem (retirada da água) de uma várzea introduz oxigênio no sistema e o metabolismo passa de fermentativo a respiratório e os produtos finais de fermentação serão utilizados como fonte de carbono e energia pelos microrganismos capazes de respirar, sendo rapidamente oxidados até  $CO_2$ , que é emitido para a atmosfera. Com isso, observa-se um rápido declínio do teor de matéria orgânica do solo das várzeas após a sua drenagem.

Outro processo microbiano conduzido na ausência de  $O_2$  e de grande importância agrícola é a **silagem**. Nesse processo fermentativo, realizado por bactérias, busca-se transformar compostos orgânicos de plantas (ex. milho) em produtos finais de fermentação, principalmente o ácido láctico. A energia do substrato, estocada nesses produtos finais da fermentação, é fornecida como alimento aos animais.

#### OXIDAÇÃO DE COMPOSTOS INORGÂNICOS

Embora a maioria dos organismos produza energia a partir da oxidação de compostos orgânicos (que contém carbono ligado a hidrogênio) alguns microrganismos são capazes de produzir ATP oxidando compostos inorgânicos. Conforme mencionado na unidade A, essa habilidade fisiológica é exclusiva de algumas bactérias. Algumas dessas transformações têm grande importância agrícola, pois afetam significativamente a dinâmica de alguns nutrientes no solo, com destaque para o nitrogênio (N) e o enxofre (S).

Com relação ao N, as principais formas do nutriente que servem de energia para algumas bactérias são a amônia ( $NH_3$ ), a qual é oxidada a nitrito ( $NO_2^-$ ), principalmente por bactérias do gênero *Nitrosomonas*. O nitrito, por sua vez, pode servir como fonte de energia a outro grupo de bactérias, principalmente do gênero *Nitrobacter*, sendo oxidado a nitrato ( $NO_3^-$ ). Essa oxidação bacteriana da amônia até nitrato é denominada de **nitrificação**, a qual será apresentada e discutida posteriormente a unidade relativa ao ciclo do N.

Quanto ao S, diversas formas do elemento podem servir como fonte de energia às bactérias oxidantes deste. O enxofre elementar ( $S^0$ ), o sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ) e o tiosulfato ( $S_2O_3^{2-}$ ) podem ser oxidados, com reflexos importantes no ciclo do S, tanto do ponto de vista agrícola quanto ambiental. Uma particularidade a destacar nessas bactérias, cujos principais gêneros são *Thiobacillus* e *Beggiatoa*, é que a sua ação está restrita a ambientes aeróbicos, em que o  $O_2$  atua com aceptor terminal de elétrons na cadeia respiratória das mesmas. Essas transformações serão discutidas mais detalhadamente na unidade referente ao ciclo do enxofre.

Um aspecto importante que diferencia o metabolismo bioenergético dos organismos que oxidam compostos orgânicos daquele dos microrganismos oxidantes de compostos inorgânicos refere-se à fonte de carbono utilizada para a síntese celular. Enquanto no primeiro grupo (heterotróficos) os compostos orgânicos utilizados servem como fonte de energia e também de carbono, no segundo grupo a oxidação dos compostos inorgânicos atende apenas à demanda energética da célula, pois eles não contêm carbono em suas moléculas. Nesse grupo de microrganismos, onde se encontram as bactérias nitrificadoras e as oxidantes de S, o carbono necessário à biossíntese é obtido através da fixação do CO<sub>2</sub> atmosférico. Por isso, os microrganismos desse segundo grupo são denominados de **autotróficos**.

Além da produção de ATP através da oxidação de compostos orgânicos, pela respiração (aeróbica e anaeróbica) e fermentação, ou pela oxidação de compostos inorgânicos, outra possibilidade de obtenção de energia é a luz solar. Nesse caso, apenas os microrganismos possuidores de clorofila e do aparato necessário para converter energia solar em energia química poderão crescer, através do processo denominado **fotossíntese**.

### **FOTOSSÍNTESE MICROBIANA**

A fotossíntese constitui o principal processo biológico da natureza e consiste na fixação do gás carbônico (CO<sub>2</sub>) atmosférico, convertendo-o em compostos orgânicos e na confersão de energia luminosa (luz solar) em energia química (ATP). Não apenas os vegetais, mas também diversos grupos de microrganismos providos de clorofila são capazes de realizar esse processo, o qual é fundamental para o ciclo do carbono e da própria vida na terra.

Nos microrganismos, a fotossíntese encontra-se distribuída entre o grupo das algas, como organismos eucarióticos, e das cianobactérias e bactérias, como organismos procarióticos. A fotossíntese realizada por algas e cianobactérias é semelhante àquela dos vegetais em que existem dois fotossistemas, o doador de elétrons é a água e, por isso, ocorre a produção de O<sub>2</sub>.

Quanto às bactérias, elas realizam um tipo especial de fotossíntese, com apenas um fotossistema e com um doador de elétrons diferente da água, normalmente o H<sub>2</sub>S ou uma substância orgânica. Portanto nesse processo, que ocorre principalmente em ambientes anaeróbicos e ricos em H<sub>2</sub>S, não há produção de O<sub>2</sub> e, por isso, é denominado de **fotossíntese anoxigênica**.

**Em resumo:** Independentemente do metabolismo bioenergético realizado pelos organismos (respiração aeróbica, respiração anaeróbica, fermentação ou fotossíntese) **três condições** devem ser obrigatoriamente atendidas para que ocorra na célula a **produção de energia** (ATP), a qual é imprescindível à biossíntese:

1) Existência de uma fonte de energia (elétrons): energia do sol para os organismos fotossintéticos, energia contida em compostos orgânicos para os heterotróficos e de compostos inorgânicos para os autotróficos;

2) Os elétrons que irão gerar energia não podem circular livremente no interior da célula. Portanto, é necessário que existam transportadores (carreadores) desses elétrons. O principal transportador de elétrons é a coenzima NAD embora, FAD e NADP também realizem essa função, dependendo do processo metabólico;

3) Para que a energia dos substratos, sejam eles orgânicos ou inorgânicos, possa ser extraída e convertida em ATP é necessário que existam na célula moléculas de transportadores de elétrons no seu estado oxidado ( $\text{NAD}^+$ ,  $\text{FAD}^+$  e  $\text{NADP}^+$ ). Por isso, é preciso que essas moléculas sejam reoxidadas entregando seus elétrons a aceptores terminais. Nos microrganismos que respiram aerobicamente essa função é desempenhada pelo  $\text{O}_2$  e naqueles que respiram anaerobicamente (apenas algumas bactérias) por outros íons como  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  e  $\text{Fe}^{3+}$ . Nas fermentações, onde não existe cadeia respiratória, o aceptor de elétrons, responsável pela reoxidação das coenzimas, é um composto orgânico intermediário da própria rota metabólica, o qual é, normalmente, reduzido a ácido orgânico.

A energia gerada pelos microrganismos através desses diferentes mecanismos ou processos metabólicos é utilizada para converter intermediários do metabolismo e nutrientes do meio em material celular. Por isso, para que o crescimento microbiano ocorra, é necessária uma fonte de energia, além de todos os nutrientes necessários à síntese celular.

### **FONTES DE NUTRIENTES À NUTRIÇÃO MICROBIANA**

As células dos microrganismos são constituídas principalmente de água e de macromoléculas e estas de moléculas menores chamadas de monômeros. Portanto, a nutrição microbiana pode ser definida como um mecanismo que fornece às células as ferramentas químicas necessárias à síntese dos diversos monômeros. Tais ferramentas químicas são os **nutrientes**.

Nem todos os nutrientes são necessários nas mesmas quantidades. Aqueles exigidos em grandes quantidades são denominados de macronutrientes (C, N, P, K, S, Mg, Ca e S). Em contrapartida, outros

nutrientes são exigidos em menores quantidades e, por isso, são denominados de micronutrientes ou elementos traços.

Os microrganismos variam quanto as suas exigências em macro e micronutrientes bem como quanto a sua capacidade de utilizar diferentes tipos de substratos.

**Carbono e nitrogênio:** A maioria dos microrganismos do solo requer um composto orgânico como fonte de carbono (C) e, por isso, são denominados de **heterotróficos**. As bactérias podem assimilar diversos compostos orgânicos, de complexidade diversa, como fonte de carbono para a síntese celular. Aminoácidos, ácidos graxos, ácidos orgânicos, açúcares, bases nitrogenadas, compostos aromáticos e inúmeros outros compostos orgânicos podem ser utilizados por uma ou outra espécie de bactéria.

Alguns procarióticos são autotróficos, ou seja, capazes de sintetizar todas as suas estruturas orgânicas a partir do dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), obtendo a energia para isso a partir da luz (fotossíntese) ou da oxidação de compostos inorgânicos.

Em termos de peso seco, o teor de carbono de uma célula microbiana situa-se ao redor de 50% fazendo dele o principal elemento constituinte de todas as classes de macromoléculas que compõem a célula.

Após o carbono, o elemento mais abundante nas células é o nitrogênio (N), um importante constituinte de proteínas, ácidos nucleicos e diversos outros compostos celulares. Cerca de 12% do peso seco de células bacterianas corresponde ao nitrogênio. O nitrogênio encontra-se na natureza tanto na forma orgânica quanto, na forma de compostos inorgânicos, como amônia ( $\text{NH}_3$ ), nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) ou nitrogênio elementar ( $\text{N}_2$ ). Embora a maioria das bactérias possa assimilar nitrato, elas preferem o N na forma amoniacal. Quanto ao  $\text{N}_2$  gasoso ele pode ser usado como fonte de N apenas por certas bactérias, as fixadoras de nitrogênio, cujas características e propriedades serão apresentadas na unidade relativa ao ciclo do nitrogênio.

#### **OUTROS MACRONUTRIENTES: P, S, K, Mg e Ca**

O **fósforo** (P) é encontrado no solo na forma orgânica ou inorgânica, sendo essencial à célula microbiana para a síntese de ácidos nucleicos (DNA e RNA) e fosfolipídeos (constituintes da membrana celular). Além disso, P é necessário à síntese de ATP nas reações catabólicas do metabolismo microbiano.

O **enxofre** (S) é necessário pelo fato de fazer parte da estrutura dos aminoácidos cisteína e metionina, além de estar presente em diversas vitaminas e na coenzima A. A maior parte do enxofre celular provém de fontes inorgânicas como o sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) e o sulfeto ( $\text{H}_2\text{S}$ ).

O **potássio** (K) é requerido por todos os organismos já que diversas enzimas celulares requerem potássio. O **magnésio** (Mg) também é requerido por muitas enzimas, além de ter importante papel na estabilização de ribossomos, membranas celulares e ácidos nucleicos. O **cálcio** (Ca) não é um nutriente essencial a todos os microrganismos. Naqueles que o necessitam ele participa da estabilização da parede celular e desempenha papel-chave na termoestabilidade dos endósporos bacterianos.

Na Figura D.8 aparecem os principais nutrientes e a forma em que eles são usualmente encontrados na natureza.

Elemento	Forma encontrada na natureza	Forma química fornecida
<b>Carbono (C)</b>	CO <sub>2</sub> , compostos orgânicos	Glicose, malato, acetato, piruvato, aminoácidos, centenas de outros compostos ou misturas complexas (extrato de levedura, peptona e assim por diante)
<b>Hidrogênio (H)</b>	H <sub>2</sub> O, compostos orgânicos	H <sub>2</sub> O, compostos orgânicos
<b>Oxigênio (O)</b>	H <sub>2</sub> O, O <sub>2</sub> , compostos orgânicos	H <sub>2</sub> O, O <sub>2</sub> , compostos orgânicos
<b>Nitrogênio (N)</b>	NH <sub>3</sub> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , N <sub>2</sub> , compostos orgânicos nitrogenados	Inorgânica: NH <sub>4</sub> Cl, (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , KNO <sub>3</sub> , N <sub>2</sub> . Orgânica: aminoácidos, bases nitrogenadas dos nucleotídeos, muitos outros compostos orgânicos que contêm N
<b>Fósforo (P)</b>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
<b>Enxofre (S)</b>	compostos orgânicos sulfurados, sulfetos metálicos (FeS, CuS, ZnS, NiS etc.)	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , Na <sub>2</sub> S, cisteína, outros compostos orgânicos sulfurados
<b>Potássio (K)</b>	K <sup>+</sup> em solução ou em vários sais de K	KCl, KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
<b>Magnésio (Mg)</b>	Mg <sup>++</sup> em solução ou em vários sais de Mg	MgCl <sub>2</sub> , MgSO <sub>4</sub>
<b>Sódio (Na)</b>	Na <sup>+</sup> em solução, como NaCl, ou outros sais de Na	NaCl
<b>Cálcio (Ca)</b>	Ca <sub>2</sub> <sup>+</sup> em solução, como CaSO <sub>4</sub> , ou outros sais de Ca	CaCl <sub>2</sub>
<b>Ferro (Fe)</b>	Fe <sup>2+</sup> ou Fe <sup>3+</sup> em solução, como FeS, Fe(OH) <sub>3</sub> , ou muitos outros sais de Fe	FeCl <sub>3</sub> , FeSO <sub>4</sub> , várias soluções com ferro quelado (Fe <sup>3+</sup> EDTA, citrato de Fe <sup>3+</sup> )

**Figura D.8** Nutrientes encontrados na natureza.

### MICRONUTRIENTES (ELEMENTOS TRAÇOS)

Embora exigidos em pequeníssimas quantidades, os micronutrientes são tão importantes às funções celulares quanto os macronutrientes. Os micronutrientes correspondem aos metais sendo que muitos deles fazem parte da estrutura de várias enzimas. Os principais micronutrientes encontrados nos organismos são: cobalto (Co), cobre (Cu), manganês (Mn), molibdênio (Mo), níquel (Ni), zinco (Zn) e ferro (Fe).

### FATORES DE CRESCIMENTO

Fatores de crescimento são definidos como compostos orgânicos que **alguns microrganismos** não conseguem sintetizar a partir dos nutrientes do meio e, por isso, esses compostos, pré-formados, precisam ser fornecidos. Normalmente, são necessários em pequenas quantidades e incluem vitaminas, aminoácidos, purinas e pirimidinas. As vitaminas correspondem ao fator de crescimento mais comumente requerido e atuam, principalmente, como parte de coenzimas.

No solo, normalmente, os fatores de crescimento disponíveis aos principais grupos microbianos não limitam o seu desenvolvimento já que a oferta de materiais orgânicos provenientes, principalmente, dos resíduos culturais adicionados ao solo é extremamente diversa.

### ENZIMAS

Tanto as reações envolvidas na produção de energia quanto aquelas envolvidas na utilização dessa energia para a conversão de nutrientes em material celular são realizadas por enzimas. As enzimas são catalisadores protéicos que aumentam a velocidade das reações em  $10^8$  a  $10^{20}$  vezes. Uma reação que levaria 1 minuto, quando mediada por enzima, levaria 300 anos sem a ação enzimática. Na ausência de enzimas a velocidade das reações bioquímicas seria tão lenta que não atenderia a demanda bioenergética das células.

As enzimas são altamente específicas em relação às reações que catalisam. Isto é, cada enzima catalisa apenas um único tipo de reação química ou, no caso de certas enzimas, uma classe de reações intimamente relacionadas.

Em uma reação catalisada por uma enzima, esta se combina temporariamente com o reagente, denominado **substrato**, formando um **complexo enzima-substrato**. Assim, com o progresso da reação, o produto é liberado e a enzima retorna ao seu estado original para reagir com mais substrato. A pequena porção da enzima à qual o substrato se liga é denominada **sítio ativo** da enzima.

Em função das demandas energéticas e biossintéticas dos microrganismos a ação enzimática dos mesmos é extremamente dinâmica.

Conseqüentemente as células devem apresentar mecanismos de regulação da expressão gênica que atuam em resposta às alterações das condições de crescimento. Existem dois mecanismos básicos de regulação em uma célula. Um destes controla a atividade de uma enzima pré-existente, enquanto o outro controla a quantidade sintetizada de determinada enzima.

### RESUMINDO O METABOLISMO MICROBIANO

Todas as células necessitam de energia, carbono e demais nutrientes. A **energia** pode ser obtida de três maneiras, conforme sumarizado na figura D.9, a partir de compostos químicos **orgânicos**, de compostos químicos **inorgânicos** ou da **energia luminosa**.

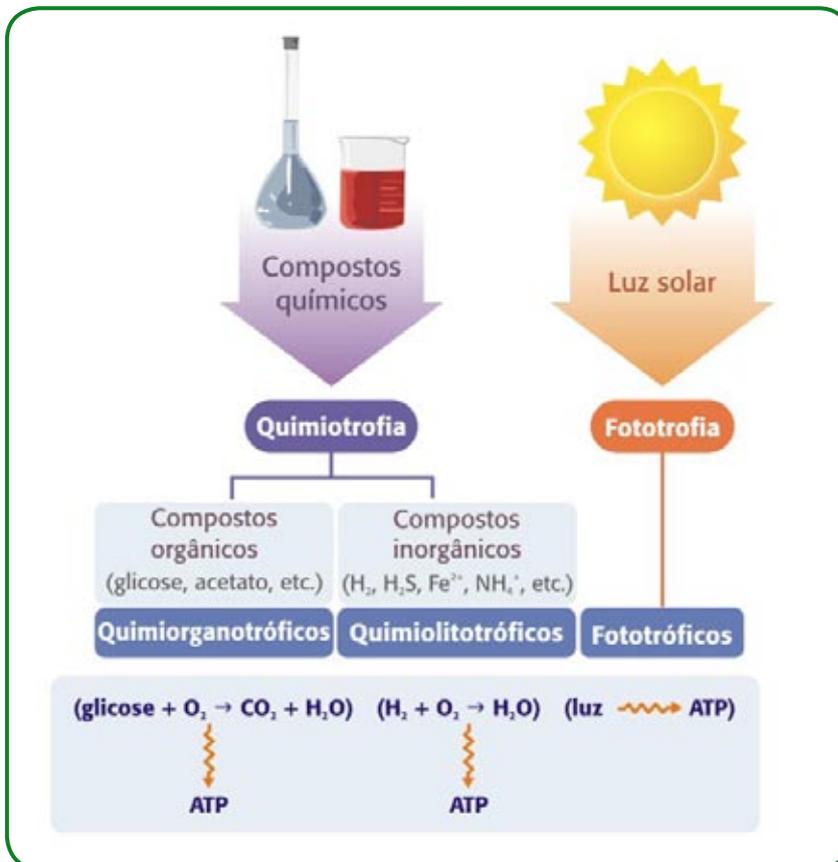


Figura D.9 Opções metabólicas para a produção de energia.

A grande maioria dos compostos químicos presentes no solo podem ser utilizados por um ou outro microrganismo na obtenção de energia. Todos os compostos orgânicos naturais e a maioria dos sintéticos podem ser degradados por um ou mais microrganismos.

A energia é obtida a partir da oxidação (remoção de elétrons) do composto, sendo conservada na célula na forma de adenosina trifosfato (ATP), um composto rico em energia (Figura D.9). Alguns microrganismos podem obter sua energia a partir de compostos, somente na

presença de oxigênio; estes são denominados aeróbios. Outros extraem a energia apenas na ausência de oxigênio (anaeróbios). Há, ainda, microrganismos que podem metabolizar compostos tanto na presença quanto na ausência de oxigênio. Quando na ausência de oxigênio e na presença de outros aceptores terminais de elétrons podem realizar respiração anaeróbia e quando na ausência de qualquer acceptor externo de elétrons realizam fermentação. Os organismos capazes de obter energia a partir de compostos orgânicos são denominados quimiorganotróficos (Figura D.9). Nessa categoria nutricional encontra-se a maioria da população de microrganismos do solo.

Diversas espécies de bactérias são capazes de extrair a energia armazenada em compostos inorgânicos. Esse tipo de metabolismo é denominado quimiolitotrofia, realizado por organismos quimiolitotróficos (Figura D.9). O espectro de diferentes compostos químicos inorgânicos utilizados é bastante amplo, mas, via de regra, uma determinada bactéria é especializada na utilização de um composto ou de um grupo relacionado de compostos inorgânicos.

Microrganismos fototróficos são aqueles que contêm pigmentos que lhes permitem utilizar a luz como fonte de energia. Diferentemente dos organismos quimiotróficos (energia extraída de compostos orgânicos), os fototróficos não necessitam de compostos químicos como fontes de energia; o ATP é sintetizado à custa da energia solar. Tal propriedade obviamente é vantajosa, pois não há qualquer tipo de competição pela energia com os organismos quimiotróficos e também porque a luz encontra-se disponível em uma variedade de habitats microbianos.

Quanto ao carbono ele é um dos principais nutrientes exigido por todas as células. As células microbianas podem ser heterotróficas, quando requerem um ou mais compostos orgânicos como fonte de carbono, ou autotróficas, quando o  $\text{CO}_2$  corresponde à fonte de carbono. Os organismos quimiorganotróficos são sempre heterotróficos. Em contrapartida, muitos quimiolitotróficos e, virtualmente, todos os fototróficos são autotróficos. Os organismos autotróficos são também denominados produtores primários, pois sintetizam matéria orgânica a partir de  $\text{CO}_2$ , beneficiando a si mesmos e aos quimiorganotróficos. Os últimos alimentam-se diretamente dos produtores primários ou de seus produtos de excreção.

## **Bibliografia**

MOREIRA, F.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2ª edição, Editora UFLA, 2006. 623 p.

CARDOSO, E. J. B. N TSAI, S. M.; NEVES, M.C.P. **Microbiologia do solo**. Campinas, SBCS. 1992. 360p.

MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., PARKER, J. Brock : **Microbiologia de Brock**. São Paulo: Prentice-Hall, 2004. 608p.

TORTORA, G.J., FUNKE, B.R., CASE, C.L. **Microbiologia**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 894 p

## UNIDADE E

### Crescimento microbiano

#### Introdução

Em microbiologia, o termo crescimento é definido como um aumento no número de células. Por isso, a manutenção das diferentes espécies de microrganismos em um ambiente depende do crescimento contínuo das populações microbianas. Considerando que, no solo, diversos processos de interesse agrônomo e ambiental dependem dos microrganismos e de sua atividade, é de grande importância o conhecimento de como os diferentes fatores afetam a taxa de crescimento microbiano. Nesse capítulo, serão discutidos o modo de crescimento das bactérias, as fases de crescimento de uma população bacteriana e os principais fatores que afetam o crescimento dos microrganismos em geral.

#### Objetivos

Pretende-se que, através dessa Unidade, o aluno conheça os efeitos dos fatores abióticos (temperatura, umidade, nível de  $O_2$ , pH e disponibilidade de nutrientes) sobre os microrganismos e, com isso, possa melhor relacionar o efeito de práticas agrícolas como, por exemplo, calagem, adubação orgânica, sistemas de preparo do solo (plantio direto, cultivo mínimo e convencional) e alagamento, sobre processos de natureza microbiana como decomposição dos resíduos culturais, ciclagem de nutrientes e fixação biológica de nitrogênio (FBN).

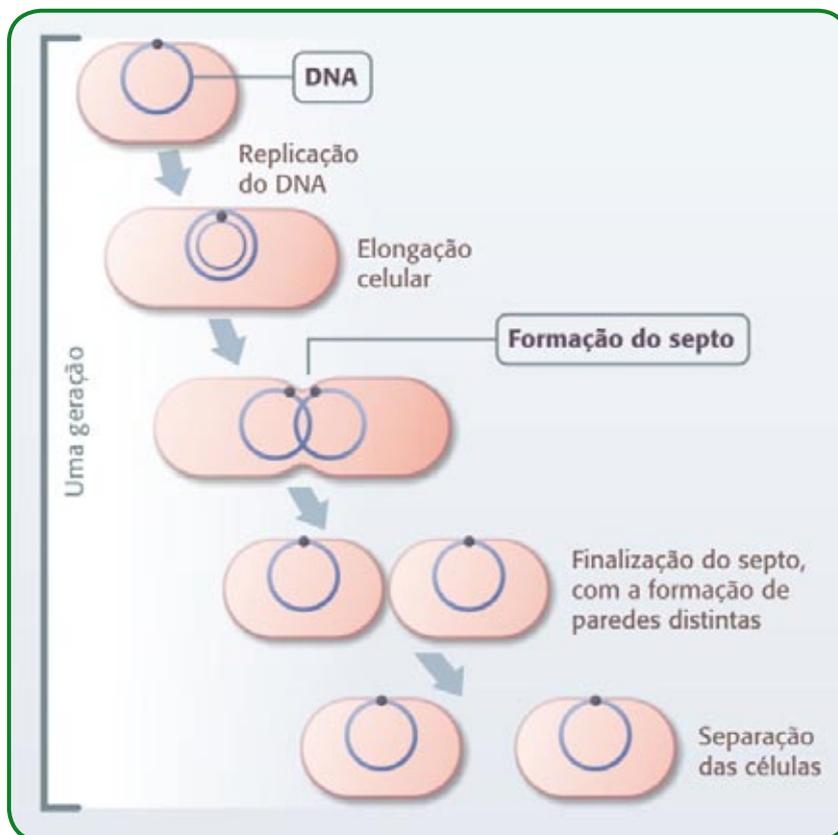
## 1. Crescimento celular bacteriano

Por apresentarem um modelo particular de crescimento, será dada ênfase especial, nessa unidade, ao crescimento das bactérias. Como cada célula bacteriana é um indivíduo, o crescimento em bactérias é traduzido pelo aumento do número de células e a medida desse crescimento pode ser feita através de métodos que quantifiquem a variação do número ou da biomassa bacteriana.

Cada célula bacteriana, quando em fase de crescimento, passa por quatro fases distintas:

- a. Inicialmente, a célula aumenta de tamanho e realiza a replicação do seu material genético (DNA);
- b. A parede e a membrana citoplasmática da célula mãe começam a avançar no sentido do interior da célula para formar um septo e circundar o material genético replicado;
- c. O septo é finalizado, com a formação de paredes distintas;
- d. Separação das duas células

Essas quatro fases da duplicação de uma bactéria em crescimento são ilustradas na Figura E.1.



**Figura E.1.** Esquema do processo da fissão binária em um bacilo. Para simplificar, o nucleóide é ilustrado como um círculo azul.

Esse modo de crescimento das bactérias, em que uma célula origina duas células idênticas, é denominado de **fissão binária**.

### 1.1 Fases do crescimento de uma cultura bacteriana

**Fase LAG:** Nessa fase, em que o número de bactérias não aumenta, ocorre uma adaptação das bactérias ao meio e às condições de crescimento (figura E.2). Embora o número de indivíduos não aumente na fase lag ela caracteriza-se por intensa atividade metabólica relativa à síntese de substâncias, principalmente enzimas, necessárias à utilização do substrato disponível. Uma fase lag é quase sempre observada quando se inocula um ambiente novo com células provenientes de uma cultura bacteriana velha. Mesmo que todos os organismos transferidos sejam viáveis, eles podem estar tão destituídos de enzimas ou de intermediários metabólicos que o crescimento só pode ocorrer quando concentrações ótimas destas substâncias e enzimas internas tenham sido sintetizadas pela célula bacteriana. Células em crescimento exponencial também podem apresentar uma demora no crescimento ao serem transferidas para um meio novo, se este diferir em composição, daquele em que cresciam anteriormente. Essa demora resulta do fato de que as **enzimas induzidas** precisam ser formadas pelas células antes que algum crescimento possa ter lugar nesse novo ambiente.

No solo, quando adicionamos palha (resíduos culturais) teremos uma fase *lag* das bactérias até que as enzimas e demais moléculas necessárias para a decomposição da palha sejam sintetizadas.

**Fase Exponencial ou Logarítmica:** Quando uma taxa constante de crescimento é atingida, diz-se que a cultura bacteriana está na fase exponencial ou logarítmica de crescimento (figura E.2). A taxa de crescimento durante esta fase é característica para cada organismo naquelas condições particulares de cultivo e representa o potencial reprodutivo máximo desse organismo naquele ambiente específico. Todas as células produzidas durante o crescimento exponencial são viáveis. Portanto, durante toda essa fase, os aumentos na contagem total de células das culturas ocorrem segundo uma progressão geométrica ou logarítmica.

A fase de crescimento exponencial é aquela em que o substrato é rapidamente transformado pelas bactérias. Todavia, quando o número de bactérias é excessivamente elevado alguns nutrientes são totalmente consumidos, produtos metabólicos tóxicos podem se acumular, o nível de O<sub>2</sub> pode se tornar deficiente ou o valor do pH pode se tornar desfavorável. Como resultado, desses fatores adversos o ambiente se torna menos favorável e a taxa de crescimento bacteriano decai e, eventualmente, cessa. A cultura atinge então a **fase estacionária**.

**Fase Estacionária:** Nesta fase, a contagem de células viáveis permanece constante em seu valor máximo (figura E.2). Para os microrganismos muito suscetíveis a um ambiente desfavorável, a fase estacionária é breve, rapidamente seguida pela fase de morte das células, com conseqüente redução na contagem de células viáveis. Na maioria dos casos, porém, a cultura permanece na fase estacionária durante horas, ou mesmo dias, antes que a morte das células se torne perceptível. Algumas bactérias formam estruturas resistentes (endósporos). Todavia, como a maioria das bactérias não produz endósporos, o mais normal de acontecer é a redução na taxa metabólica de cada célula. Logo após a exaustão dos nutrientes, no meio em que as bactérias estão crescendo, algumas espécies podem se alimentar de substâncias de reserva, denominados de corpos de inclusão ou de estocagem (PHB e grânulos de polifosfato e de enxofre) armazenadas durante a fase de crescimento exponencial.

Outra fonte de energia que as bactérias podem utilizar no início da fase estacionária, são as enzimas internas que não têm mais uso (as enzimas são proteínas e proteínas também são uma excelente fonte de energia para os microrganismos), além das cópias desnecessárias de RNA. A fase estacionária é um fenômeno estatístico, uma vez que o crescimento da população de bactérias continua, mas é contrabalançado pela morte, que ocorre numa taxa equivalente.

**Fase de Morte:** Na fase de morte a contagem de bactérias viáveis diminui (figura E.2). Depois que se estabelece uma taxa constante de morte, a cultura morre exponencialmente, ou seja, o número de sobreviventes decresce segundo uma progressão geométrica em relação ao tempo, até que seja atingida a esterilidade. Isso raramente acontece uma vez que as células que morrem servem de alimento para que outras possam crescer lentamente.

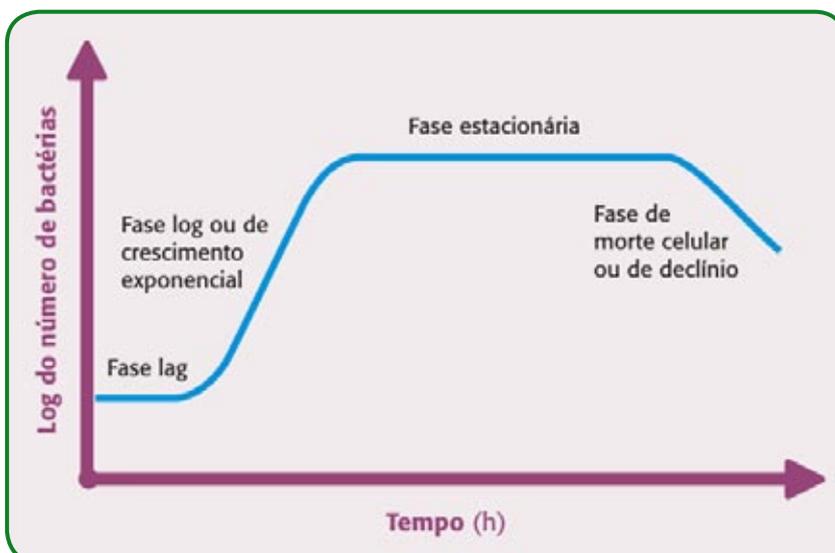


Figura E.2. Curva de crescimento típica de uma população bacteriana.

## 1.2 Expressão matemática do crescimento

Matematicamente, esse modelo, em que uma célula bacteriana divide-se dando origem a duas células iguais, as quais se dividem gerando quatro células e assim sucessivamente, é logarítmico ou exponencial a base 2 ( $2^n$ ) em que o n do expoente significa o número de gerações ou de duplicações da população bacteriana ocorridas durante o período de tempo considerado. Esse modelo exponencial de crescimento permite calcular matematicamente o **tempo de geração** ou de duplicação (td) da bactéria. Para isso, basta conhecer a população inicial de bactérias (N zero) e a população final (N) após um período de tempo (t) de crescimento exponencial ( $2^n$ ).

O número de gerações (n) pode ser calculado pela fórmula:

$$n = \left( \frac{\log N - \log N_0}{0,23} \right)$$

Sabendo que o tempo de duplicação é:  $td = t/n$ , e conhecendo-se o número de gerações, determinado pela fórmula anterior, é possível calcular o tempo de duplicação da bactéria. O conhecimento desse parâmetro é importante em processos industriais que empregam bactérias como, por exemplo, na produção de inoculante para a soja com bactérias do gênero *Bradyrhizobium*.

O tempo de duplicação de uma bactéria depende de fatores genéticos e ambientais. Em condições ótimas, a bactéria *Escherichia coli*, por exemplo, é capaz de duplicar a sua população a cada 20 minutos. Isso significa que, sob essas condições, a população dessa bactéria poderá atingir números extremamente elevados em curto espaço de tempo. Por isso, tanto em condições de laboratório como na natureza, esse modelo de crescimento exponencial das bactérias é de curta duração e logo é interrompido por algum fator limitante, principalmente a exaustão de algum nutriente.

Em qualquer ambiente da natureza, como em uma lavoura durante a decomposição dos resíduos vegetais, as bactérias, cujo modelo de crescimento celular foi descrito acima, apresentam-se como populações, constituídas por diferentes espécies bacterianas. O conjunto dessas populações constitui uma comunidade bacteriana. Cada população ou cultura bacteriana, constituída de uma única espécie (cultura pura) apresenta uma curva típica de crescimento durante o seu desenvolvimento. Essa curva de crescimento pode ser construída a partir da projeção dos logaritmos das contagens de bactérias viáveis em relação ao tempo e apresenta quatro fases distintas, conforme ilustra a Figura E.2.

### **AE** GLOSSÁRIO

**Tempo de geração:** tempo necessário para que ocorra a duplicação da população de bactérias.

## 2. Fatores que afetam o crescimento microbiano

O crescimento e a atividade dos microrganismos do solo, incluindo eucarióticos, como fungos e algas, e procarióticos (bactérias), são fortemente influenciados por diversos fatores bióticos (relações entre comunidades microbianas) e abióticos (ligados ao ambiente). Entre os fatores abióticos pode-se destacar como os mais importantes a umidade, a temperatura, a disponibilidade de oxigênio, o pH, além da disponibilidade e proporção entre os nutrientes presentes no substrato.

### 2.1 Umidade

Nas células microbianas, a água perfaz cerca de 80% do conteúdo citoplasmático e os 20% restantes são constituídos por substâncias dissolvidas na água (enzimas e outras proteínas, carboidratos, lipídeos, íons inorgânicos, etc.). Por isso, a importância fundamental da umidade sobre os microrganismos. É no citoplasma da célula que ocorre boa parte das reações metabólicas envolvidas na produção de energia (catabolismo) e na biossíntese (anabolismo), discutidas anteriormente. Considerando todos os organismos do planeta, pode-se afirmar que a água é o solvente universal da vida e, por isso, sem água não há vida.

Além de a água exercer efeito direto sobre os microrganismos, por ser essencial para manter o funcionamento da célula, ela também exerce um efeito indireto uma vez que, a disponibilidade de oxigênio em um ambiente está diretamente relacionada à quantidade d'água. Conforme apresentado no capítulo relativo ao metabolismo, a disponibilidade de  $O_2$ , por sua vez, pode determinar o tipo de metabolismo energético possível de ser utilizado pela população microbiana, o qual irá determinar a velocidade de decomposição dos materiais orgânicos no solo.

Com relação à umidade no ambiente solo, cabe destacar o seguinte:

- Em solos secos não há vida já que as enzimas, por exemplo, necessitam de um ambiente aquoso para funcionar.
- Em solos alagados a atividade microbiana e a decomposição dos substratos diminuem já que, nesse ambiente, vão predominar populações microbianas anaeróbicas e facultativas.
- Solos com umidade próxima à capacidade de campo apresentam condições ideais de disponibilidade de água para o crescimento de populações aeróbicas.

Embora a água seja essencial tanto para o metabolismo como para a multiplicação dos organismos do solo, não basta que ela esteja apenas presente, mas que esteja na forma disponível. Água ligada a ma-

cromoléculas por forças físicas não está livre para agir como solvente ou para participar de reações químicas e, portanto, não pode ser aproveitada pelos microrganismos. As concentrações de solutos podem impedir que os microrganismos utilizem a água como, por exemplo, de uma solução rica em açúcar ou em cloreto de sódio.

### Água disponível ou Atividade Aquosa ( $a_w$ )

O parâmetro que mede a disponibilidade de água em um ambiente denomina-se “atividade de água” ( $a_w$ ) e é definida como a relação existente entre a pressão parcial de vapor da água contida na solução ou no substrato (P) e a pressão parcial de vapor da água pura ( $P_0$ ), a uma dada temperatura:

$$a_w = \frac{P}{P_0}$$

O valor de  $a_w$  varia de 0 a 1, onde 1 é o valor da água pura. A adição de sais ao solo, através dos fertilizantes, pode provocar a redução de  $a_w$  pelo fato de reduzir o valor de P. A intensidade dessa redução, a qual irá depender da natureza do fertilizante adicionado e da quantidade, poderá afetar negativamente alguns microrganismos mais sensíveis aos valores de  $a_w$ . Em solos agrícolas  $a_w$  é geralmente superior a 0,9.

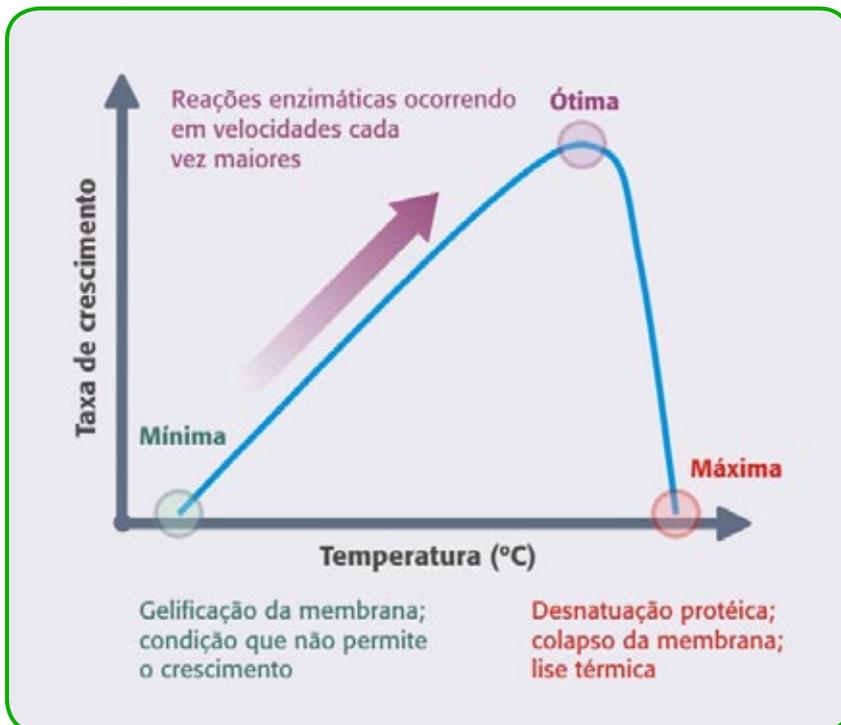
Em geral, as bactérias requerem valores de  $a_w$  mais elevados que as leveduras e estas mais que os fungos filamentosos. Quanto às bactérias, as Gram-negativas necessitam maiores valores de  $a_w$  que as Gram-positivas. O valor limite inferior de  $a_w$ , a partir do qual não há mais multiplicação de qualquer microrganismo é de 0,60.

## 2.2 Temperatura

A temperatura constitui um dos principais fatores determinantes da taxa de crescimento e da atividade dos organismos do solo. Em função da sua grande capacidade de adaptação, microrganismos são encontrados na natureza em uma ampla faixa de temperatura, desde valores próximos a  $-20^{\circ}\text{C}$  até valores acima de  $100^{\circ}\text{C}$ . Todavia, cada espécie microbiana possui uma faixa de temperatura onde ocorre o crescimento sendo que essa faixa é constituída de um valor **mínimo** de temperatura, um valor **ótimo** e um valor **máximo**, denominadas de **temperaturas cardiais** (Figura E.3). Em bactérias, por exemplo, o tempo de geração (duplicação) de uma cultura na temperatura ótima é o menor possível, havendo rápida taxa de crescimento.

Dentro da faixa de temperatura em que ocorre crescimento, quanto mais o valor se afastar do **ótimo** maior será o tempo de geração, e mais lenta será a multiplicação celular. Em temperaturas abaixo do valor mínimo, a velocidade de transporte de substâncias através da membrana citoplasmática e do metabolismo é tão lenta que não são satisfeitas as necessidades bioenergéticas da célula. Por outro lado, em temperaturas acima do valor máximo ocorre a desnaturação de proteínas e a lise térmica da célula, matando-a.

Em baixas temperaturas existe pouca atividade microbiana, já que os microrganismos podem ser considerados como “sacos” de enzimas e, com a diminuição da temperatura, a velocidade das enzimas é reduzida. A temperatura ideal para crescimento da maioria dos microrganismos situa-se na faixa de 25 a 30°C. Durante o inverno, a taxa de decomposição dos materiais orgânicos no solo diminui consideravelmente, pois com o frio as populações microbianas crescem lentamente. Esse fato é facilmente percebido na prática ao comparar o teor de matéria orgânica de solos de diferentes regiões. Solos de regiões com altitude elevada e, por isso, com clima frio como aqueles de Vacaria no Rio Grande do Sul são escuros em função do elevado teor de matéria orgânica, já que a taxa de decomposição microbiana é limitada pelas baixas temperaturas durante a maior parte do ano. Em solos congelados, que não é o caso do Brasil, as taxas de decomposição podem chegar a valores próximos de zero.



**Figura E.3.** Temperaturas cardiais e efeito da temperatura sobre o crescimento bacteriano.

Em função da sua relação com os valores de temperatura para crescimento os microrganismos podem ser classificados em quatro grandes grupos (Figura E.4).

**CLASSES DE MICRORGANISMOS CONFORME A TEMPERATURA:**

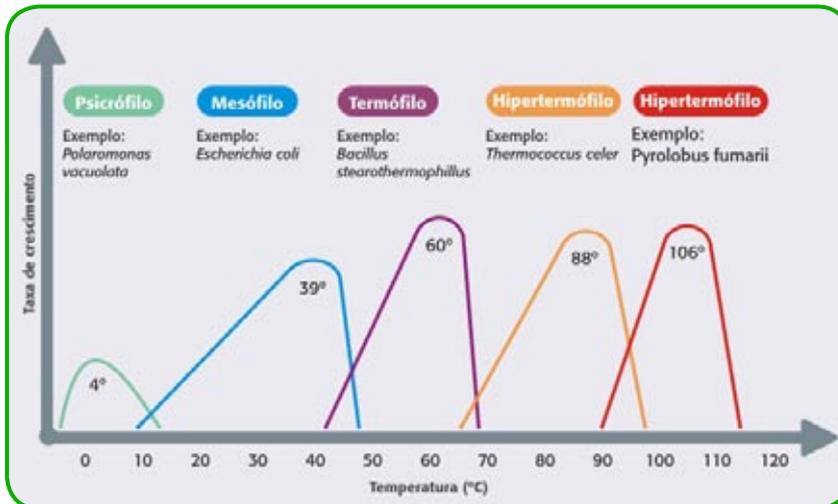
**Psicrófilos:** Valor ótimo situado em baixas temperaturas, encontrados em ambientes muito frios.

**Mesófilos:** Valor ótimo situado em temperaturas medianas, encontrados em ambientes terrestres e aquáticos de latitudes tropicais e subtropicais. As temperaturas cardiais da bactéria *Eschericia coli*, uma mesófila típica, já foram precisamente determinadas pela pesquisa. Para essa bactéria a temperatura ótima é de 39°C, a mínima de 8°C e a máxima de 48°C. Nos solos dos sistemas agrícolas brasileiros, o grupo de bactérias mesófilas é o predominante.

**Termófilos:** Com ótimo em temperaturas elevadas, são encontrados em ambientes muito quentes. Esse grupo de bactérias, onde se situa, por exemplo, *Bacillus stearothermophilus*, é importante em processos onde há necessidade de que a decomposição de materiais orgânicos ocorra o mais rapidamente possível. Um exemplo desses processos é o da **compostagem**, em que são misturados materiais orgânicos pobres em N (relação C/N elevada), como palha de cereais, e materiais ricos em N (baixa C/N), como esterco de animais. Durante a fase inicial de decomposição a temperatura de uma pilha de composto pode atingir temperaturas na faixa de atuação dos microrganismos termofílicos (aproximadamente 40 a 70°C) onde a decomposição dos materiais orgânicos é acelerada.

**Hipertermófilos:** O valor ótimo de temperatura para o crescimento é muito elevado e são encontrados em ambientes extremamente quentes, tais como fontes termais e fendas hidrotermais no fundo do mar.

Comparando a relação dos dois principais grupos de microrganismos de importância agrícola (bactérias e fungos) com a temperatura, é possível afirmar que, de maneira geral, os fungos são capazes de crescer em uma faixa mais ampla de temperatura do que as bactérias:



**Figura E.4.** Relação da temperatura com as taxas de crescimento das diferentes classes de microrganismos e temperaturas ótimas para cada classe.

Na Figura E.4 percebe-se a presença de representantes do grupo microbiano das bactérias numa ampla faixa de variação dos valores de temperatura, o que pode conduzir a dois questionamentos: Como existem microrganismos capazes de viver sob variações tão grandes de temperatura? Quais os mecanismos de adaptação a condições tão extremas?

Através da análise estrutural e bioquímica das células já foram identificados alguns mecanismos de adaptação dos microrganismos a variações na temperatura, com destaque para os seguintes:

- a. Os ribossomos, responsáveis pela síntese de proteínas das células, são mais resistentes em termófilos e, portanto, a temperaturas elevadas;
- b. A estrutura do DNA, que contém a informação genética da célula, difere entre termófilos e psicrófilos sendo que em termófilos algumas proteínas atuam na manutenção dessa molécula vital à célula;
- c. Um dos fatores mais importantes e responsáveis por essa diferença de resistência dos microrganismos a variações bruscas na temperatura está na constituição da membrana celular, a qual é rica em fosfolípidos. Nos psicrófilos há maior proporção de ácidos graxos (lipídeos) insaturados na membrana enquanto nos termófilos os ácidos graxos saturados aparecem em maior proporção. Com o frio, os ácidos graxos insaturados permitem que a membrana permaneça no estado semifluido e, portanto, funcional. Os ácidos graxos saturados solidificariam a membrana quando o microrganismo fosse submetido a condições de baixa temperatura. Um exemplo prático dessa relação entre o tipo de ácido graxo com o estado físico da matéria é a banha de porco, a qual é rica em ácidos graxos saturados. Sob temperaturas elevadas a banha permanece no estado líquido e solidifica a temperaturas menores.

Um aspecto importante a ser ressaltado é que a membrana celular deve permanecer no estado semifluído para exercer a sua função de controle da entrada e saída de nutrientes e outras substâncias da célula.

A relação dos microrganismos com a temperatura, exemplificada na Figura E.4 para as bactérias, evidencia que qualquer tipo de ambiente da natureza apresenta organismos vivos. Os microrganismos que sobrevivem e crescem em condições de temperaturas extremamente baixas ou elevadas são denominadas de **extremófilos**.

### 2.3 Oxigênio (O<sub>2</sub>)

A quantidade de oxigênio em um ambiente vai determinar o potencial de oxidação-redução do mesmo. Solos bem drenados apresentam alto teor de oxigênio, pois os poros maiores estarão cheios de ar. Em solos alagados os microrganismos não terão oxigênio suficiente para realizar a respiração aeróbica (oxigênio é o acceptor terminal de elétrons da cadeia respiratória no metabolismo aeróbico). Em solos alagados encontraremos respiração anaeróbica, caso outro acceptor de elétrons estiver disponível. O nitrato é um excelente receptor de elétrons, e muitos tipos diferentes de microrganismos podem usá-lo para este fim. Quando faltam receptores externos de elétrons, o tipo de metabolismo microbiano possível é a fermentação dos substratos, que é uma decomposição apenas parcial do mesmo, conforme apresentado na unidade D relativa ao metabolismo.

Os processos de oxidação e redução estão relacionados com a troca de elétrons entre compostos químicos, sendo que tais compostos variam quanto a tendência de se tornarem oxidados ou reduzidos. Quando um elemento perde elétrons ele se oxida e quando ganha elétrons, se reduz. Essa tendência em doar ou receber elétrons é expressa como o **potencial redutor** ( $E_0'$ ) de uma substância. O potencial redutor é medido eletronicamente, em volts (V), em condições-padrão (pH 7) e em relação a uma substância padrão, o H<sub>2</sub>. Quanto mais positivo for o potencial redutor de um composto maior a sua tendência em receber elétrons e vice-versa.

O oxigênio (O<sub>2</sub>) apresenta um  $E_0'$  de + 0,82 V e, por isso, é um dos melhores agentes oxidantes (acceptores terminais de elétrons). Ele é utilizado pelos organismos que realizam respiração aeróbica e resulta na maior extração possível de energia do substrato. **Quanto maior for a diferença dos valores de  $E_0'$  entre o doador e o acceptor de elétrons, maior será a quantidade de energia (ATP) produzida pelo microrganismo.**

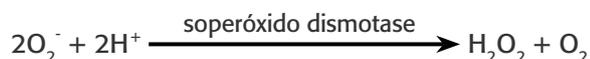
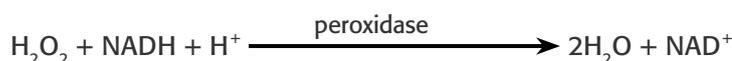
**Exemplificando:** uma bactéria que utiliza a glicose ( $E_0' = -0,43 \text{ V}$ ) como composto doador de elétrons e respira utilizando o  $\text{O}_2$  ( $E_0' = +0,82 \text{ V}$ ) como acceptor terminal desses elétrons é capaz de gerar até 38 moléculas de ATP por cada molécula de glicose oxidada. Já uma bactéria que utiliza a mesma glicose como substrato, porém realiza fermentação utilizando o piruvato ( $-0,19 \text{ V}$ ) como acceptor de elétrons irá produzir apenas 2 moléculas de ATP por molécula de glicose.

Através dessas considerações, depreende-se que o nível de  $\text{O}_2$  de uma ambiente irá determinar o tipo de microrganismo presente, o seu metabolismo e a velocidade de biotransformação do substrato. Em solos bem aerados, por exemplo, haverá maior produção de energia, maior população e atividade dos microrganismos e, em consequência, maior decomposição dos materiais orgânicos presentes no solo.

### Toxidez causada por oxigênio

Na presença de  $\text{O}_2$  livre todos os organismos, durante o seu metabolismo, geram derivados tóxicos com elevado poder reativo e oxidante, capaz de comprometer o funcionamento da própria célula. Dois dos principais derivados tóxicos do  $\text{O}_2$ , com efeito letal sobre as células, são o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e o ânion superóxido ( $\text{O}_2^-$ ). Portanto, para crescer na presença de  $\text{O}_2$ , todo o organismo deve produzir mecanismos capazes de destruir esses compostos tóxicos. Isso é feito na célula através de um conjunto de enzimas, conforme representado nas reações abaixo:

### Ação na célula das enzimas destruidoras dos derivados tóxicos do $\text{O}_2$



Com base nessas reações, conclui-se que, para destruir o radical superóxido (com altíssimo poder de destruição da célula), a célula deve ter a habilidade fisiológica de sintetizar a enzima **superóxido dismutase**. Todavia, o produto final da ação dessa enzima é o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), o qual também é tóxico. Ele é destruído pela enzima **catalase**. Assim, essas duas enzimas devem agir conjuntamente para que um organismo possa viver na presença de  $\text{O}_2$ . As bactérias do ácido láctico são desprovidas da enzima catalase e realizam a desativação do  $\text{H}_2\text{O}_2$  através da enzima **peroxidase**, convertendo-o em  $\text{H}_2\text{O}$ . Esse é o único grupo bacteriano que vive na presença de  $\text{O}_2$  e não realiza respiração, mas sim fermentação.

A população microbiana presente no solo, ou em qualquer ambiente, bem como o tipo de metabolismo energético depende da habilidade destes microrganismos em destruírem as formas tóxicas de oxigênio. Assim existem diferentes categorias de microrganismos em relação à exigência de oxigênio:

- Aeróbicos obrigatórios. Não sobrevivem na ausência de oxigênio. O oxigênio molecular é utilizado na cadeia respiratória como acceptor terminal de elétrons e estes microrganismos não possuem outras formas de metabolismo para a produção de ATP. Enquadram-se nessa categoria inúmeras bactérias do solo (ex. *Pseudomonas* e diversas do gênero *Bacillus*) e a grande maioria das leveduras e dos fungos filamentosos.
- Microaerófilos. São aeróbicos obrigatórios que exigem um ambiente com uma pressão de oxigênio menor que aquela existente na atmosfera. Algumas enzimas essenciais ao metabolismo são inativadas na presença de  $O_2$ , na concentração normalmente encontrada na atmosfera. São microrganismos que vivem na superfície de ambientes aquáticos, como lagos e açudes.
- Anaeróbicos aerotolerantes. Não utilizam oxigênio, mas não morrem em ambientes com sua presença. Realizam metabolismo fermentativo mesmo em condições de aerobiose. Não possuem os constituintes necessários à transferência de elétrons em cadeia respiratória e, por isso, só fermentam. As bactérias do ácido láctico enquadram-se nessa categoria.
- Anaeróbicos facultativos. Crescem melhor na presença de  $O_2$ , realizando respiração aeróbica, mas também podem crescer na ausência de oxigênio, utilizando a respiração anaeróbica ou fermentação como metabolismos energéticos. A bactéria *Escherichia coli* é um exemplo desse grupo extremamente versátil em relação à disponibilidade de  $O_2$  do ambiente.
- Anaeróbicos obrigatórios. O oxigênio é tóxico ao seu metabolismo, pois não possuem a habilidade fisiológica de sintetizar as enzimas necessárias à destruição dos derivados tóxicos do  $O_2$ . A maioria dos microrganismos dessa categoria realiza fermentação (ex. *Clostridium*) e alguns podem realizar respiração anaeróbica (ex. bactérias do gênero *Dessulfotomaculum*, que utilizam  $SO_4^{2-}$  como acceptor terminal de elétrons). Outro grupo importante de bactérias anaeróbicas obrigatórias é o das metanogênicas. Se houver entrada de ar ( $O_2$ ) em um biodigestor irá paralisar a produção de metano

## 2.4 pH

O pH representa a quantidade de íons de Hidrogênio ou de prótons ( $H^+$ ) livres em um ambiente. Microrganismos do solo suportam diferentemente às variações de pH do mesmo, as quais são influenciadas em maior ou menor grau, pelas práticas agrícolas empregadas. Um exemplo de prática agrícola utilizada para correção de solos ácidos é a calagem.

De maneira geral, pode-se dizer que as bactérias preferem valores de pH mais elevados (pH 5 a 8) enquanto a população de fungos predomina em valores de pH mais ácido (pH 4 a 6). Portanto, a calagem de solos ácidos irá afetar a composição da população microbiana do solo, com reflexos sobre os processos dependentes dessa população e da sua atividade. Maior decomposição de materiais orgânicos, por exemplo, é observada em solos onde o pH situa-se próximo da neutralidade (pH 7).

O grupo das bactérias é bastante versátil em relação a valores de pH podendo-se encontrar representantes em ambientes com o pH variando de 1 a 10 unidades (Figura E.5). Tipicamente, a mesma bactéria tolera variações do pH na faixa de 3 a 4 unidades.

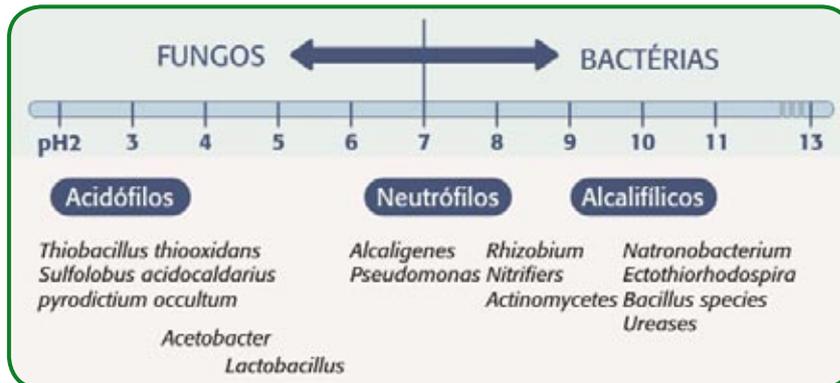
Organismos	Habitat	pH mínimo	pH ótimo	pH máximo
<b>Thiobacillus thiooxidans</b>	Áreas ricas em S, frequentemente ácidas	0.5	2.0-2.8	4.0-6.0
<b>Sulfolobus acidocaldarius</b>	Fontes ácidas sulfurosas	1.0	2.0-3.0	5.0
<b>Bacillus acidocaldarius</b>	Fontes ácidas quentes	2.0	4.0	6.0
<b>Zymomonas lindneri</b>	Ambientes ricos em açúcares	3.5	5.5-6.0	7.5
<b>Escherichia coli</b>	Intestino de animais	4.4	6.0-7.0	9.0
<b>Clostridium sporogenes</b>	Ambientes anaeróbios (solo e sedimentos)	5.0-5.8	6.0-7.6	8.5-9.0
<b>Pseudomonas aeruginosa</b>	Diverso	5.6	6.6-7.0	8.0
<b>Nitrobacter spp.</b>	Diverso	6.6	7.6-8.6	10.0

**Figura E.5.** Exemplos de microrganismos com seus respectivos valores de pH mínimo, ótimo e máximo.

As reações metabólicas da célula, especialmente algumas enzimas, são afetadas pelo pH, ou seja, pela concentração de  $H^+$  livres no citoplasma. Assim, o pH interno da célula deve permanecer próximo da neutralidade e sem grandes variações, independentemente do valor de pH do meio onde o microrganismo está vivendo. Por isso, aque-

les microrganismos que vivem em condições extremas de pH devem possuir mecanismos para manter o pH interno da célula próximo da neutralidade, a fim de garantir a funcionalidade da célula. Tais mecanismos não são ainda completamente conhecidos.

De forma semelhante à temperatura e ao nível de  $O_2$ , também existe uma classificação dos microrganismos relativamente à variação do pH (Figura E.6).



**Figura E.6.** Classificação dos microrganismos em função da sua necessidade em pH.

## 2.5 Composição química do substrato

Conforme já referido anteriormente, no item relativo à nutrição microbiana, para que o crescimento microbiano seja possível, uma série de condições e nutrientes deve estar disponível: água, fonte de carbono, de energia, de nitrogênio, vitaminas e sais minerais.

Um aspecto relevante a considerar é que não basta o substrato apresentar os nutrientes se a proporção entre eles for muito desbalanceada. Um material orgânico como, por exemplo, uma palhada, rico em compostos contendo carbono, que é imprescindível à biossíntese e produção de energia, porém pobre em outros nutrientes poderá ser lentamente degradado no solo. Isso porque as células microbianas são feitas também de nitrogênio, fósforo, enxofre e micronutrientes e, sem a presença de todos os elementos que fazem parte de uma célula, não haverá crescimento microbiano e, portanto, não haverá decomposição. Por isso, a importância de algumas relações entre nutrientes do substrato, com destaque para as relações entre carbono e nitrogênio (C/N), carbono e fósforo (C/P) e carbono e enxofre (C/S). Quando na palhada não houver N, P, S, além de outros nutrientes em quantidade suficiente, os microrganismos os retiram da solução do solo para seu crescimento. Caso o solo não os possua para atender essa demanda microbiana, a decomposição da palhada é reduzida.

Quanto aos cinco fatores abióticos aqui apresentados (umidade, temperatura, disponibilidade de O<sub>2</sub>, pH e composição química do substrato) é importante destacar a impossibilidade de se estabelecer uma classificação hierárquica dos mesmos, em relação a sua influência sobre os organismos do solo. Isso porque esses fatores agem de forma **interativa**. De nada adianta, por exemplo, uma palhada de excelente qualidade (proporção equilibrada entre carbono e nutrientes) se ela for adicionada em um solo deficiente em umidade. Nesse caso, a decomposição da palhada será limitada pela falta d'água. De forma similar, condições ótimas de umidade, temperatura, oxigênio e pH resultarão em baixa decomposição se a palhada e o solo forem deficientes em nutrientes.

## Bibliografia

- MOREIRA, F.; SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e Bioquímica do Solo. 2ª edição, Editora UFLA, 2006. 623 p.
- CARDOSO, E. J. B. N TSAI, S. M.; NEVES, M.C.P. Microbiologia do solo. Campinas, SBCS. 1992. 360p.
- MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., PARKER, J. Brock : Microbiologia de Brock. São Paulo: Prentice-Hall, 2004. 608p.
- TORTORA, G.J., FUNKE, B.R., CASE, C.L. Microbiologia. Porto Alegre: Artmed, 2005. 894 p

## UNIDADE F

### Ciclo biogeoquímico do carbono

#### Introdução

O ciclo do carbono (C) é de fundamental importância tanto para a agricultura quanto para a qualidade do ambiente. Isso porque dele dependem a dinâmica da matéria orgânica do solo (MOS), a qual controla a capacidade produtiva do mesmo, e a emissão de  $\text{CO}_2$  para a atmosfera, o qual, por ser um gás de efeito estufa, contribui ao aquecimento global.

De particular importância no ciclo do C, está o balanço entre a fixação autotrófica do  $\text{CO}_2$  (fotossíntese) e a respiração. Enquanto a fixação de  $\text{CO}_2$ , realizada principalmente pelos vegetais, transfere  $\text{CO}_2$  da atmosfera para o solo, a respiração faz com que o  $\text{CO}_2$  retorne novamente à atmosfera. Portanto, o nível de  $\text{CO}_2$  atmosférico depende da intensidade desses dois processos, os quais transferem C em direções opostas.

Grande parte da atividade respiratória da terra ocorre no solo, sendo que a respiração no solo representa a decomposição de resíduos orgânicos, a respiração das raízes e a lenta decomposição da MOS.

Em um ecossistema agrícola, os resíduos das culturas constituem o principal substrato (fonte de carbono e energia) para todos os organismos (biota) do solo contribuindo ao aumento da atividade respiratória e, em consequência, à liberação de  $\text{CO}_2$  à atmosfera do referido ecossistema. Embora todos os organismos do solo participem desse processo biológico da decomposição dos resíduos orgânicos, ele constitui-se na principal função da vasta população de microrganismos do solo. Portanto, da atividade respiratória dos microrganismos do solo, depende o ciclo do carbono, o qual é ilustrado na Figura F.1.

Conforme ilustrado na Figura F.1, os resíduos orgânicos de origem vegetal (palhada e raízes das culturas) e animal (dejetos de animais) constituem a principal fonte de energia do ecossistema, a qual está estocada nos compostos carbonados desses materiais. Os microrganismos heterotróficos do solo necessitam dessa energia contida nesses compostos orgânicos sintetizados pela planta durante a fotossíntese para sobreviver e crescer.

Nessa unidade, serão discutidos os principais aspectos envolvidos no ciclo do carbono, desde a natureza dos materiais orgânicos adicionados ao solo, a participação dos microrganismos no processo de decomposição desses materiais orgânicos e as consequências desse processo sobre a formação e o acúmulo de MOS.

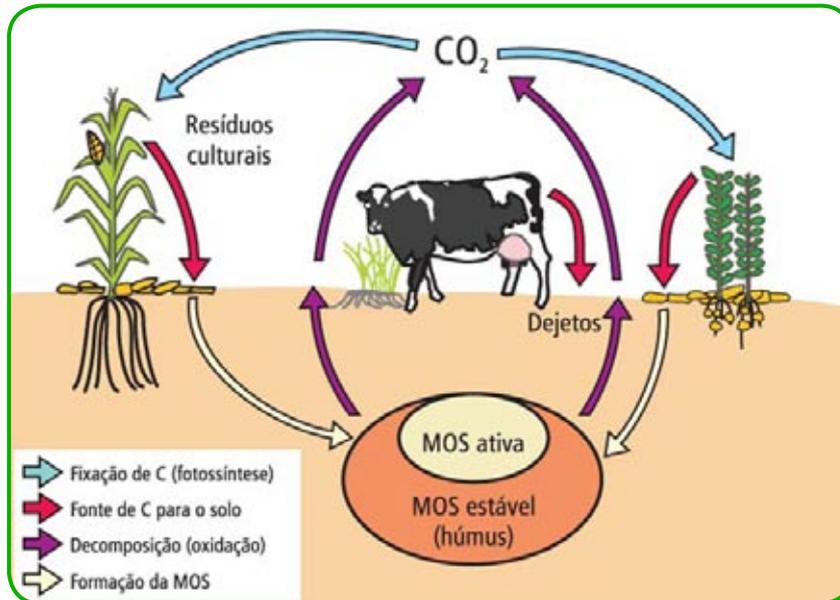


Figura F.1. Ciclo do Carbono.

## Objetivos

Através dessa unidade pretende-se que o aluno possa compreender as principais biotransformações envolvidas no ciclo biogeoquímico do carbono e esteja habilitado a responder questionamentos do tipo: Por que os microrganismos decompõem os materiais orgânicos adicionados ao solo e a própria matéria orgânica já existente do solo? Quais os produtos resultantes da decomposição microbiana em função das condições ambientais e do tipo de compostos orgânicos? Quais as conseqüências destes produtos da decomposição no desenvolvimento das plantas em sucessão? Para que ocorra crescimento microbiano e, portanto a decomposição dos materiais orgânicos, basta a presença de carbono disponível? O que significa mineralização do carbono e daqueles nutrientes que estão ligados ao carbono?

## 1. Natureza dos materiais orgânicos adicionados ao solo

Antes de iniciarmos o estudo sobre os processos realizados pelos microrganismos no ciclo do carbono, vamos ver quais são as principais fontes de C para o solo, bem como suas características. Nos sistemas agrícolas, essas fontes são os resíduos de origem vegetal e, em menor escala, os esterco de animal e os biosólidos (lodo de estação de tratamento de esgotos).

### 1.1 Resíduos de origem vegetal

Em ecossistemas agrícolas, os resíduos sujeitos à decomposição no solo são geralmente derivados de plantas, tanto daquelas destinadas à produção de grãos como daquelas utilizadas para cobertura de solo para protegê-lo da ação erosiva da chuva. Tais resíduos consistem principalmente de folhas, talos e raízes, podendo atingir diversas toneladas por hectare. Além desses resíduos de colheita, durante o desenvolvimento das plantas, as raízes excretam exudatos e material de células em degeneração, o que constitui um substrato rico em C e outros nutrientes aos microrganismos do solo.

Por outro lado, em ecossistemas naturais os resíduos submetidos à decomposição são derivados principalmente de campos nativos e de florestas. Nos campos nativos, uma fração dos resíduos da parte aérea acumula-se a cada ano na superfície do solo, além de parte do sistema radicular nos períodos de dormência, a qual é induzida pelas variações climáticas nas diferentes estações do ano. Quando os campos nativos são utilizados para a criação extensiva de animais, parte do C e dos nutrientes da vegetação retorna ao solo com os dejetos, os quais serão decompostos pelos microrganismos. Nas florestas, por sua vez, as folhas que tombam no solo e outras partes das plantas vão acumulando em camadas na superfície constituindo a serrapilheira, a qual vai sendo lentamente decomposta.

### 1.2 Resíduos de origem animal

Desde os primórdios da agricultura, o uso dos esterco de animais é uma prática comum, não apenas como uma forma de utilizar o solo para o descarte deste material orgânico, mas, principalmente, para reciclar nutrientes. Com uso mais recente, aparecem os biosólidos, que são os lodos gerados após o tratamento de esgoto cloacal em estações de tratamento de esgoto. Nos últimos anos, percebe-se um aumento no interesse no uso agrícola do esterco e do biosólido. Em algumas regiões, especialmente do sul do Brasil, esses dois materiais orgânicos constituem substratos importantes aos microrganismos do solo, participando ativamente do ciclo do C. Pelo fato de apresentarem

compostos orgânicos similares aos encontrados em plantas, a decomposição do biosólido e dos esterco no solo segue a mesma cinética observada durante a decomposição de resíduos vegetais.

Independente do tipo de material orgânico, quando nos referimos a sua decomposição pela biota do solo, é importante lembrar a lei de Lavoisier, para o qual, “na natureza nada se perde, tudo se transforma”. Ou seja, o carbono contido nos materiais orgânicos será decomposto e transformado em biomassa de organismos, principalmente microrganismos, em húmus e, principalmente, em CO<sub>2</sub> o qual que retorna à atmosfera.

### 1.3 Composição (qualidade) dos materiais orgânicos

Os vários compostos orgânicos sintetizados pelos vegetais durante a fotossíntese são de natureza química distinta e apresentam diferentes velocidades (facilidades) de decomposição. **Amido, proteínas e celulose** por exemplo, são moléculas para as quais a grande maioria dos microrganismos possui enzimas que permitem a sua degradação e utilização como fonte de carbono e energia. Já a **lignina**, que é um polímero complexo, e outros compostos fenólicos são mais difíceis de serem atacados e permanecerão no solo por mais tempo até serem completamente mineralizados. Poucos microrganismos são capazes de sintetizar as enzimas necessárias à degradação da lignina.

A composição bioquímica de resíduos vegetais afeta a sua decomposição no solo porque esse processo microbiano não ocorre no resíduo como se ele tivesse uma constituição única. Ao invés disso, os diversos grupos de compostos orgânicos presentes nos resíduos são seletivamente atacados por uma fração dos microrganismos do solo, cada um deles produzindo um conjunto particular de enzimas degradativas atuantes sobre polímeros insolúveis.

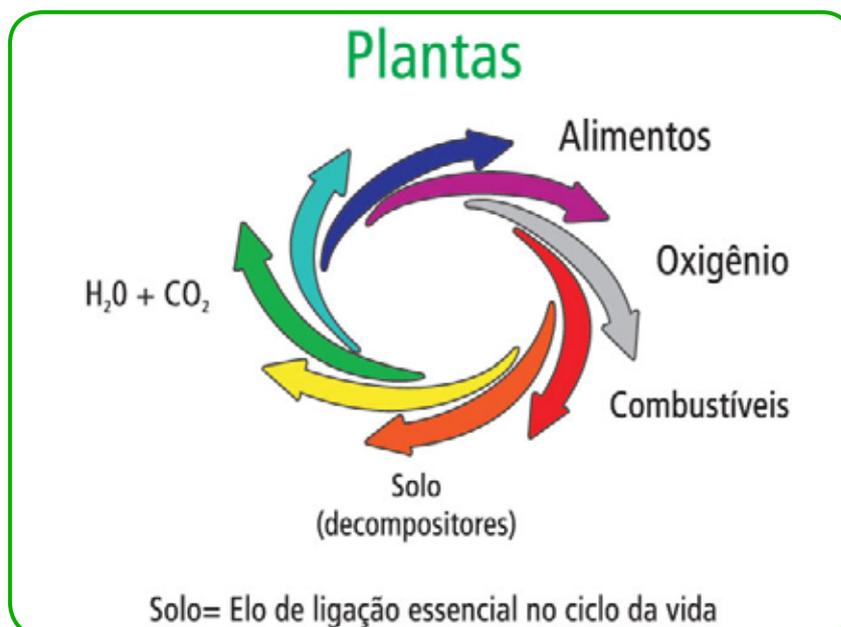
Além da composição bioquímica, outro fator ligado ao resíduo vegetal e que tem forte influência na sua velocidade de decomposição pelos microrganismos do solo é a relação existente no resíduo entre carbono e demais nutrientes, com destaque para a relação C/N. É importante lembrar que as células são feitas de C,H,O,N,S,P etc., o que evidencia que, em sistemas agrícolas, todos os nutrientes necessários à síntese celular devem ser fornecidos aos microrganismos, seja através dos resíduos culturais, seja através do solo. Caso essa demanda em nutrientes dos microrganismos não seja plenamente atendida, a decomposição dos resíduos culturais poderá ser reduzida, sendo que a magnitude dessa redução dependerá das limitações nutricionais impostas aos microrganismos pelo ambiente.

## 2. Importância dos microrganismos do solo no ciclo do carbono

A atividade básica dos microrganismos, bem como das demais formas de vida, é sobreviver através da reprodução, ou seja, do crescimento microbiano. Tais microrganismos utilizam componentes dos materiais orgânicos para obtenção de energia e também como fonte de carbono e outros nutrientes para a síntese de novas células. A energia é fornecida às células microbianas através da oxidação (retirada de elétrons) dos compostos orgânicos. O principal produto final desse processo é o dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), o qual é liberado novamente para a atmosfera e constitui um elemento essencial ao ciclo do C e, portanto, da manutenção da vida no planeta.

Pode-se afirmar, portanto, que os organismos decompositores presentes no solo, com destaque para os microrganismos, constituem o elo essencial de ligação no ciclo da vida, conforme ilustrado na Figura F.2. Do crescimento microbiano depende a capacidade produtiva do solo (estoque de matéria orgânica e nutrientes), a qual irá determinar a produção de alimentos na agricultura, através da fotossíntese vegetal.

Sem crescimento de microrganismos não haveria decomposição dos resíduos orgânicos, os quais acumulariam na superfície do solo e os elementos ligados ao carbono, como N, P e S permaneceriam na forma de compostos orgânicos e, portanto indisponíveis aos vegetais. Por outro lado, o crescimento excessivo de microrganismos poderia levar à rápida oxidação (destruição) da matéria orgânica do solo e as consequências seriam devastadoras. O cultivo de plantas se faria em substratos minerais de areia, argila e silte. As erosões eólicas e hídricas seriam inevitáveis.



**Figura F.2.** Microrganismos decompositores: o elo essencial de ligação no ciclo da vida.

### 3. Dinâmica da decomposição de materiais orgânicos

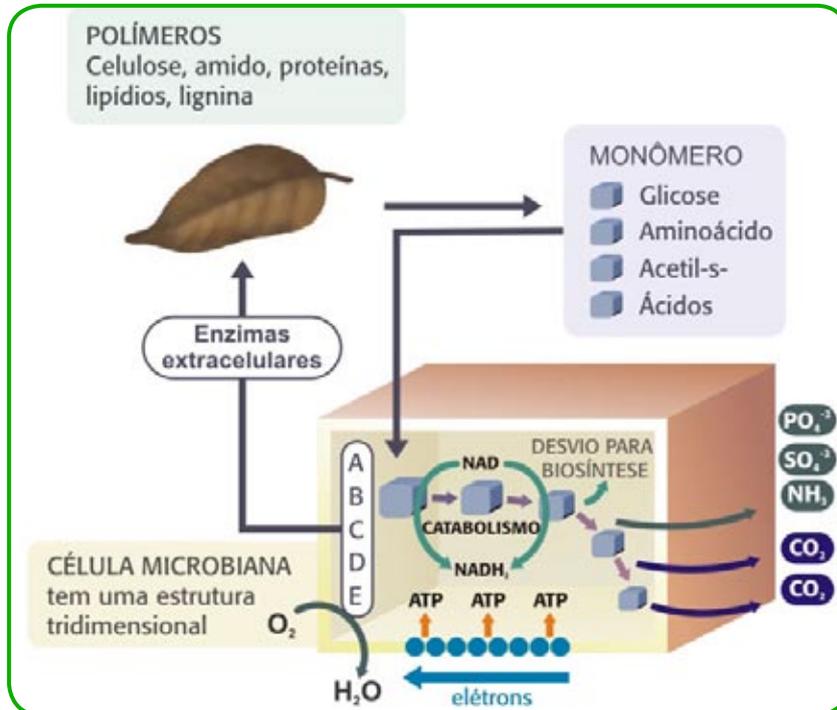
O processo de decomposição de um substrato durante o metabolismo microbiano consiste na quebra química de um composto orgânico em compostos mais simples. Como exemplo pode-se citar a degradação da glicose pelas bactérias do ácido lático as quais convertem uma molécula de glicose com seis átomos de carbono em duas moléculas de piruvato, cada uma com três átomos de carbono. Nesse caso, o composto orgânico glicose foi apenas transformado em outro composto orgânico mais simples. A mineralização, por sua vez, corresponde à conversão de um elemento na forma orgânica para uma forma inorgânica, como resultado do metabolismo microbiano. É o que acontece, por exemplo, durante a oxidação da glicose (C orgânico) em  $\text{CO}_2$  (C inorgânico) durante a respiração dos microrganismos no solo. Vale destacar que a mineralização de um elemento é parte integrante do processo geral de decomposição de um composto orgânico.

Os microrganismos decompositores caracterizam-se por apresentar um tempo de vida curto. As células microbianas que morrem são decompostas por populações microbianas sucessoras as quais encontram nas células mortas um substrato mais facilmente decomponível do que os próprios compostos orgânicos presentes inicialmente nos resíduos culturais. Por outro lado, alguns polissacarídeos sintetizados durante o crescimento de determinados microrganismos são de difícil decomposição, e este fato ilustra a possibilidade de ocorrer a formação de moléculas mais complexas que o próprio substrato durante o crescimento microbiano.

O processo de decomposição dos materiais orgânicos no solo geralmente envolve um amplo espectro de microrganismos complementares, os quais diferem quanto ao tipo de enzimas produzidas para degradar a ampla gama de compostos orgânicos presentes. Através da atuação conjunta da população microbiana, o carbono presente nos vários compostos orgânicos é progressivamente transformado até a sua forma mais oxidada que é o dióxido de carbono. Paralelamente, ocorre a mineralização daqueles elementos ligados ao carbono, com destaque para o N, P e S. Além do  $\text{CO}_2$  a decomposição resulta também na incorporação de carbono e nutrientes à biomassa microbiana e o aparecimento no solo de um dos produtos mais estáveis e complexos da transformação de materiais orgânicos que é a matéria orgânica do solo (MOS), também referenciada como húmus.

É importante enfatizar que durante o processo de decomposição microbiana de um material orgânico uma fração do carbono do substrato é usada pela comunidade de microrganismos, mas a maior parte é liberada na forma de  $\text{CO}_2$  como resultado do processo metabólico produtor de energia, conforme mencionado anteriormente na unidade D (Metabolismo).

Esse processo de decomposição de materiais orgânicos é ilustrado na figura abaixo (Figura F.3).

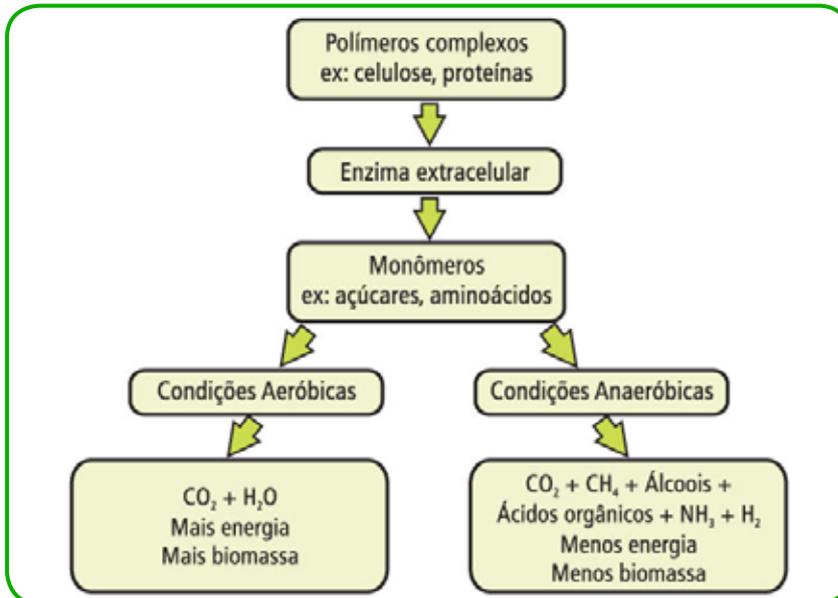


**Figura F.3.** Esquema da decomposição de palhada por microrganismos do solo.

Desde que o homem iniciou o cultivo do solo para a produção de alimentos, a matéria orgânica tem sido reconhecida como um valioso constituinte, afetando positivamente propriedades químicas, físicas e biológicas do solo. A natureza dos materiais orgânicos e a subsequente decomposição de seus componentes resultam na MOS que é usualmente relacionada à qualidade do solo.

### 3.1 Tipos de Decomposição

A decomposição dos resíduos vegetais pode ocorrer em condições aeróbicas (ex. palhada pós colheita de culturas de sequeiro, como milho e soja) ou anaeróbicas (ex. palhada pós colheita de culturas sob inundação, como o arroz), conforme ilustrado na Figura F.4. Para a maioria dos solos agrícolas a decomposição aeróbica é a que predomina.



**Figura F.4.** Reações gerais dos processos microbianos de decomposição.

A **decomposição aeróbica** ocorre quando no ambiente houver oxigênio, o qual permite o funcionamento da cadeia respiratória e a oxidação completa dos substratos até gás carbônico. Ocorre maior liberação de energia, o que possibilita maior produção de biomassa de microrganismos.

A **decomposição anaeróbica** ocorre quando no ambiente não houver oxigênio e resulta na oxidação parcial do substrato. Como produtos finais do metabolismo do carbono são gerados  $\text{CO}_2$ , em menor quantidade do que na decomposição aeróbica, ácidos orgânicos e outros gases como metano ( $\text{CH}_4$ ), amônia ( $\text{NH}_3$ ) e hidrogênio ( $\text{H}_2$ ).

Tanto em condições aeróbicas como anaeróbicas, a decomposição dos resíduos de plantas ocorre através da ação integrada de diferentes microrganismos. Substratos vegetais simples, como os compostos solúveis (constituídos por aminoácidos livres, ácidos orgânicos e açúcares), são prontamente assimiláveis podendo ter uma comunidade de microrganismos se alimentando em competição com outras comunidades. Substratos mais complexos e resistentes, tais como polímeros de carboidratos, podem atrair inicialmente determinado grupo de microrganismos que quebram o polímero em compostos mais simples, os quais podem ser metabolizados na seqüência por outro grupo de microrganismos. Em praticamente todos os casos, os compostos simples (monômeros) são utilizados por diversos microrganismos que os oxidam para obter energia e carbono para a produção de novas células.

A medida que o tecido vegetal vai sendo biodegradado, os componentes mais resistentes tendem a acumular no solo e compostos aromáticos (contendo anel de benzeno na sua estrutura) reativos são

gerados, alguns por modificação microbiana de constituintes da planta durante a decomposição e outros a partir da síntese por microrganismos. Os aromáticos reativos, tais como compostos fenólicos, passam por reações de condensação formando novos materiais poliméricos, muitos dos quais são mais resistentes à decomposição do que o tecido vegetal original. Esse conjunto de compostos carbonados complexos é altamente resistente à decomposição e constitui a matéria orgânica do solo. Esse processo, denominado de humificação dos resíduos vegetais, ocorre concomitantemente a sua decomposição. Em média, da quantidade total de C adicionada ao solo com um resíduo vegetal, apenas 1/3 desse C permanece no solo como matéria orgânica.

De maneira geral, dos vários carboidratos poliméricos (polissacarídeos) produzidos pelos vegetais, a hemicelulose é degradada com relativa facilidade por diversos microrganismos do solo. A celulose, que é o polissacarídeo vegetal mais abundante, também é decomposta mais rapidamente do que o resíduo vegetal como um todo. Já a lignina é decomposta de forma muito mais lenta do que os outros constituintes, sendo que essa estabilidade decorre de seu caráter aromático e polimerizado. Uma das razões para essa dificuldade na decomposição da lignina é o fato de que enzimas lignolíticas são utilizadas para a abertura dos anéis aromáticos e para isso é exigido o oxigênio como co-substrato. Portanto, em ambientes anaeróbicos a degradação da lignina é limitada e ela tende a acumular-se nesses ambientes.

### **3.2 Decomposição dos principais constituintes de resíduos vegetais**

Conforme salientado anteriormente, resíduos vegetais são compostos por uma grande diversidade de compostos (amido, proteínas e celulose, lignina...) que são decompostos a taxas diferentes. Por isso a importância em abordar, mesmo que de forma sucinta, os principais aspectos envolvidos na decomposição dos principais constituintes vegetais.

A composição química dos materiais sendo decompostos, ou seja, os tipos de compostos bioquímicos que fazem parte do tecido vegetal é o principal fator determinante da sua velocidade de decomposição, a qual depende do crescimento dos microrganismos e de suas enzimas. Alguns compostos bioquímicos são mais fáceis de serem atacados por enzimas microbianas devido à natureza química que une os carbonos. Também, algumas enzimas necessárias para a decomposição, estão presentes em um maior número de espécies microbianas, enquanto que outras são sintetizadas (fabricadas) por somente alguns microrganismos. Como regra geral, quanto mais resistente à decomposição mi-

microbiana for um determinado constituinte do tecido vegetal, menor a frequência da enzima responsável pela sua degradação na população microbiana de decompositores. Ou seja, menos integrantes daquela população serão capazes de sintetizar aquela enzima.

### **COMPONENTES SOLÚVEIS**

Resíduos vegetais podem apresentar quantidades significativas de compostos orgânicos solúveis em água, como aminoácidos livres, ácidos orgânicos e açúcares, os quais são prontamente disponíveis à decomposição microbiana pela grande maioria dos microrganismos do solo. Tais compostos são rapidamente assimilados pelos microrganismos para a produção de energia (catabolismo) e precursores celulares (anabolismo).

### **PROTEÍNAS**

As proteínas podem constituir uma importante fonte de carbono, energia e nutrientes, especialmente nitrogênio em diversas plantas, especialmente nas leguminosas utilizadas como adubos verdes como, por exemplo, ervilhaca e tremoço.

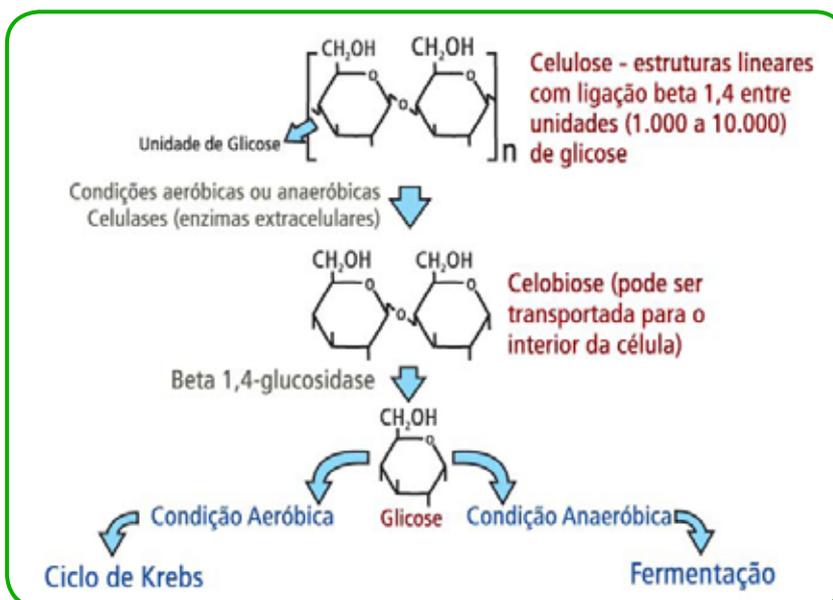
As proteínas constituem polímeros de aminoácidos e são rapidamente decompostas no solo por uma grande diversidade de microrganismos que produzem enzimas proteolíticas (proteases e peptidases) as quais hidrolizam proteínas em aminoácidos individuais. Tais aminoácidos são transportados para o interior da célula onde são utilizados como fonte de energia ou para a síntese de novas proteínas requeridas pelos microrganismos.

### **CELULOSE**

Nos resíduos vegetais a maior parte de carbono encontra-se na forma de carboidratos complexos tais como polissacarídeos estruturais, assim denominados porque eles são normalmente responsáveis pela rigidez estrutural da parede celular. O polissacarídeo estrutural mais comum em resíduos vegetais é a celulose, a qual consiste de uma cadeia linear de moléculas de glicose unidas entre si por ligações  $\beta$  1-4. Cada molécula de celulose pode conter de 1.000 a 10.000 unidades de glicose. O conteúdo de celulose normalmente aumenta com a idade das plantas, variando de 15% em plantas jovens a 50% em plantas maduras.

A celulose é um polímero insolúvel no solo e extremamente grande para entrar na célula microbiana. Por isso, antes de entrar na célula, a celulose deve ser quebrada em unidades menores, o que ocorre através da ação de enzimas extracelulares. O processo, ilustrado na Figura F.5, inicia pela ação desse grupo complexo de enzimas extracelulares denominado de celulasas, que promovem a despolimerização

da celulose fracionando-a em unidades menores com dois carbonos denominadas de celobiose. Essas unidades menores podem então entrar na célula através da membrana celular embora ainda necessitem da ação de outra enzima intracelular denominada de  $\beta$  1-4 glicosidase para hidrolizar a celobiose em glicose. Essas moléculas individuais de glicose podem então ser metabolizadas na célula microbiana para a produção de energia e biomassa. Em condições aeróbicas, a glicose é sucessivamente oxidada até o produto final  $\text{CO}_2$  através da glicólise e do ciclo de Krebs, com os elétrons sendo transferidos até um acceptor terminal da cadeia respiratória, que é o  $\text{O}_2$ . Já em anaerobiose, a sequência metabólica pode ser a mesma, se outro acceptor terminal de elétrons diferente do  $\text{O}_2$  estiver presente. Na ausência de  $\text{O}_2$  e de outro acceptor de elétrons, o processo de degradação da celulose será fermentativo com decomposição apenas parcial do substrato e acúmulo no ambiente de carbono na forma de ácidos orgânicos.



**Figura F.5.** Decomposição da celulose no solo em condições aeróbicas e anaeróbicas.

Além de ilustrar o conjunto de transformações necessárias à utilização da celulose como fonte de carbono e energia pelos microrganismos a Figura F.5 é própria para enfatizar a importância da ação enzimática na decomposição de materiais orgânicos. Se o microrganismo não tiver a habilidade fisiológica de sintetizar alguma das enzimas necessárias à degradação da celulose ele não poderá utilizá-la no seu metabolismo.

Fungos do solo, tais como *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, além de bactérias tais como *Streptomyces*, *Pseudomonas* e *Bacillus*, são importantes na despolimerização extracelular inicial da

celulose. Uma vez que a celulose é hidrolizada até unidades menores que podem ser transportadas para o interior da célula, todos os microrganismos do solo capazes de metabolizar a glicose irão participar da decomposição da celulose.

### **HEMICELULOSES**

Hemiceluloses correspondem ao segundo carboidrato mais abundante em resíduos vegetais e consistem de polímeros contendo hexoses (açúcares com 6 C), pentoses (açúcares com 5 C) e ácido urônico. As hemiceluloses constituem um grupo heterogêneo de polissacarídeos estruturais que podem perfazer mais de 30% da massa seca dos resíduos vegetais. Normalmente, as hemiceluloses de resíduos vegetais contêm de 50 a 200 unidades de açúcar.

### **LIGNINA**

A lignina é o terceiro componente mais comum em resíduos vegetais aparecendo como um constituinte da parede celular, o qual confere maior rigidez e resistência ao tecido vascular das plantas. A lignina é o mais recalcitrante (resistente à decomposição) de todos os compostos químicos produzidos naturalmente, ou seja, através da fotossíntese vegetal. O conteúdo de lignina pode aumentar de 5% na matéria seca de plantas jovens para 15% em plantas maduras, sendo que na madeira de árvores adultas a lignina pode perfazer 35% da massa seca.

Uma vez que a composição química da lignina varia entre espécies de plantas, não é possível apresentar uma estrutura específica que seja representativa de todas as ligninas. O bloco básico que constitui a lignina é a unidade de fenilpropeno, a qual consiste de um anel hidroxilado aromático de benzeno com 6 C (fenol) e uma cadeia linear lateral com 3 C. A lignina é tipicamente composta de 500 a 600 unidades de fenilpropeno ligadas quimicamente entre si de diferentes maneiras. A Figura F.6 ilustra o processo de síntese da lignina durante a fotossíntese vegetal e mostra as três unidades de fenilpropeno mais comumente empregadas pelas plantas para a síntese da lignina.

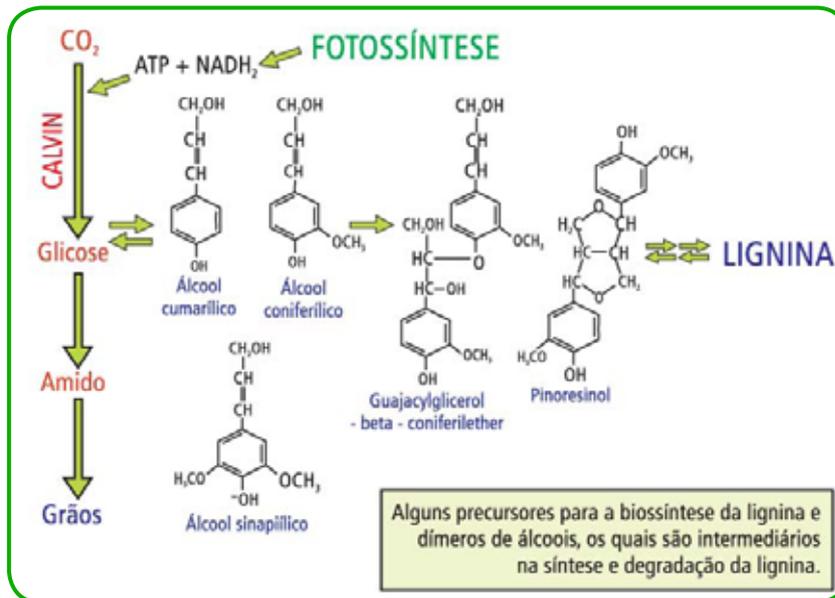


Figura F.6. Processo de biossíntese da lignina.

Apesar da elevada recalcitrância da lignina, determinada pelo seu tamanho e pela sua estrutura complexa, alguns microrganismos conseguem degradá-la. Para isso, é necessária a clivagem (abertura) dos anéis de benzeno (aromáticos), o que ocorre enzimaticamente e, principalmente, em condições aeróbicas. No grupo dos fungos encontram-se os principais decompositores de lignina, embora algumas bactérias, com destaque para o gênero *Streptomyces*, também possam fazê-lo.

Essa biodegradação, embora lenta da lignina, tem efeitos importantes sobre a qualidade do solo. Um dos produtos da decomposição dos resíduos culturais no solo é a formação do húmus o qual tem grande influência sobre a capacidade produtiva do solo. Provavelmente, a liberação de compostos aromáticos precursores do húmus, resultantes da degradação da lignina, favoreça esse processo de humificação.

### 3.3 Avaliação da decomposição de resíduos vegetais no solo

Na representação esquemática da decomposição de um resíduo vegetal por uma célula microbiana (Figura F.3) percebe-se que os monômeros resultantes da quebra enzimática dos polímeros entram na célula para servir à produção de energia e à produção de material celular. Portanto, à medida que avança a decomposição, mais constituintes carbonados do resíduo vegetal vão sendo convertidos em células. Assim, a perda de massa vegetal pode ser utilizada como um método para estimar a velocidade de decomposição de resíduos vegetais no solo. Normalmente, os resíduos vegetais são confinados no interior de sacolas de nylon também denominadas de sacolas de decomposição,

cuja porosidade é reduzida para impedir que o material saia através dos poros das sacolas. As sacolas são coletadas periodicamente do campo avaliando-se a evolução das quantidades de massa seca do material vegetal colocado inicialmente no seu interior.

Utilizando esse método de avaliação da decomposição em Santa Maria, na região da depressão central do Rio Grande do Sul, Aita & Giacominini (2003) constataram que os resíduos culturais de aveia foram decompostos mais lentamente do que aqueles de ervilhaca e que o consórcio de aveia + ervilhaca resultou em uma decomposição intermediária em relação às duas culturas solteiras. As prováveis razões dessas diferenças serão discutidas na seqüência dessa unidade.

Através da Figura F.3 percebe-se que um dos produtos finais da decomposição dos resíduos culturais é o  $\text{CO}_2$ , que é um gás e pode ser captado quimicamente em uma solução de hidróxido de sódio (NaOH). Normalmente, os resíduos culturais são adicionados no campo no interior de cilindros, nos quais seja possível colocar um recipiente com uma quantidade conhecida de NaOH e fechá-los hermeticamente (Figura F.7). Após um período de tempo determinado coleta-se o recipiente com NaOH, o qual é levado ao laboratório, e coloca-se outro recipiente com nova solução de NaOH. No recipiente levado ao laboratório efetua-se a titulação do excesso de NaOH com uma solução de ácido clorídrico (HCl). Com base na quantidade de HCl gasta para titular o excesso de NaOH calcula-se a quantidade de C dos resíduos culturais que foi liberada na forma de  $\text{CO}_2$  pela respiração microbiana durante a decomposição dos resíduos culturais em condições aeróbicas.



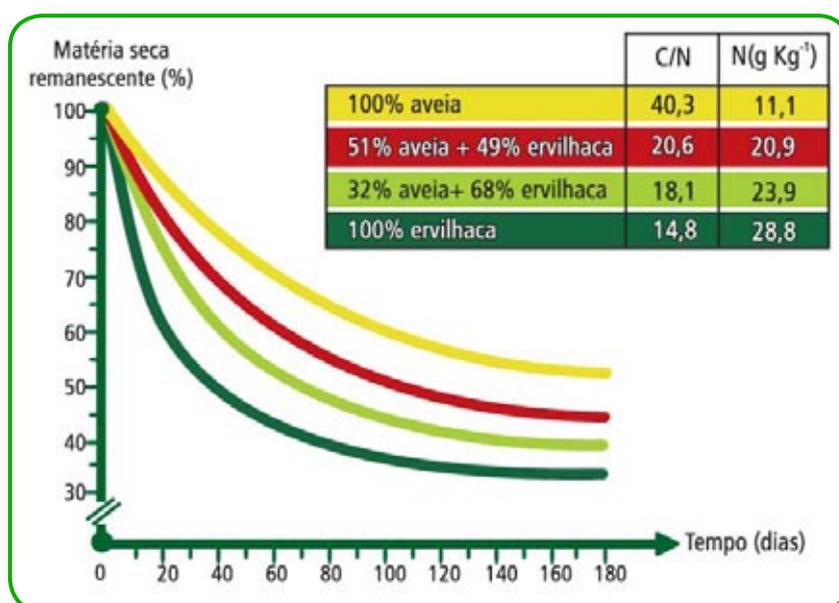
**Figura F.7.** Dispositivo utilizado para avaliar a mineralização do carbono em condições de campo.

### 3.4 Efeito das condições ambientais, composição bioquímica e manejo dos materiais orgânicos sobre o processo de decomposição

#### Condições ambientais e composição bioquímica dos resíduos culturais

A decomposição dos resíduos vegetais das diferentes culturas é fortemente influenciada pelas condições climáticas predominantes em cada uma das estações do ano. Isso porque a atividade microbiana pode ser reduzida pelas baixas temperaturas durante os meses de inverno ou pela deficiência de umidade do solo em alguns períodos do verão. Portanto, aqueles períodos do ano que combinam valores de temperatura e umidade mais adequados aos microrganismos, correspondem aos períodos com maior decomposição.

No caso de Santa Maria, cujo clima é subtropical úmido, percebe-se na Figura F.8 que durante o primeiro mês a perda de massa nos resíduos culturais da aveia foi de 19% enquanto na ervilhaca foi de 43%. Esses valores elevados de decomposição, mesmo com os resíduos mantidos na superfície do solo (plantio direto) se devem, portanto, às condições climáticas favoráveis à atividade dos microrganismos heterotróficos, já que as sacolas de decomposição foram distribuídas no campo no início de outubro. Quanto à decomposição mais rápida da ervilhaca em relação à aveia, ela pode ser atribuída ao fato da ervilhaca ser uma leguminosa e, por isso, ter uma relação C/N menor do que aveia e, portanto, ser um substrato mais favorável aos microrganismos do solo.



**Figura F.8.** Matéria seca remanescente dos resíduos culturais de plantas de cobertura solteiras e consorciadas, em avaliações realizadas no campo até 182 dias após a distribuição das bolsas de decomposição na superfície do solo (Extraído de Aita & Giacomini, 2007)

Quanto à dinâmica de decomposição, observa-se na Figura F.8 que a diminuição da massa dos resíduos culturais é rápida na fase inicial e depois ocorre de forma mais lenta e gradual. Essa cinética de decomposição é classicamente observada para praticamente todos os tipos de resíduos culturais, tanto em condições de campo como de laboratório. Ela resulta do fato da maioria dos microrganismos do solo possuir as enzimas necessárias para metabolizar inicialmente os compostos orgânicos mais facilmente decomponíveis. Com isso sobram os compostos de mais difícil decomposição, os quais são sucessivamente atacados por populações microbianas mais especializadas. Com isso percebe-se na Figura F.8 que ao longo do tempo a decomposição, medida pela perda de massa dos resíduos culturais, vai ocorrendo a taxas cada vez menores.

#### **Manejo dado aos resíduos culturais**

A decomposição dos resíduos culturais das plantas de cobertura do solo varia em função da maneira como as mesmas são manejadas. No sistema de preparo convencional operações com aração e gradagens incorporam os resíduos vegetais ao solo, aumentando o contato dos microrganismos com a umidade e com os próprios resíduos, o que favorece a sua decomposição. Por outro lado, as operações realizadas no cultivo mínimo e no plantio direto mantêm os resíduos culturais na superfície do solo e a decomposição é próxima daquela verificada nos ecossistemas naturais. Em regiões úmidas a atividade microbiana dos decompositores pode ser bastante intensa na camada de deposição dos resíduos culturais, conduzindo a uma rápida taxa de decomposição mesmo com a manutenção dos mesmos na superfície do solo.

Durante a decomposição dos resíduos culturais na superfície do solo pode ocorrer o transporte de material para o interior do perfil através da ação de organismos da fauna edáfica como, por exemplo, as minhocas. Isso pode contribuir ao aumento da decomposição dos resíduos já que eles atingem camadas mais profundas do solo onde a umidade não é fator limitante à atividade da população microbiana de decompositores.

Variações na umidade, temperatura, suprimento de nutrientes e pH modificam a atividade microbiana e, por conseqüência, a taxa de decomposição dos resíduos culturais. Limitações decorrentes desses fatores podem ter maior influência sobre a decomposição dos resíduos mantidos na superfície do solo, em relação a sua incorporação ao solo.

### 3.5 Formação, composição, funções e decomposição da matéria orgânica do solo

Os resíduos vegetais constituem o principal substrato para a formação da matéria orgânica do solo (MOS). A MOS é a fração orgânica do solo formada por todos os compostos que contêm carbono, incluindo os microrganismos vivos e mortos, resíduos de plantas e animais parcialmente decompostos, produtos de sua decomposição e substâncias orgânicas microbiologicamente e/ou quimicamente alteradas. Em termos agrônômicos, a MOS é dividida em “ativa” e “passiva” (estável). Fazendo parte do compartimento ativo da MOS estão os resíduos de plantas e animais em vários estágios de decomposição e localizados no interior do solo (fração leve), a biomassa microbiana e as substâncias não húmicas. A fração ativa da MOS é considerada uma fonte prontamente disponível de nutrientes para as plantas em função da facilidade com que os nutrientes presentes nessa fração são mineralizados. O compartimento estável da MOS é composto pelas substâncias húmicas, também denominadas de húmus. Essa fração é considerada como um reservatório de carbono e nutrientes no solo. Em função de sua complexidade química e sua interação com os minerais do solo sua degradação pelos microrganismos é lenta.

Na Figura F.9 são apresentadas algumas definições para os componentes da matéria orgânica do solo.

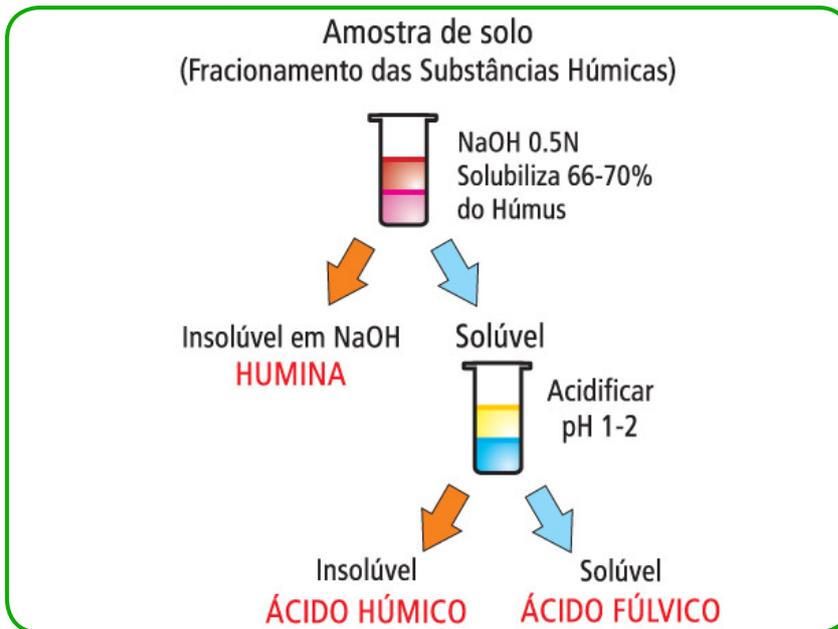
Termos	Definições
Fração leve	Fração ativa da MOS composta por resíduos de plantas e animais em vários estágios de decomposição e localizados no interior do solo.
Substâncias não húmicas	Material orgânico não alterado, de origem animal, vegetal ou microbiana, contendo compostos que pertencem a classes conhecidas de moléculas bioquímicas tais como aminoácidos, carboidratos, graxas, ceras, resinas e ácidos orgânicos.
Substâncias húmicas (húmus)	Conjunto de substâncias complexas de cor marrom a preta, formadas através de reações secundárias de síntese e que possuem peso molecular relativamente elevado.
Humina	Fração do húmus insolúvel em solução alcalina (NaOH) diluída.
Ácido húmico	Material orgânico de coloração marrom escura a preta solúvel em solução alcalina diluída (ex. NaOH 0,5M) e que precipita (insolúvel) pela acidificação em pH 1 a 2.
Ácido fúlvico	Material de coloração amarela que permanece em solução (não precipita) após a remoção dos ácidos húmicos por acidificação.

**Figura F.9.** Definições das várias frações que compõem a matéria orgânica do solo.

O fracionamento (separação) químico das substâncias húmicas da matéria orgânica do solo pode ser feito em laboratório conforme ilustrado na Figura F.10.

A matéria orgânica do solo (MOS), constituída principalmente por essas diferentes frações, desempenha no solo importantes funções,

afetando positivamente propriedades biológicas, químicas e físicas. A lista de funções abaixo relacionadas ilustra a importância em adotar sistemas de manejo do solo tais como plantio direto, rotação de culturas e adição de esterco, os quais mantêm, ou podem até aumentar, o teor de matéria orgânica no solo.



**Figura F.10.** Fracionamento químico das substâncias húmicas da matéria orgânica do solo.

### Propriedades biológicas da MOS

- Fornece uma fonte lentamente disponível de carbono e energia para suprir as necessidades de parte da população microbiana metabolicamente ativa do solo;
- A MOS é fonte de certos compostos que podem promover o crescimento das plantas.

### Propriedades químicas da MOS

- Aumenta a capacidade de troca de cátions (CTC) do solo (de 20 a 80% da CTC total do solo é devida à MOS);
- Exerce controle de variações bruscas do pH do solo (poder tampão);
- Constitui uma fonte de lenta liberação dos nutrientes ligados a compostos orgânicos, como nitrogênio, fósforo e enxofre (a MOS é decomposta a uma taxa anual de 2 a 5%);
- Forma quelatos com elementos traço (micronutrientes) aumentando a sua biodisponibilidade às plantas;

- Acelera o imtempismo de minerais auxiliando na solubilização de nutrientes como o fósforo (P) às plantas, a partir de minerais insolúveis.
- Tem uma elevada capacidade de adsorção para compostos orgânicos, reduzindo a biodisponibilidade de xenobióticos (moléculas não naturais resultantes de síntese) tóxicos como, por exemplo, vários pesticidas.

### **Propriedades físicas da MOS**

- A MOS contribui à melhoria da estrutura do solo, por facilitar a agregação de suas partículas. Polissacarídeos produzidos pelas bactérias, as hifas dos fungos e as substâncias húmicas produzidas por alguns fungos do solo, durante a decomposição da MOS, são promotores de agregação. Um solo em que as suas partículas estão unidas em agregados estáveis em água é altamente desejável por proporcionar: a) maior infiltração da água das chuvas, diminuindo o escoamento superficial e a erosão; b) maior facilidade nas trocas gasosas com a atmosfera e, por isso, melhor aeração do solo; c) maior facilidade nas operações de cultivo do solo e maior penetração das raízes das plantas, uma vez que o solo oferece menor resistência.
- A MOS reduz a densidade do solo, aumentando a porcentagem de espaço poroso.

### **FORMAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA ESTÁVEL DO SOLO (HÚMUS)**

Resíduos orgânicos provenientes de plantas, animais e microrganismos constituem os substratos para a síntese das substâncias húmicas ou, simplesmente, do húmus do solo. Várias hipóteses, conforme apresentado por Stevenson (1994), têm sido propostas para explicar os mecanismos de formação do húmus:

#### **- Teoria da alteração das plantas ou teoria lignina-proteína de Waksman**

A lignina é utilizada de forma incompleta por microrganismos e os resíduos resultantes tornam-se parte do húmus do solo. A lignina é modificada por hidroxilação e oxidação, reagindo com compostos nitrogenados orgânicos (aminados) do solo gerando ácidos húmicos, os quais são oxidados para ácidos fúlvicos.

#### **- Teoria da redução de açúcares (reação de Browning)**

Açúcares redutores e aminoácidos são formados como subprodutos do metabolismo microbiano e sofrem condensações não enzimáticas gerando húmus.

- **Teoria dos polifenóis ou teoria das quinonas derivadas da lignina** (Flaig)

Compostos fenólicos liberados durante a decomposição da lignina, sofrem conversões enzimáticas para quinonas, os quais sofrem condensação com compostos nitrogenados orgânicos (aminados) para formar húmus.

- **Teoria da síntese microbiana do húmus** (Martin e Haider; Kononova)

Polifenóis são sintetizados por fungos a partir de compostos orgânicos não ligníticos como a celulose. Os polifenóis são então enzimaticamente oxidados para quinonas que se condensam com aminoácidos formando húmus.

Dessas teorias, as duas últimas envolvendo polifenóis e, provavelmente, uma combinação das duas são as mais aceitas para explicar a humificação em solos aeróbicos.

Para solos mal drenados, onde se formam as turfeiras, a teoria da alteração das plantas de Waksman é provavelmente o caminho dominante para a humificação.

### **DECOMPOSIÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO**

As considerações que serão feitas nesse item referem-se à decomposição tanto da fração ativa como da fração estável (húmus) da MOS. Na maioria das situações agrícolas, a decomposição da MOS ocorre em solos bem drenados, ou seja, em solos com bom suprimento de  $O_2$ . Nessa situação e, dependendo das condições climáticas, a taxa de decomposição do húmus é de apenas 2 a 5% ao ano. Aumentando a temperatura do solo, até um valor limite de aproximadamente  $45^\circ C$ , essas taxas anuais de decomposição da MOS podem aumentar.

A adequada aeração do solo favorece a oxidação dos materiais orgânicos e aumenta a sua taxa de decomposição. Práticas de cultivo, como a lavração do solo, expõem a MOS à oxidação microbiana, aumentando a sua decomposição. A prática do plantio direto ou do cultivo mínimo do solo aumenta a MOS em relação ao cultivo convencional, em função da menor incorporação dos resíduos culturais.

Em situações deficientes em  $O_2$  (anaeróbicas), como nas várzeas e pântanos, a decomposição de resíduos vegetais e da MOS é reduzida significativamente e os materiais orgânicos se acumulam. Caso essas áreas sejam drenadas esses materiais orgânicos acumulados são rapidamente decompostos ocorrendo uma diminuição do volume do solo. Esse declínio no volume do solo, denominado de subsidência, pode atingir taxas tão elevadas quanto 10 cm por ano.

Conforme já mencionado anteriormente, no capítulo relativo ao metabolismo microbiano, um dos produtos finais da decomposição de

materiais orgânicos em condições anaeróbicas é o metano ( $\text{CH}_4$ ). Esse processo denominado de metanogênese será abordado brevemente a seguir.

#### 4. Metanogênese

A produção do gás natural metano ( $\text{CH}_4$ ) ou metanogênese é um processo realizado exclusivamente por algumas bactérias, as quais são anaeróbicas obrigatórias, extremamente sensíveis ao  $\text{O}_2$ . Apesar da anaerobiose obrigatória e do metabolismo especializado das bactérias metanogênicas, elas estão espalhadas por todo o globo terrestre. Embora elevados níveis de produção de metano ocorram somente em ambientes anaeróbicos, tais como pântanos, esterqueiras anaeróbicas e rúmem dos animais, o processo também pode ocorrer em ambientes considerados aeróbicos, tais como em florestas e pastagens. Nesses ambientes, a metanogênese ocorre em microambientes anóxicos, por exemplo, no centro dos agregados do solo ou em períodos excessivamente chuvosos.

Embora o metano seja um componente relativamente pequeno do ciclo do C, ele é de grande importância e a metanogênese tem recebido atenção especial por parte da pesquisa por duas razões principais. A primeira se deve ao fato da concentração de  $\text{CH}_4$  na atmosfera estar aumentado nas últimas décadas, o que constitui motivo de preocupação para o poder público já que o  $\text{CH}_4$  é um gás de efeito estufa com aproximadamente 25 vezes mais poder poluidor do que o  $\text{CO}_2$ . A segunda razão é que o  $\text{CH}_4$  é um gás combustível que pode ser usado para gerar energia no meio rural. Por isso, o interesse crescente no uso de biodigestores (Figura F.11) no meio rural para armazenar o  $\text{CH}_4$  produzido durante a fermentação de dejetos de animais, evitando a sua emissão para a atmosfera e possibilitando o seu uso na produção de energia. Portanto, esse processo traz benefícios econômicos e também ambientais. No caso de esterqueiras anaeróbicas o processo microbiano de produção do  $\text{CH}_4$  é idêntico ao que ocorre nos biodigestores. A diferença é que nos biodigestores o  $\text{CH}_4$  produzido é armazenado em câmpulas ou através de lonas apropriadas (Figura F.11), enquanto nas esterqueiras o  $\text{CH}_4$  produzido é emitido para a atmosfera contribuindo à poluição ambiental.



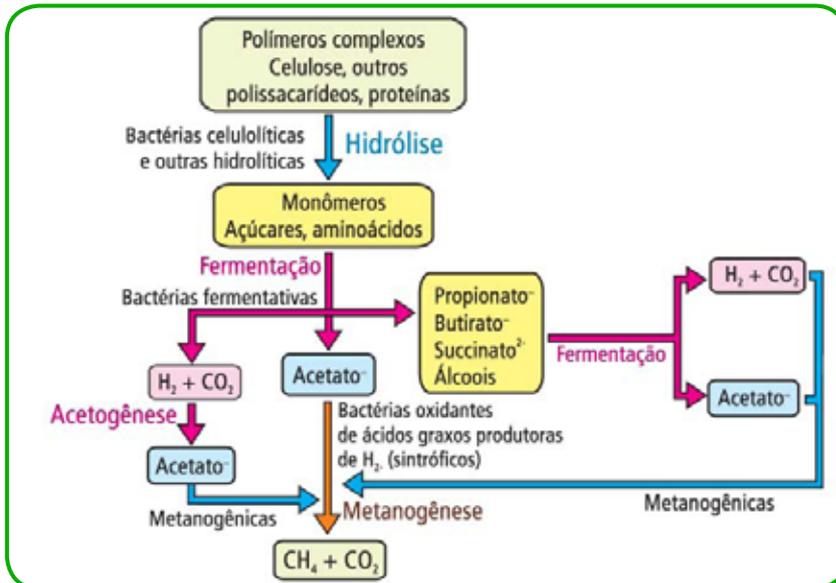
**Figura F.11.** Foto de um biodigestor com lona, para armazenar o CH<sub>4</sub>.

A produção de metano (metanogênese) constitui o passo final da cadeia alimentar de um grupo de bactérias fermentativas. Substâncias de elevado peso molecular como polissacarídeos, proteínas e ácidos graxos são convertidos em CH<sub>4</sub> através da interação cooperativa de vários grupos fisiológicos de bactérias. A maioria das bactérias metanogênicas utiliza o CO<sub>2</sub> como seu aceptor terminal de elétrons na respiração anaeróbica, reduzindo-o a metano, enquanto o doador de elétrons utilizado por essas bactérias nesse processo é o H<sub>2</sub>, conforme ilustrado na equação abaixo:



Esses dois precursores (CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>) imediatos do CH<sub>4</sub> são gerados através da atividade fermentativa de outras bactérias anaeróbicas. Além do CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub> como precursores principais de metano, algumas bactérias metanogênicas também podem utilizar outros compostos orgânicos produzidos durante a fermentação. Os principais são acetato, metanol e ácido fórmico.

Para a conversão de um polissacarídeo típico como a celulose em metano em ambientes anaeróbicos como no rúmex dos animais e em biodigestores, pelo menos cinco grupos fisiológicos de bactérias podem estar envolvidos no processo, conforme ilustrado na Figura F.12.



**Figura F.12.** Processo global da decomposição anaeróbica, que ilustra a maneira pela qual vários grupos de anaeróbicos fermentativos cooperam na conversão de compostos orgânicos complexos em  $\text{CH}_4$  e  $\text{CO}_2$ .

Inicialmente, **bactérias celulolíticas** quebram a molécula de celulose (polímero) em glicose (monômero), a qual é transformada por **bactérias fermentadoras primárias** em uma variedade de produtos finais, sendo o acetato, propionato, butirato, succinato, álcoois,  $\text{H}_2$  e  $\text{CO}_2$  os principais. Um grupo microbiano importante e essencial no processo de metanogênese são as **bactérias fermentadoras secundárias** as quais são responsáveis pela produção de  $\text{H}_2$  a partir da oxidação dos produtos da ação das bactérias fermentadoras primárias. Todo o  $\text{H}_2$  produzido pelas fermentadoras primárias e secundárias é imediatamente consumido pelas metanogênicas para a produção de metano, conforme a reação anterior. Além disso, o acetato produzido pode ser convertido a metano por algumas bactérias **metanogênicas**. Observa-se ainda na Figura F.12 que a partir de  $\text{CO}_2 + \text{H}_2$  um grupo de bactérias denominadas de **acetogênicas** produz acetato, o qual é convertido a metano pelas metanogênicas. Através desse exemplo de degradação da celulose percebe-se a complexidade do processo biológico da metanogênese.

## **Bibliografia**

MOREIRA, F.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2ª edição, Editora UFLA, 2006. 623 p.

MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., PARKER, J. Brock : **Microbiologia de Brock**. São Paulo: Prentice-Hall, 2004. 608p.

PAUL, E.A.; CLARK, F.E. **Soil microbiology and biochemistry**. 2. ed. Califórnia: Academic Press, 1996. 340p.

SYLVIA, D.M.; FUHRMANN, J.J.; HARTEL, P.G. & ZUBERER, D.A. **Principles and applications of soil microbiology**. New Jersey: Prentice Hall, 1998. 550 p.

AITA, C. GIACOMINI, S.J. **Matéria Orgânica do Solo, Nitrogênio e Enxofre nos Diversos Sistemas de Exploração Agrícola: Plantio Direto x Plantio Convencional**. In: TSUIOSHI, S. et al. **Nitrogênio e Enxofre na Agricultura Brasileira**. Piracicaba: ESALQ. São Paulo: IPNI - International Plant Nutrition Institute, 2007. p.1-41.

## UNIDADE G

### Ciclo biogeoquímico do nitrogênio

#### Introdução

Entre os diversos tópicos abordados pela Biologia do Solo, nenhum ocupa tanto tempo dos pesquisadores e recursos financeiros quanto o ciclo biogeoquímico do nitrogênio. Isso se deve aos seguintes aspectos principais: a) o nitrogênio é um nutriente essencial para todos os organismos da terra, já que ele faz parte das proteínas e toda a enzima é uma proteína; b) de todos os nutrientes essenciais à vida nenhum outro apresenta-se sob tantas formas diferentes (Figura G.1) e as transformações entre essas diferentes formas é realizada majoritariamente por microrganismos; c) o nitrogênio é o nutriente que mais frequentemente limita o crescimento das plantas em ecossistemas terrestres, sendo que a capacidade produtiva do ecossistema é regulada pela velocidade com que os microrganismos transformam o N em formas de N utilizáveis pelas plantas; d) algumas formas de N são poluidoras e, portanto, as transformações microbinas do N no solo também podem causar prejuízos à saúde do homem e à qualidade do ambiente: os principais referem-se à possibilidade de aumentar excessivamente as concentrações de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) nas águas de superfície e do lençol freático, além da emissão para a atmosfera de óxidos de N, tais como NO e  $\text{N}_2\text{O}$ , os quais são gases que podem causar depleção da camada de ozônio e efeito estufa.

Nome	Fórmula química	Estado de oxidação
Nitrato	$\text{NO}_3^-$	+5
Dióxido de nitrogênio	$\text{NO}_2$	+4
Nitrito	$\text{NO}_2^-$	+3
Óxido nítrico	NO	+2
Óxido nitroso	$\text{N}_2\text{O}$	+1
Nitrogênio elementar	$\text{N}_2$	0
Amônia	$\text{NH}_3$	-3
Amônio	$\text{NH}_4^+$	-3
N orgânico	$\text{R}_{\text{NH}_3}$	-3

**Figura G.1** Principais formas de N no solo e seus respectivos estados de oxidação.

O nitrogênio pode existir no solo em oito formas diferentes, correspondendo a diferentes estados oxidativos do elemento (Figura G.1). O  $\text{N}_2$  gasoso constitui a mais abundante forma de N na biosfera mas não pode ser utilizada pela maioria dos organismos, incluindo as

plantas. Apenas alguns microrganismos são capazes de utilizar o  $N_2$  da atmosfera através do processo da fixação biológica de N (FBN) em que o  $N_2$  é convertido em N orgânico. A FBN é o processo dominante pelo qual o N entra no complexo ciclo do N do solo (Figura G.2)

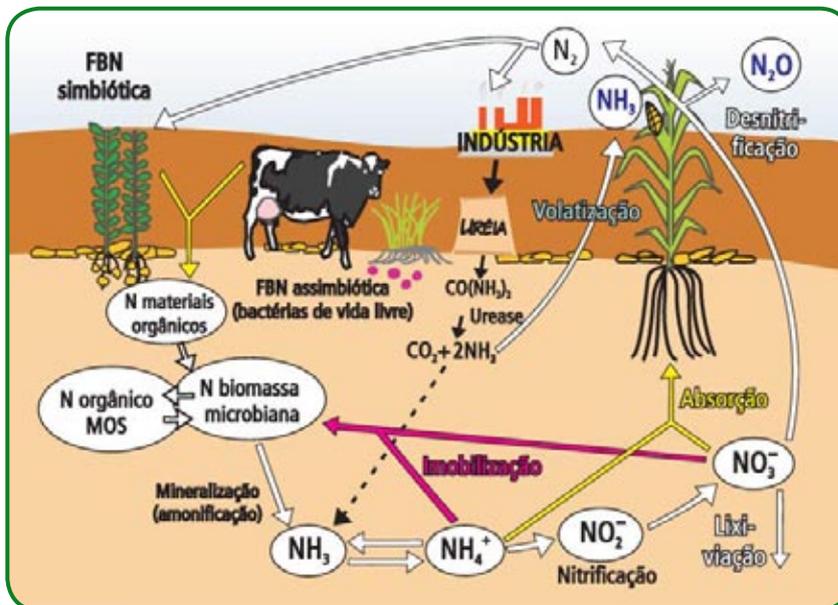


Figura G.2 Ciclo do nitrogênio.

Além da **fixação biológica de N**, serão discutidos nesse capítulo os demais processos biológicos de transformação do N no solo, quais sejam a **mineralização de N**, que é a conversão do N orgânico em formas inorgânicas de N; a **imobilização de N**, que consiste na assimilação de formas inorgânicas de N por microrganismos e outros organismos heterotróficos do solo; a **nitrificação**, que é a conversão de amônio ( $NH_4^+$ ) a nitrito ( $NO_2^-$ ) e então a nitrato ( $NO_3^-$ ); e a **desnitrificação**, que corresponde à conversão de nitrato a óxido nitroso ( $N_2O$ ) e então a gás dinitrogênio ( $N_2$ ). É importante destacar que essas principais transformações do ciclo do nitrogênio são controladas por microrganismos, com destaque para o grupo das bactérias. A grande diversidade de compostos contendo N (Figura G.1) e de transformações de natureza microbiana tornam o estudo do ciclo do N (Figura G.2) um desafio intelectual extremamente interessante.

## Objetivos

- Descrever as principais transformações microbianas envolvidas no ciclo biogeoquímico do N, caracterizando os principais grupos microbianos envolvidos, além dos fatores de controle e das conseqüências dessas transformações sobre a disponibilidade de N no solo e a qualidade do ambiente;
- Melhorar a compreensão sobre as biotransformações do N de modo a prever o impacto de práticas de manejo do solo sobre o fornecimento de N e a produtividade das culturas e a qualidade de determinado ecossistema.

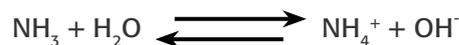
## 1. Natureza e metabolismo das fontes nitrogenadas

No solo, as principais fontes de N, a partir das quais as plantas e os demais organismos sintetizam compostos orgânicos nitrogenados são o N inorgânico, o N orgânico e o N<sub>2</sub> atmosférico.

### 1.1 Nitrogênio inorgânico

Na maioria dos solos apenas uma pequena fração, normalmente inferior a 5% da quantidade de N total, está na forma mineral (inorgânica), com predominância de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), que são as formas de N assimiladas pelas plantas e pelos organismos do solo. Essas duas formas inorgânicas de nitrogênio são extremamente dinâmicas no solo, estando sujeitas a diversas transformações de natureza química, física e biológica.

No solo, a forma iônica de N amoniacal (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) encontra-se em equilíbrio com a forma gasosa (NH<sub>3</sub>) conforme a seguinte equação:



Em condições de pH alcalino, o equilíbrio está deslocado para a esquerda da reação acima, predominando a forma gasosa de amônia (NH<sub>3</sub>) que, dependendo das condições ambientais, poderá ser perdida para atmosfera. Esse processo, denominado de **volatilização de amônia**, é responsável por perdas significativas de N do solo quando da aplicação de N, especialmente com a uréia e os dejetos de animais ricos em N amoniacal como os dejetos líquidos de suínos. Portanto, esse processo de volatilização de amônia, é afetado no solo tanto por condições de natureza química (pH e capacidade de troca de cátions-CTC) como por condições de natureza física como a temperatura, umidade e velocidade dos ventos. A volatilização de amônia será tanto maior quanto mais alcalino for o pH, maiores forem a temperatura e a velocidade dos ventos e menores forem a umidade e a CTC do solo. Reduções substanciais de perdas de N por volatilização de amônia são obtidas com a incorporação mecânica da uréia e dos dejetos de animais ao solo, embora seja difícil de compatibilizar essa prática com o sistema de plantio direto onde esses materiais são aplicados na superfície do solo. Por isso, a observância de condições climáticas favoráveis no momento de aplicar a uréia e os dejetos. Devem ser evitadas condições de solos excessivamente secos ou úmidos e temperaturas muito elevadas.

Quanto ao nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), por ser um ânion, ele apresenta uma mobilidade bem maior no solo do que o cátion amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), o qual pode ser fixado nas argilas ou ser adsorvido nos sítios de troca de cátions associados com a matéria orgânica do solo. Assim, exceto na-

queles solos com predomínio de cargas positivas onde o  $\text{NO}_3^-$  pode ser absorvido, nos demais, o  $\text{NO}_3^-$  aparece livre na solução do solo, descendo no perfil do solo juntamente com a água de percolação, podendo ultrapassar a zona de ação do sistema radicular das plantas. Esse processo físico, denominado de **lixiviação de nitrato**, pode resultar em perdas significativas de N no solo quando as precipitações (chuvas) excedem a evapotranspiração, ou seja, quando ocorre deslocamento de água no perfil do solo. Além de representar diminuição na disponibilidade de N às culturas, a perda de N por lixiviação de nitrato poderá contaminar a água do lençol freático com essa forma de N. O limite admitido para a concentração de nitrato na água potável é de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{N-NO}_3^-$ .

Do ponto de vista biológico, o  $\text{NH}_4^+$  e o  $\text{NO}_3^-$  podem sofrer diversas transformações no solo, com reflexos sobre a quantidade de N disponível e sobre a poluição atmosférica. O  $\text{NH}_4^+$  passa pelo processo de **nitrificação** enquanto o  $\text{NO}_3^-$  pela **desnitrificação**. Tanto o  $\text{NH}_4^+$  como o  $\text{NO}_3^-$  podem ser assimilados pelos microrganismos heterotróficos do solo através do processo denominado de **imobilização**. A bioquímica de cada um desses três processos, os microrganismos envolvidos, a sua dependência dos fatores abióticos e as conseqüências sobre o ambiente, serão discutidos nessa unidade.

As principais fontes de N inorgânico no solo são os fertilizantes nitrogenados (uréia, sulfato de amônio e nitrato de potássio), além do N orgânico contido nos resíduos vegetais e animais e na matéria orgânica do solo, o qual é transformado em N mineral pela população microbiana do solo, através do processo de **mineralização**.

## 1.2 Nitrogênio orgânico

A grande reserva de N no solo encontra-se na forma orgânica, em uma grande variedade de compostos, dos quais apenas cerca de 50% tem sua composição conhecida. A origem desses compostos são os adubos orgânicos de natureza vegetal (adubos verdes) e animal (dejetos os quais são constituídos principalmente da mistura de fezes e urina), os exudatos radiculares das plantas, os microrganismos mortos e os metabólitos da população microbiana viva, além da matéria orgânica estabilizada ou húmus.

Os compostos de N orgânico que ocorrem naturalmente no solo incluem: proteínas e aminoácidos, polímeros que constituem a parede celular microbiana, açúcares aminados, ácidos nucléicos e diversas vitaminas e metabólitos intermediários. Uma vez que mais da metade do N orgânico do solo tem composição indefinida, ele tem sido caracterizado através do fracionamento por hidrólise ácida (Figura G.3).

Forma do Nitrogênio	Definição	(% do N do solo)
<b>Nitrogênio insolúvel em ácido</b>	Nitrogênio predominantemente na forma de compostos aromáticos	10-20
<b>Amônia</b>	Amônia trocável mais nitrogênio amídico	20-35
<b>Aminoácidos</b>	Proteínas, peptídeos e amino ácidos livres	30-45
<b>Amino açúcares</b>	Parede celular microbiana	5-10
<b>Nitrogênio hidrolizável em ácido mas não identificado</b>	É o nitrogênio hidrolizado que não foi identificado como amônia, aminoácidos ou amino açúcares	10-20

Figura G.3 Fracionamento clássico do N orgânico do solo baseado na hidrólise ácida.

### 1.3 Nitrogênio atmosférico (N<sub>2</sub>)

O N<sub>2</sub> presente na atmosfera é um gás relativamente inerte que constitui o maior compartimento de N biologicamente ativo em ecossistemas terrestres. O N<sub>2</sub> entra no ciclo do N pela ação de microrganismos, através do processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN). Existem microrganismos que utilizam o N<sub>2</sub> para sua própria nutrição nitrogenada (*fixação assimbiótica*) e aqueles que fixam o N<sub>2</sub> atmosférico em associação com plantas, principalmente as leguminosas (*fixação simbiótica*).

## 2. Principais transformações biológicas do nitrogênio

### 2.1 Mineralização e imobilização do N

#### 2.1.1 Definição

Um processo crítico no ciclo de qualquer nutriente é a conversão das formas orgânicas desse nutriente, presente nos materiais orgânicos, em formas minerais solúveis, mais simples e que podem ser assimiladas por plantas e outros organismos do solo. Essa conversão é realizada pelos microrganismos que liberam, ou mineralizam, nutrientes como subprodutos de sua ação sobre os compostos presentes nos materiais orgânicos. Quando microrganismos atacam os compostos orgânicos, eles o fazem com o objetivo primeiro de retirar carbono e energia dos compostos a fim de suportar o seu crescimento, conforme discutido anteriormente na unidade D e F.

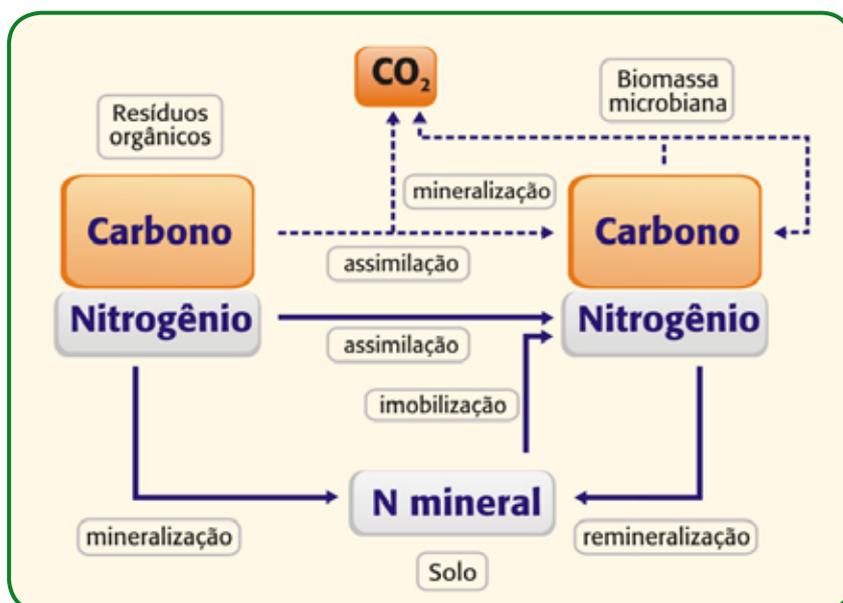
Para que o carbono e a energia retirados do composto orgânico possam ser convertidos em tecido celular, os microrganismos necessitam nutrientes, principalmente nitrogênio, para a síntese de proteínas, ácidos nucleicos e outros componentes celulares. Se em uma situação de lavoura os resíduos da colheita (resíduos culturais ou palhada) forem ricos em N como, por exemplo, os resíduos de leguminosas, as necessidades microbianas nesse nutriente serão facilmente preenchidas e o N excedente é liberado na forma mineral. Esse processo em que, durante a decomposição, o N orgânico dos resíduos culturais é convertido biologicamente em N mineral é denominado de **mineralização** do N e representa um aumento na quantidade de N disponível às plantas. Tradicionalmente, a amônia ( $\text{NH}_3$ ) tem sido considerada o produto inicial da mineralização e, por isso, esse processo de mineralização de N é freqüentemente referido como **amonificação**.

Se, por outro lado, os resíduos culturais forem pobres em N como, por exemplo, aqueles das gramíneas, os microrganismos necessitarão buscar N adicional no solo para poder sintetizar compostos nitrogenados orgânicos a partir do carbono e da energia extraídos dos resíduos culturais. Portanto, os microrganismos assimilam N mineral do solo, nas formas de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e, principalmente, de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), para incorporá-lo a compostos nitrogenados orgânicos na célula. Nesse processo, denominado de **imobilização** de N, ocorre uma diminuição do N disponível às plantas.

Para melhor compreender os processos de mineralização/imobilização de N é preciso “pensar como um microrganismo”, cujo interesse principal em decompor um material orgânico no solo é transformar em célula viva a energia e o carbono retirados do referido composto. Ou seja, a imobilização microbiana do N está intimamente relacionada ao metabolismo do carbono, uma vez que a energia e os precursores celulares gerados pelo metabolismo heterotrófico de um substrato

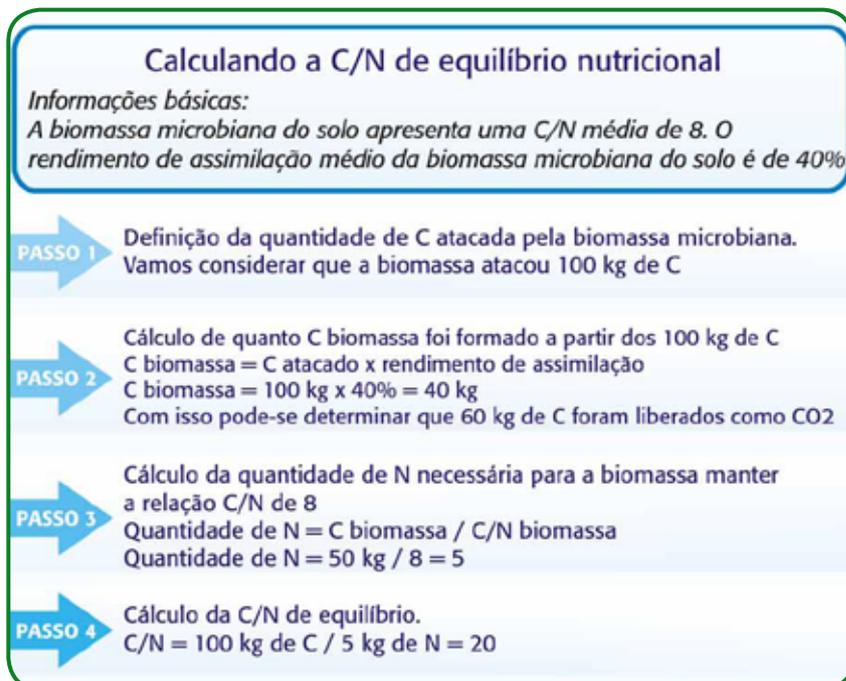
carbonado resultam no aumento da biomassa microbiana e, por conseguinte, no aumento da demanda em N por parte desta população de decompositores. Alguns tipos de materiais orgânicos têm todo o N necessário aos microrganismos e, à medida que o carbono é utilizado, aquele N que sobra é liberado (mineralizado) para a solução do solo. Por outro lado, alguns materiais orgânicos não têm na sua constituição quantidade suficiente de N para atender a demanda de N dos microrganismos e, à medida que o C vai sendo consumido, todo o N disponível dos materiais é retido pelos microrganismos e mais N precisa ser retirado (imobilizado) da solução do solo.

Através dessas considerações, percebe-se que a ocorrência dos processos de mineralização ou imobilização de N durante a decomposição de materiais orgânicos, depende das quantidades disponíveis de carbono e de nitrogênio do referido material, ou seja, da sua relação C/N. Esse efeito da relação C/N sobre a mineralização/imobilização de N, ou seja, a estreita relação existente entre a dinâmica do C e do N durante a decomposição de resíduos culturais no solo é ilustrado através da Figura G.4.



**Figura G.4** Fluxos do C e do N durante a decomposição de resíduos orgânicos. Linhas pontilhadas: fluxos de C, linhas contínuas: fluxos de N. Extraído de Mary et al. (1996).

Evidenciada a importância da relação C/N dos materiais orgânicos sobre os processos opostos e simultâneos de mineralização e imobilização de N, uma questão importante a ser respondida é qual a relação C/N que devem possuir os materiais orgânicos para que haja uma equivalência entre os processos de mineralização e imobilização de N, ou seja, qual a relação C/N de equilíbrio nutricional? A resposta a essa questão é ilustrada através da Figura G.5.



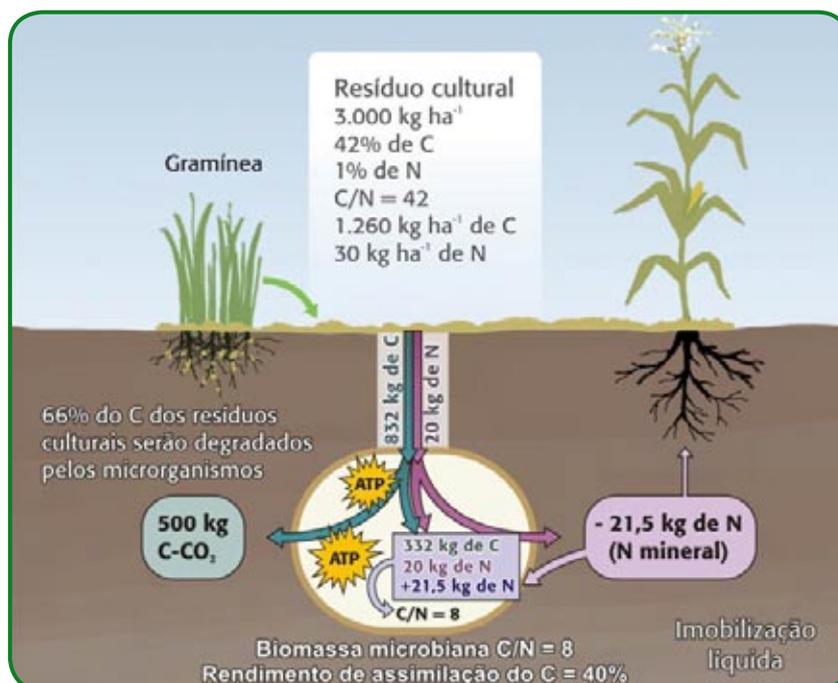
**Figura G.5** Cálculo da relação C/N de equilíbrio.

Um aspecto importante a destacar é que, embora os processos microbianos de mineralização e imobilização de N apresentem resultados opostos do ponto de vista de disponibilidade de N às plantas, os dois ocorrem simultaneamente no solo durante a decomposição de resíduos culturais. Enquanto um grupo de microrganismos pode atacar aqueles resíduos culturais ricos em N (baixa relação C/N) como, por exemplo, folhas de leguminosas, outro grupo pode atacar resíduos ricos em C e pobres em N (alta relação C/N). A ação do primeiro grupo resulta em mineralização de N enquanto a do segundo grupo em imobilização de N. Assim, se durante a decomposição dos diferentes materiais orgânicos presentes no solo o primeiro grupo for preponderante sobre o segundo ocorrerá mineralização líquida de N (aumento nos teores de N mineral). Na situação inversa ocorrerá imobilização líquida de N (diminuição nos teores de N mineral).

Esse efeito diferenciado dos tipos de resíduos culturais sobre os microrganismos do solo e, conseqüentemente, sobre a intensidade dos processos de mineralização e imobilização de N é denominado de "fator N" do resíduo. O fator N é ilustrado através das Figuras G.6 e G7 para resíduos culturais de aveia (relação C/N alta) e de ervilhaca (relação C/N baixa), respectivamente. No exemplo apresentado na Figura G.6 considerou-se uma adição ao solo de 3.000 kg ha<sup>-1</sup> de resíduos culturais de aveia com 42% de C e 1% de N (C/N de 42). Com base nessas informações pode-se estimar que a quantidade de C e N adicionada ao solo com os resíduos culturais da aveia foi de 1.260 kg ha<sup>-1</sup> de C e 30 kg ha<sup>-1</sup> de N. No solo, assumiu-se que esses resíduos

serão atacados por uma biomassa microbiana que apresenta uma C/N média de 8/1 e um rendimento de assimilação do C de 40% (40% do C degradado é usado na biossíntese). Considerou-se que a biomassa microbiana irá degradar 66% do C dos resíduos culturais (832 kg de C) e 66% do N (20 kg de N). Na célula, uma parte do C degradado é usada na produção de energia (ATP), sendo liberado como  $\text{CO}_2$  e a outra parte é usada na biossíntese celular. Considerando o rendimento de assimilação do C de 40% pode-se estimar que 332 kg de C serão usados na biossíntese e 500 kg de C sairão da célula como  $\text{CO}_2$ . Como assumiu-se que a biomassa microbiana responsável pela degradação da palha apresenta uma C/N de 8/1, significa que para cada 8 kg de C utilizados na biossíntese será necessário 1 kg de N. Como no presente exemplo, a biomassa microbiana irá usar 332 kg de C para a biossíntese, serão necessários 41,5 kg de N. Em função de que apenas 20 kg de N presente nos resíduos foram utilizados pela biomassa, a mesma necessitará de uma quantidade extra de N de 21,5 kg de N para poder utilizar todo C disponível para a biossíntese (332 kg de C). Para suprir essa necessidade suplementar de N a biomassa microbiana pode utilizar N mineral do solo, ocasionando o processo de imobilização líquida de N.

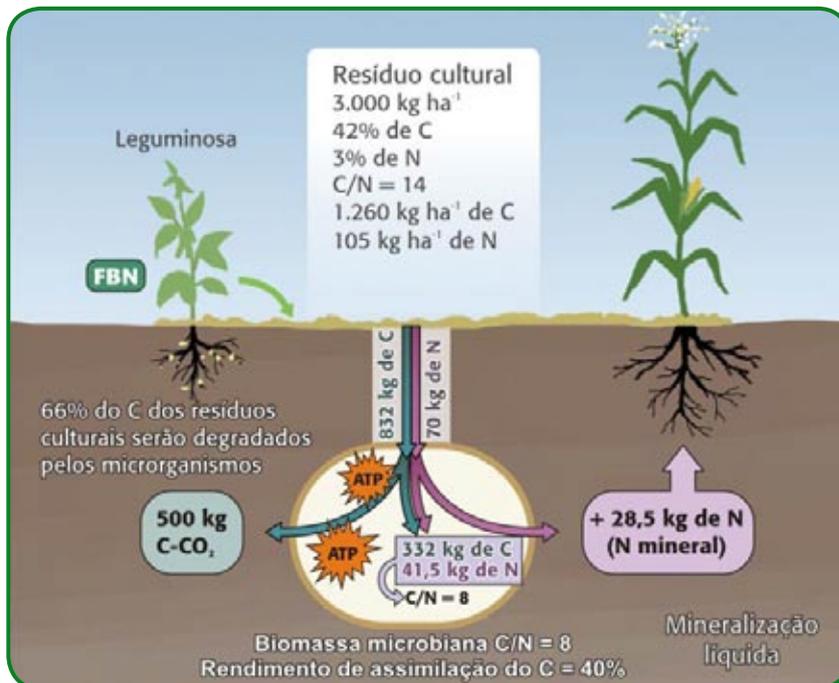
No exemplo da Figura G.7 observa-se que a degradação da palha de ervilhaca resultou em mineralização líquida de N. Isso porque ao degradar o C presente na palha os microrganismos encontraram na mesma uma quantidade de N superior àquela requerida para utilizar na biossíntese. O N excedente foi liberado pelos microrganismos para a solução do solo, aumentando a quantidade de N mineral ou seja, a disponibilidade de N para as culturas a serem semeadas após a ervilhaca.



Figuras G.6 Efeito da palha de aveia (C/N alta) sobre os processos de mineralização e imobilização de N.

Esse efeito da relação C/N verificado durante a decomposição de resíduos culturais de gramíneas é facilmente percebido em condições de campo quando após a aveia é cultivada outra gramínea como, por exemplo, o milho. Na maioria das situações o milho apresenta coloração verde claro e com baixo desenvolvimento, evidenciando a deficiência de nitrogênio no solo, resultante da imobilização microbiana de N provocada pelos resíduos culturais da aveia (fator N negativo). Os microrganismos assimilaram (imobilizaram) o nitrogênio mineral do solo para a fabricação de células.

No caso da ervilhaca, contrariamente ao observado na resteva de aveia, o milho apresenta-se de coloração verde escuro e com melhor desenvolvimento, como resultado do fator N positivo durante a decomposição microbiana dos resíduos culturais da ervilhaca, que é uma leguminosa (baixa relação C/N).



**Figuras G.7** Efeito da palha de ervilhaca (C/N baixa) sobre os processos de mineralização e imobilização de N.

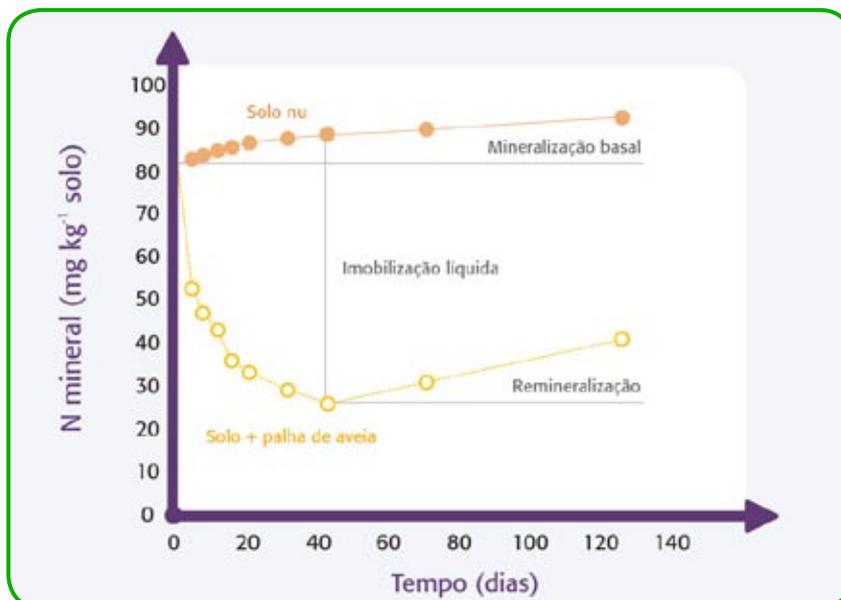
A mineralização/imobilização de N que ocorrem no solo com e sem a adição de resíduos culturais com elevada relação C/N é ilustrada pelos resultados obtidos por ROBIN et al. (1994) em um trabalho conduzido em laboratório (Figuras G.8). Os principais resultados apresentados nessa figura podem ser assim resumidos:

a. No solo sem adição de palha de trigo, a quantidade de N mineral ( $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ ) aumentou lentamente durante o período de incubação, indicando que a mineralização de N pelos microrganismos superou a imobilização, resultando em mineralização líquida de N (aumento no teor de N mineral). Nessa situação, em que não houve adição de

palha, a população microbiana mineralizou o N contido na matéria orgânica do solo no processo denominado de **mineralização basal**. Esse processo é observado em condições de campo naquelas áreas que não receberam adições recentes de materiais orgânicos. A baixa disponibilidade de C limita a atividade da população microbiana de heterotróficos, resultando em mineralização líquida de N.

**b.** A adição de palha de trigo com relação C/N de 130/1 provocou a rápida diminuição da quantidade de N mineral no solo, cujo valor mínimo foi obtido aos 40 dias. Essa diminuição do N mineral ocorreu pelo fato de os microrganismos terem assimilado N mineral do solo para poder utilizar o C e a energia da palha de trigo. Portanto, a imobilização microbiana de N superou a mineralização, caracterizando o processo de imobilização líquida de N. Isso ocorreu até os 40 dias quando a mineralização começou a superar a imobilização e o N mineral do solo voltou a aumentar. Esse comportamento se deve à diminuição do C e da energia disponíveis na palha o que provocou a morte de parte da biomassa microbiana, a qual sofreu decomposição pela biomassa microbiana remanescente. O N orgânico imobilizado inicialmente pelos microrganismos antes de sua morte foi novamente convertido em N mineral durante a sua decomposição. Esse processo é denominado de **remineralização**.

**c.** A imobilização consiste na retenção temporária do N na forma orgânica, já que o N é novamente mineralizado (remineralização). Todavia, percebe-se que as cinéticas da imobilização e da remineralização são distintas. Enquanto a imobilização é rápida, a remineralização é lenta e parcial. Isso ocorre porque parte do N mineral que é liberado do corpo dos microrganismos em decomposição é novamente assimilado por outros microrganismos passando para a forma orgânica. Esse processo em que o N transita entre a população microbiana viva e morta, alternativamente como N mineral e N orgânico, é denominado de **reciclagem microbiana**. Do ponto de vista prático, isso significa que apenas uma parte do N imobilizado será remineralizado e a uma taxa bem menor do que a da imobilização. Alguns resultados evidenciam que nos primeiros três meses cerca de apenas 15% do N imobilizado é remineralizado. Após dois anos esse valor pode aumentar para 40%.



**Figura G.8** Evolução dos teores de N mineral em um solo incubado a 15°C com e sem a adição de palha de trigo. Extraído de ROBIN et al. (1994).

### 2.1.2 Microrganismos e mecanismos bioquímicos envolvidos

A decomposição dos materiais orgânicos e a mineralização/imobilização do N que a acompanham são processos chaves no ciclo interno do N no solo. Eles estão também entre os mais complexos. Isto porque a fonte de carbono e energia é uma mistura heterogênea de compostos com diferenças na relação C/N, variando desde resíduos culturais recentemente adicionados ao solo até substâncias húmicas, resistentes à decomposição. A biomassa microbiana, o agente ativo dessa decomposição, é também uma mistura de microrganismos com necessidades metabólicas variadas.

Os processos de mineralização e imobilização de N são conduzidos por uma grande diversidade de grupos microbianos, incluindo bactérias e fungos, tanto aeróbicos quanto anaeróbicos. A fauna do solo também tem atuação importante nos dois processos participando direta e indiretamente de ambos. Os organismos da fauna são responsáveis por grande parte da decomposição inicial dos resíduos orgânicos, fracionando-os em unidades menores, o que facilita o ataque da população microbiana. Além disso, eles se alimentam de microrganismos podendo regular as populações de bactérias e fungos e podem criar ou modificar habitats para uma ampla gama de organismos. Como exemplo dessa ação da fauna pode-se citar as minhocas que criam galerias no solo, melhorando a aeração e o contato dos microrganismos com os resíduos culturais, e os térmitas (cupins) que trituram os tecidos vegetais mais lenhosos, facilitando a sua decomposição posterior pelos microrganismos.

Os processos de mineralização e imobilização de N estão amplamente distribuídos nos diferentes ecossistemas da natureza. Todos os organismos heterotróficos consomem materiais orgânicos para a obtenção de C e energia, mineralizando ou imobilizando N como um subproduto do seu metabolismo. O impacto da população microbiana sobre a intensidade desses dois processos depende da relação C/N dos microrganismos e do **rendimento de assimilação** do carbono do substrato por parte dos mesmos. O rendimento de assimilação do C, o qual varia em função do tipo de substrato e do grupo microbiano, representa a quantidade de C do substrato que é convertida em biomassa microbiana. Ou seja, durante a decomposição, parte do carbono do substrato é assimilada pelos microrganismos para a síntese celular e parte é oxidada até  $\text{CO}_2$  para a produção da energia necessária à biossíntese. Quanto mais eficiente for um microrganismo (maior rendimento de assimilação) maior será a proporção de C assimilado, em relação ao C oxidado até  $\text{CO}_2$ . Quanto à relação C/N dos microrganismos, ela é maior nos fungos do que nas bactérias.

Do ponto de vista dos substratos, aqueles mais facilmente decomponíveis, como a glicose, podem proporcionar um rendimento de assimilação do C tão elevado quanto 0,6% (60% do C do substrato decomposto é transformado em células microbianas e 40% em  $\text{CO}_2$ ) enquanto naqueles substratos de mais difícil decomposição (recalcitrantes), como a lignina, o rendimento de assimilação pode ser de apenas 0,1 (10%). Para a média dos resíduos culturais das principais culturas produtoras de grãos ou adubos verdes, o rendimento de assimilação do C pelos microrganismos fica próximo de 0,4. Todavia, os próprios grupos de microrganismos variam entre si quanto ao rendimento de assimilação do C, com o grupo dos fungos sendo mais eficiente do que o das bactérias.

Essas diferenças na relação C/N e do rendimento de assimilação do C entre microrganismos têm a seguinte repercussão prática sobre os processos de mineralização e imobilização de N: Se durante a decomposição de resíduos culturais houver predomínio de fungos em relação a bactérias, haverá menor necessidade microbiana de N, ocorrendo maior possibilidade de aumento na disponibilidade de N no solo via mineralização (amonificação). Da mesma maneira, em função da maior relação c/N dos fungos eles irão predominar na decomposição de substratos pobres em N.

Do ponto de vista bioquímico, a conversão de compostos orgânicos contendo N para amônia (amonificação) é mediada por enzimas produzidas por macro e microrganismos do solo. A produção de amônio envolve diversas etapas. Inicialmente, enzimas extracelulares como, por exemplo, proteinases, proteases e peptidases, convertem

polímeros em monômeros os quais passam pela membrana celular e são metabolizados, resultando na produção de amônia, que é liberado pela célula para a solução do solo.

No interior das células, a produção de amônio ocorre através da ação de diversas enzimas intracelulares. Tomando como exemplo os aminoácidos, que são os monômeros que entram na célula após a quebra das proteínas pela ação de enzimas extracelulares denominadas de proteinases, podem ser encontrados dois tipos de grupos funcionais contendo N: a amina ( $\text{NH}_2\text{-CR}_3$ ) e a amida ( $\text{NH}_2\text{-CR=O}$ ). O N amínico é liberado primeiramente por enzimas denominadas aminoácido desidrogenases e aminoácido oxidases no processo denominado de **desaminação**.

Na maioria das situações, a necessidade dos microrganismos heterotróficos em carbono e energia dirige a degradação microbiana de aminoácidos, amino-açúcares e ácidos nucléicos. Então, o amônio liberado desses compostos orgânicos, como resultado da amonificação, pode ser considerado um subproduto do catabolismo.

Quanto à imobilização de N, os microrganismos podem assimilar as formas inorgânicas de amônio e de nitrato para a síntese dos diferentes compostos nitrogenados orgânicos que constituem a célula. Para assimilação do nitrato e a sua redução para N orgânico na célula é necessária inicialmente a ação da enzima nitrato redutase. Quanto à assimilação de amônio, os microrganismos e outros organismos o fazem através de duas rotas principais. Em concentrações relativamente elevadas de amônio a sua assimilação ocorre através do sistema glutamato desidrogenase. Em baixas concentrações de amônio, como ocorre na maioria dos solos, a sua assimilação é operada pelo sistema GOGAT (glutamina sintetase-glutamato sintase) o qual é bastante complexo.

### 2.1.3 Fatores de controle

Os fatores abióticos que controlam a atividade da população microbiana de heterotróficos, como pH, temperatura e umidade do solo também afetam diretamente os processos de mineralização e imobilização de N. De forma similar à respiração microbiana, as taxas de mineralização e imobilização de N aumentam com a temperatura e atingem valores máximos em conteúdos intermediários de água no solo. Todavia, taxas significativas de ambos os processos podem ser observadas mesmo em condições extremas de umidade e temperatura.

Na maioria dos solos, a quantidade e a qualidade dos resíduos orgânicos são os principais fatores de controle das taxas e da cinética dos processos de mineralização e imobilização de N. Sob condições

favoráveis de temperatura e de umidade, a adição de quantidades elevadas de materiais orgânicos aumenta a atividade microbiana conduzindo a taxas potencialmente elevadas de mineralização e imobilização de N. A predominância de um ou outro processo dependerá do tipo de substrato e da composição da população microbiana de decompositores.

Quanto à qualidade do substrato, a disponibilidade de C em relação ao N disponível (relação C/N) é o principal fator que fornece um bom indicativo sobre a predominância de mineralização ou imobilização de N durante a fase inicial de decomposição. Geralmente, em materiais com relação C/N próxima a 25 ocorre um equilíbrio entre os processos de mineralização ou imobilização de N, não ocorrendo variações significativas nos teores de N mineral do solo. Como regra geral, materiais com relação C/N menor que 25/1 estimulam a mineralização enquanto aqueles com relação C/N maior de 25/1 estimulam a imobilização de N.

Embora na maioria dos materiais orgânicos o teor de carbono seja relativamente constante e próximo de 42%, a variação no teor de N dos mesmos resulta em ampla variação da relação C/N, conforme ilustrado na Figuras G.9

MATERIAL ORGÂNICO	RELAÇÃO C:N
Matéria orgânica do solo	12:1
Biomassa microbiana	8:1
Aveia no florescimento	36:1
Ervilhaca	14:1
Nabo	30:1
Aveia + ervilhaca	22:1
Resíduos de colheita do girassol	48:1
Resíduos de colheita do milho	80:1
Resíduos de colheita da soja	63:1
Folha de soja	15:1
Dejetos líquidos de suínos	5:1
Lodo de esgoto	9:1
Casca de arroz	83:1
Maravalha	212:1

Figura G.9 Relação C/N de diversos materiais orgânicos.

A partir dos resultados da Figura G.9, considere o efeito esperado sobre os processos de mineralização de N ao adicionar ao solo, por exemplo, palha de ervilhaca. Com a adição desse material com relação C/N de 14/1 os microrganismos não terão dificuldade em obter N e o processo de mineralização predomina sobre a imobilização, aumentando no solo a disponibilidade de N às plantas. Por isso, é freqüente o uso de leguminosas como adubos verdes. Por outro lado, se for adicionada palha de milho ao solo, com C/N de 80/1 os microrganismos serão estimulados pelo C e energia da palha, porém não podem

degradá-la sem N adicional já que o N da palha não é suficiente para permitir a síntese de proteínas pelos microrganismos. Logo, os microrganismos deverão imobilizar N do solo, resultando na diminuição da quantidade de N disponível às plantas.

O balanço entre os processos de mineralização e imobilização de N no solo não é influenciado apenas pelos fatores ambientais e pela relação C/N dos materiais orgânicos e dos microrganismos, mas também por fatores bióticos. O principal fator biótico refere-se ao papel de alguns integrantes da micro e mesofauna como predadores dos decompositores primários, que são as bactérias e os fungos. É referenciado que cerca de 30% da mineralização líquida de N que ocorre nos estágios iniciais de decomposição de alguns materiais orgânicos se deve à ação predatória exercida por protozoários e nematóides. Como os microrganismos possuem baixa relação C/N, ocorre um excesso de N no metabolismo dos predadores, resultando em liberação de amônio ao solo, ou seja, em mineralização líquida de N.

#### **2.1.4 Importância agrícola e ambiental**

Os processos de mineralização e imobilização são de grande relevância tanto para a produtividade das culturas como para a qualidade do ambiente. Conforme mencionado anteriormente, o balanço entre mineralização e imobilização de N é controlado principalmente pela relação C/N dos substratos. Assim, conforme ilustra a Figura G.8, quando resíduos com relação C/N elevada são adicionados ao solo estabelece-se uma competição entre plantas e microrganismos pelo N disponível do solo, resultando, na maioria dos casos, em deficiência de N e prejuízo na produtividade das culturas. Para compensar essa deficiência em N, provocada pela imobilização microbiana, pode-se lançar mão da aplicação de fertilizantes nitrogenados, os quais apresentam preços elevados e podem aumentar significativamente os custos de produção.

Por outro lado, quando são adicionados ao solo resíduos orgânicos com relação C/N muito baixa como, por exemplo, esterco e resíduos culturais de algumas leguminosas, a mineralização de N é o processo dominante e o amônio aparece rapidamente no solo, onde estará em equilíbrio com a forma gasosa de amônia. Em condições de pH alcalino, umidade baixa e temperaturas elevadas as perdas de N por volatilização de amônia podem ser significativas, representando poluição ambiental provocada pela amônia e diminuição do potencial de fornecimento de N às culturas comerciais pelos resíduos orgânicos. Além disso, conforme será abordado a seguir nesta unidade, outro destino da amônia no solo é a sua oxidação para nitrato através do processo

microbiano de nitrificação. Estudos realizados na UFSM demonstram que esse processo é rápido. Portanto o  $\text{NO}_3^-$ , altamente instável no ambiente, poderá aparecer precocemente no solo após a aplicação dos resíduos orgânicos quando ainda não há uma cultura para absorvê-lo. Isso pode conduzir a perdas importantes de N por lixiviação de  $\text{NO}_3^-$  e por emissões gasosas via desnitrificação o que resulta, também, em prejuízos econômicos pela perda de N e ambientais pela possibilidade de contaminação da água por  $\text{NO}_3^-$  e do ar pelo óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ )

Além da relação C/N dos resíduos culturais o manejo adotado com os mesmos também tem implicações importantes sobre os processos de mineralização e imobilização de N. Para aqueles resíduos com elevada relação C/N a sua incorporação ao solo estimula a imobilização de N. Isso por que, além de melhorar o contato do solo com os resíduos, a incorporação facilita o deslocamento do N mineral até os sítios de decomposição onde a demanda em N dos microrganismos heterotróficos é elevada. Por outro lado, naqueles resíduos culturais com baixa relação C/N, a liberação de N (mineralização) é rápida mesmo quando os mesmos são deixados na superfície do solo, como no sistema plantio direto.

A partir dessas considerações depreende-se que, do ponto de vista agrícola e ambiental, tanto a imobilização líquida de N, provocada por materiais orgânicos com relação C/N muito elevada, quanto a rápida mineralização líquida de N, provocada por materiais orgânicos de relação C/N muito baixa, são prejudiciais, tanto do ponto de vista agrícola (econômico) quanto ambiental. Os maiores desafios da pesquisa consistem em buscar espécies de plantas ou combinações (consórcios) de espécies cuja relação C/N de seus resíduos culturais possibilite a mineralização líquida gradual do N pelos microrganismos, além de buscar sistemas de preparo do solo para manejar tais resíduos. O objetivo central é que o N dos resíduos culturais seja liberado em sincronia com a demanda em N das culturas comerciais, com benefício à produtividade destas e com riscos mínimos de poluição do ambiente.

## 2.2 Nitrificação

### 2.2.1 Definição

A nitrificação pode ser definida como a oxidação microbiana de formas reduzidas de N mineral até nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ). Na nitrificação autotrófica, provavelmente a dominante na maioria dos solos, as bactérias nitrificadoras retiram energia da amônia ( $\text{NH}_3$ ) oxidando-a até nitrato em duas etapas, sendo a primeira de amônia até nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) e a segunda de  $\text{NO}_2^-$  até nitrato.

### 2.2.2 Microrganismos e mecanismos bioquímicos envolvidos

Embora a nitrificação autotrófica, realizada por bactérias, tenha sido descoberta primeiro, sabe-se atualmente que microrganismos heterotróficos envolvendo bactérias de alguns gêneros (ex., *Alcaligenes*, *Streptomyces* e *Pseudomonas*) e fungos (ex., *Aspergillus flavus*) também podem oxidar amônio e N orgânico até  $\text{NO}_2^-$  e  $\text{NO}_3^-$ . Todavia, o processo autotrófico parece ser dominante na maioria dos solos e, por isso, ele será enfocado aqui.

A nitrificação autotrófica é um processo que ocorre em duas etapas, realizadas por grupos separados de bactérias. O primeiro grupo de bactérias, denominadas de oxidantes de amônia, convertem amônia a nitrito. O nitrito é então oxidado a nitrato pelas bactérias oxidantes de nitrito.

#### Oxidação de amônia

O primeiro passo da nitrificação, que consiste na oxidação de amônia a nitrito, ocorre em diversas etapas e é realizado por bactérias de cinco gêneros (*Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus* e *Nitrosovibrio*) sendo o gênero *Nitrosomonas* o mais estudado e melhor caracterizado, embora o gênero *Nitrosolobus* possa predominar em alguns solos e o gênero *Nitrospira* está associado à oxidação de amônia em solos ácidos.

A reação geral para a conversão de amônia até nitrito, a qual ocorre em etapas e é às vezes denominada de nitrificação, é a seguinte:



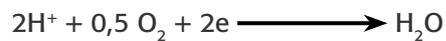
O primeiro passo na oxidação de amônia até nitrito, não está acoplado à produção de energia (síntese de ATP). Ele é mediado pela enzima amônia mono-oxigenase e consiste na conversão de  $\text{NH}_3$  até hidroxilamina ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ):



Na seqüência do processo oxidativo, a hidroxilamina é convertida enzimaticamente (hidroxilamina óxidoredutase), através de vários passos ainda indefinidos, até nitrito, com a seguinte equação geral:



Dois dos 4 elétrons ( $\text{e}^-$ ) dessa última reação são utilizados na cadeia de transporte de elétrons gerando energia (ATP) para o crescimento das bactérias. Através de uma oxidase terminal os  $\text{e}^-$  são entregues ao  $\text{O}_2$  que reage com  $\text{H}^+$  produzindo  $\text{H}_2\text{O}$  conforme a seguinte reação:



### Oxidação de nitrito ( $\text{NO}_2^-$ )

Na maioria dos solos o  $\text{NO}_2^-$  produzido pelas bactérias oxidantes de amônia não se acumula (sendo) rapidamente oxidado até nitrato no segundo passo da nitrificação, conduzido pelas bactérias oxidantes de nitrito pertencentes aos gêneros *Nitrobacter*, *Nitrospina*, *Nitrococcus* e *Nitrospira*. O gênero *Nitrobacter* é o mais estudado e o passo final da nitrificação, que consiste na oxidação de  $\text{NO}_2^-$  a  $\text{NO}_3^-$ , também denominado de nitratação, é mediado pela enzima nitrito óxidoredutase:



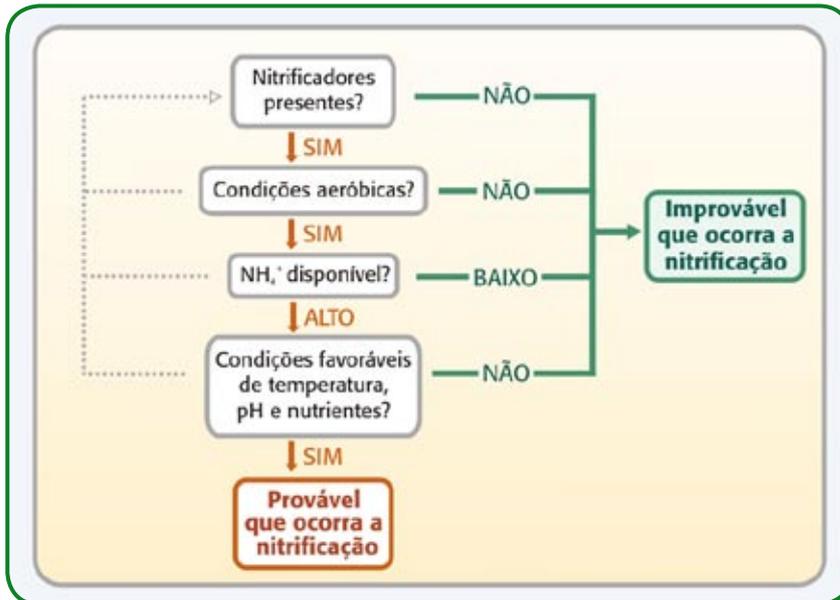
Os dois elétrons da reação acima são transferidos à cadeia transportadora de elétrons para a produção de ATP via fosforilação oxidativa, usando o  $\text{O}_2$  como acceptor terminal de  $\text{e}^-$ .

Através das reações de oxidação da amônia e do nitrito percebe-se que a nitrificação é um processo estritamente aeróbico. Por isso, os materiais orgânicos armazenados em ambientes anaeróbicos como, por exemplo, os dejetos de animais armazenados em esterqueiras, acumulam N na forma amoniacal e não possuem  $\text{NO}_2^-$  ou  $\text{NO}_3^-$  em sua composição.

Pelo fato de as bactérias nitrificadoras oxidarem substratos que não contêm carbono, elas derivam o C necessário à biossíntese do  $\text{CO}_2$  atmosférico e, por isso, são classificadas como autotróficas. Todavia, para fixar o  $\text{CO}_2$  atmosférico através do ciclo de Calvin e convertê-lo em material celular é necessária energia (ATP). Cerca de 80% da energia produzida durante a nitrificação é empregada nesse processo de fixação do  $\text{CO}_2$ , o que torna as bactérias nitrificadoras relativamente pouco eficientes do ponto de vista de eficiência no seu crescimento. Por isso, em muitos solos, essas bactérias são pouco hábeis em competir com os microrganismos heterotróficos e com as plantas pelo  $\text{NH}_4^+$  disponível.

### 2.2.3 Fatores de controle

Diversos fatores, agindo de forma interativa, controlam a nitrificação no solo. A importância relativa desses fatores é ilustrada através da Figuras G.10, em que os fatores mais importantes, ou seja, aqueles que mais freqüentemente limitam a taxa de nitrificação, na parte superior da Figuras G.10.



**Figuras G.10** Fatores que regulam a nitrificação no solo.

Através da Figuras G.10 observa-se que, por ordem de hierarquia, os principais fatores de controle da nitrificação no solo são a presença de bactérias com capacidade de realizar a oxidação de amônia até nitrato, a presença de  $O_2$ , a disponibilidade de amônio e condições abióticas (temperatura, umidade, pH, nutrientes, etc.) favoráveis. Se todos esses fatores forem favoráveis, a nitrificação é possível; se qualquer um dos fatores for desfavorável, a ocorrência da nitrificação, em taxas significativas, é pouco provável. Isso decorre do fato desses fatores agirem de forma interativa, ou seja, os fatores são multiplicativos.

As linhas pontilhadas da Figuras G.10 sugerem que a quantidade de substrato ( $NH_4^+$  disponível) e as condições abióticas são os fatores que exercem maior efeito limitante sobre a população de bactérias nitrificadoras. A atenuação da limitação imposta por esses fatores aumenta a taxa de crescimento e, portanto, a população dos nitrificadores e as taxas de transformação de amônia para nitrato (nitrificação).

A seguir será feita uma breve descrição sobre os principais fatores controladores da nitrificação.

- **População de nitrificadores:** Para que a nitrificação ocorra, microrganismos nitrificadores heterotróficos e, principalmente, autotróficos devem estar presentes no solo. Tais nitrificadores são habitantes co-

muns da maioria dos solos, embora possam existir em populações muito baixas para que a nitrificação ocorra em taxas significativas. Solos sem histórico de uso de fertilizantes nitrogenados podem conter baixa população de nitrificadores, na ordem de  $10^3$  a  $10^4$  nitrificadores por grama de solo. Esse número pode aumentar para  $10^6$  por grama de solo em solos com o uso freqüente de fertilizantes nitrogenados, tanto minerais quanto orgânicos. Portanto, é de se esperar que em áreas fertilizadas as taxas de nitrificação sejam favorecidas.

- **Aeração do solo:** Uma vez que os microrganismos nitrificadores são quase que exclusivamente aeróbicos, os solos devem ter concentrações de  $O_2$  suficientemente elevadas para que a nitrificação ocorra. O nível de  $O_2$  é ótimo quando a umidade do solo estiver próxima da capacidade de campo. Apesar disso, mesmo em ambientes alagados, como as lavouras de arroz, existe uma pequena camada aeróbica (oxidada) próxima das raízes e na interface água/sedimentos onde a nitrificação pode ocorrer, mesmo que em taxas baixas.

- **Disponibilidade de substrato ( $NH_4^+$ ):** Desde que condições aeróbicas existam, o outro fator individual mais importante sobre a nitrificação na maioria dos solos é a disponibilidade de amônio. Quando a decomposição de materiais orgânicos for baixa e, então, a mineralização de N também for baixa, ou onde a imobilização microbiana de  $NH_4^+$  e a absorção de  $NH_4^+$  pelas plantas forem elevadas, as taxas de nitrificação serão reduzidas. Nessas situações, as baixas concentrações do substrato  $NH_4^+$  irão limitar o crescimento dos nitrificadores e, por conseqüência as taxas de nitrificação. Assim, logo após a adição ao solo de resíduos culturais com elevada relação C/N poderá ocorrer limitação da nitrificação em função da baixa disponibilidade de  $NH_4^+$ , decorrente da imobilização pela população microbiana de heterotróficos. Por outro lado, a nitrificação será favorecida pela adoção de qualquer prática agrícola que aumente a disponibilidade de  $NH_4^+$  no solo como, por exemplo, o preparo convencional do solo com aração e gradagens, o uso de dejetos de animais e a fertilização com uréia ou sulfato de amônio.

- **pH e outros fatores abióticos:** A atividade dos nitrificadores no solo é potencialmente afetada por fatores abióticos como temperatura, umidade, salinidade e disponibilidade de outros nutrientes que não o N. Em função da sua baixa taxa de crescimento, motivada pelo seu metabolismo relativamente eficiente, os nitrificadores são relativamente mais sensíveis às condições adversas do que os heterotróficos do solo, especialmente às baixas temperaturas. Quanto ao pH do solo, foi admitido por muito tempo que o processo de nitrificação era inibido em solos ácidos. Todavia, resultados mais recentes indicam

que a amônia pode ser oxidada a taxas elevadas mesmo em solos de florestas com pH inferior a 4,5. As bases fisiológicas para explicar isso ainda não são bem conhecidas.

#### 2.2.4 Importância agrícola e ambiental

A presença e a atividade dos microrganismos nitrificadores afetam substancialmente o funcionamento de um ecossistema pelas seguintes razões principais:

a. Embora algum  $\text{NO}_3^-$  possa entrar nos ecossistemas com a aplicação de fertilizantes como, por exemplo, o nitrato de potássio ( $\text{KNO}_3$ ), a maior parte de  $\text{NO}_3^-$  é produzida no solo via nitrificação. Conforme já discutido anteriormente, em função do  $\text{NO}_3^-$  ser um ânion ele é mais móvel do que o amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) e, por isso, pode ser transportado pela água do solo para além da zona de ação do sistema radicular das plantas, quando as precipitações excedem a evapotranspiração. Dependendo da sua intensidade, a lixiviação do  $\text{NO}_3^-$  pode conduzir à poluição das águas do lençol freático já que a água potável não deve conter mais do que  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{N-NO}_3^-$ .

b. Quando  $\text{NO}_3^-$  lixívia no perfil do solo ele deve ser acompanhado por uma quantidade equivalente de cátions, como potássio ( $\text{K}^+$ ) e cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) para manter o balanço de cargas. Com isso, diminui a saturação de bases do solo e aumenta a acidez de troca, ambos prejudiciais à fertilidade do solo;

c. Além da possibilidade de contaminação das águas subsuperficiais, o  $\text{NO}_3^-$  pode ainda ser transportado aos mananciais de superfície. Esse processo de enriquecimento da água com nutrientes, denominado de eutroficação, pode conduzir ao desenvolvimento excessivo de algas e algumas plantas, comprometendo a ecologia do sistema.

d. Sob condições de aeração deficiente do solo (baixo  $\text{O}_2$ ) o  $\text{NO}_3^-$  está sujeito ao processo de desnitrificação, em que bactérias convertem o  $\text{NO}_3^-$  em formas gasosas de N, entre as quais o óxido nitroso que é um gás de efeito estufa. Esse processo biológico, que será discutido com mais detalhes a seguir representa, portanto, perda de N e poluição atmosférica;

e. A nitrificação é uma das principais fontes de acidez em muitos solos agrícolas, uma vez que cada mol de amônia oxidada libera um mol de  $\text{H}^+$ . Isso tem múltiplos efeitos sobre a qualidade dos ecossistemas. No solo, por exemplo, a diminuição do pH aumenta a toxidez de alumínio às plantas.

As plantas podem assimilar tanto  $\text{NH}_4^+$  quanto  $\text{NO}_3^-$ , para a síntese de compostos nitrogenados orgânicos, embora muitas plantas

preferam  $\text{NO}_3^-$ . Assim, considerando os vários problemas econômicos e ambientais resultantes da presença de  $\text{NO}_3^-$  no solo, pode-se dizer que a nitrificação é um processo prejudicial, quando ocorre em taxas elevadas. Todavia, é um processo microbiano inevitável já que as bactérias nitrificadoras existem em praticamente todos os ambientes da natureza.

Uma das maneiras de controlar a atividade dos nitrificadores no solo, reduzindo a taxa de oxidação de  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NO}_3^-$  após a aplicação de fertilizantes nitrogenados orgânicos ou minerais, consiste na utilização de produtos inibidores da nitrificação. Produtos comerciais como nitrapirin (2-cloro-6 piridina) e DCD (dicyandiamida) são comprovadamente inibidores da nitrificação pelo fato de inibirem a síntese da enzima amônia monooxigenase, que é primeira enzima envolvida na oxidação da amônia. Apesar dessa possibilidade, o grau de sucesso com o uso dos inibidores da nitrificação é variável, o seu custo é elevado e o efeito inibitório pode ser rapidamente perdido. Por isso, o seu uso ainda é bastante limitado.

Outra estratégia para minimizar as perdas de  $\text{NO}_3^-$  do sistema solo/planta é efetuar o parcelamento dos fertilizantes nitrogenados nas culturas ao invés de utilizá-los em dose única. Com isso, busca-se sincronizar a taxa de nitrificação e o conseqüente aparecimento do  $\text{NO}_3^-$  no solo com a absorção de  $\text{NO}_3^-$  pelas culturas. Quanto mais  $\text{NO}_3^-$  permanecer livre no solo após a aplicação dos fertilizantes nitrogenados, maiores as possibilidade de perda de N e de poluição do ambiente.

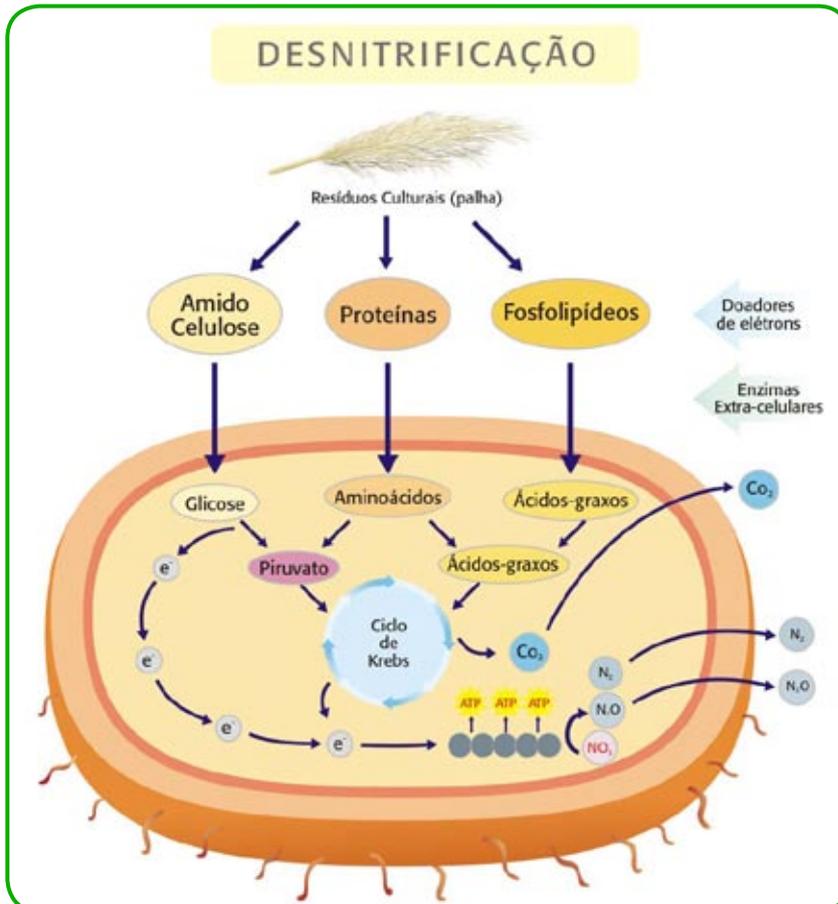
## 2.3 Desnitrificação

### 2.3.1 Definição

No metabolismo aeróbico, o oxigênio atua como receptor de elétrons no final da cadeia respiratória, para a produção de energia na forma de ATP. Esse é o principal tipo de metabolismo encontrado em microrganismos presentes na natureza e neste caso, os elétrons extraídos dos materiais orgânicos acabarão na formação de água. Algumas populações de bactérias podem utilizar o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) como receptor terminal de elétrons, em ambientes saturados ou mal drenados, onde há falta de oxigênio. Nesse caso há a formação de formas mais reduzidas e voláteis de nitrogênio, principalmente o óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) e o gás nitrogênio ( $\text{N}_2$ ). Este processo de respiração anaeróbica é denominado agronomicamente de desnitrificação e em certos sistemas de produção, pode representar perdas expressivas de nitrato do solo, que poderia estar sendo absorvido pela planta.

O processo microbiano de desnitrificação é acoplado à produção de energia (ATP) na cadeia de transporte de elétrons, conforme ilus-

trado na Figura G.11. É um exemplo de respiração anaeróbica em que é utilizado um receptor terminal alternativo de elétrons, diferente do  $O_2$ . A equação geral da desnitrificação é a seguinte:



**Figura G.11** Esquema ilustrando a produção de ATP na célula bacteriana durante o processo de desnitrificação.

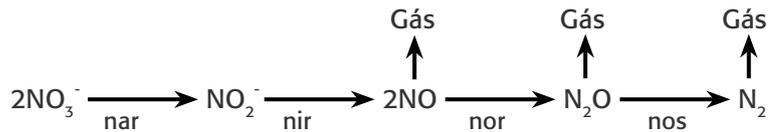
### 2.3.2 Microrganismos e mecanismos bioquímicos envolvidos

Uma grande diversidade de bactérias, principalmente heterotróficas, pode desnitrificar, ou seja, utilizar o  $NO_3^-$  no lugar do  $O_2$  como receptor terminal de elétrons durante a respiração. Uma vez que o  $NO_3^-$  é um receptor de elétrons menos eficiente do que o  $O_2$ , a maioria das bactérias somente desnitrificam quando o  $O_2$  não estiver disponível. Portanto a maioria das bactérias desnitrificadoras são anaeróbicas facultativas.

De 0,1 a 5% da população total de bactérias do solo tem a capacidade de desnitrificar, o que corresponde a cerca de 50 gêneros e 125 espécies. Todavia, no solo predominam bactérias desnitrificadoras de

cinco gêneros (*Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Agrobacterium* e *Flavobacterium*).

As bactérias desnitrificam para gerar ATP por fosforilação oxidativa através do sistema de citocromos (cadeia de transporte de elétrons). A seqüência bioquímica da redução de  $\text{NO}_3^-$  para  $\text{N}_2$ , a qual envolve 4 passos redutivos, é a seguinte:



Cada passo da desnitrificação é mediado por uma enzima específica. A enzima nitrato redutase (nar) converte nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) em nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ). A redução de nitrito para óxido nítrico (NO) é feita através da enzima nitrito redutase (nir) enquanto o óxido nítrico é reduzido até óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) pela ação da enzima óxido nítrico redutase (nor). Na última etapa do processo, a enzima óxido nitroso redutase (nos) transforma o óxido nitroso em  $\text{N}_2$ .

Uma particularidade de todas essas enzimas é que, em maior ou menor grau, todas elas têm a sua síntese e atividade inibidas pelo  $\text{O}_2$ . Por isso, a desnitrificação é restrita a ambientes deficientes em  $\text{O}_2$ .

Em cada passo da desnitrificação os compostos intermediários do processo podem ser emitidos das bactérias para o ambiente solo. Isso torna os desnitrificadores uma fonte de  $\text{NO}_2^-$  no solo, além dos gases atmosféricos NO e  $\text{N}_2\text{O}$ .

### 2.3.3 Fatores de controle

Assim como mencionado anteriormente para a nitrificação, os fatores que regulam a desnitrificação também podem ser ordenados hierarquicamente, dos mais importantes para os menos importantes (Figura G.12). A presença de desnitrificadores não aparece entre os fatores de controle da desnitrificação uma vez que uma grande diversidade das bactérias do solo, que existe normalmente como heterotróficas aeróbicas, pode substituir o  $\text{O}_2$  pelo  $\text{NO}_3^-$  como receptor terminal de elétrons quando o  $\text{O}_2$  torna-se indisponível.



Figura G.12 Escala de fatores que controlam o processo de desnitrificação no solo.

Na maioria dos solos em condições de campo a criação de condições anaeróbicas, ou seja, a deficiência do O<sub>2</sub> constitui o principal fator controlador da desnitrificação, seguido pela disponibilidade de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e de C. O efeito inibidor do O<sub>2</sub> se deve ao fato dele regular a síntese enzimática e a atividade das enzimas envolvidas na desnitrificação. Quanto ao NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, ele atua como receptor terminal de elétrons e sua presença no solo resulta, principalmente, da nitrificação e da aplicação de fertilizantes minerais contendo NO<sub>3</sub><sup>-</sup> na sua formulação. A disponibilidade de C é importante porque a maioria dos desnitrificadores são microrganismos heterotróficos que requerem compostos contendo C como doadores de elétrons.

Condições anaeróbicas são encontradas em solos saturados ou alagados como, por exemplo, em lavouras de arroz sob inundação. Todavia, nessa situação as taxas de desnitrificação são frequentemente limitadas pelos baixos teores de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> uma vez que, conforme visto anteriormente, a nitrificação que é o principal processo de produção de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> no solo é altamente dependente de O<sub>2</sub>. Assim, a desnitrificação nessas áreas estará limitada a áreas próximas à rizosfera do arroz e à interface água-sedimentos que são locais onde há suficiente O<sub>2</sub>. Nesses locais as bactérias nitrificadoras oxidam NH<sub>4</sub><sup>+</sup> até NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, o qual pode difundir-se até regiões anaeróbicas e ser reduzido a formas gasosas de N por bactérias desnitrificadoras.

Apenas por volta de 1950 foi descoberta a ocorrência e a importância da desnitrificação em solos não saturados. Até então, se atribuía importância ao processo apenas em ecossistemas aquáticos e solos alagados. Em solos não saturados como, por exemplo, nos cultivos de sequeiro de milho e soja, a desnitrificação poderá ocorrer de forma localizada, em microsítios de anaerobiose. Tais microsítios podem ser gerados no centro dos agregados do solo, em regiões do solo contendo resíduos vegetais em decomposição, onde a atividade dos microrganismos heterotróficos pode consumir o  $O_2$  disponível e na rizosfera das plantas, onde a atividade microbiana também é elevada.

Nessa condição de solos não saturados, que corresponde a maior parte das áreas destinadas à agricultura, a desnitrificação é limitada, principalmente, pela disponibilidade de carbono. A adição de uma fonte de C nessas áreas pode estimular a desnitrificação tanto diretamente, através do fornecimento de doadores de elétrons (energia) aos desnitrificadores, como indiretamente pelo fato de estimular o consumo de  $O_2$  pelos microrganismos heterotróficos.

#### 2.3.4 Importância agrícola e ambiental

Em sistemas agrícolas é desejável minimizar a desnitrificação, pois ela representa perda de  $NO_3^-$  do solo e, portanto, diminuição da disponibilidade de N às plantas. Resultados de pesquisa indicam que as perdas de nitrogênio por desnitrificação em solos agrícolas variam em função dos teores de umidade do solo e atingem, em média, de 10 a 30% do N aplicado.

Alguns estudos evidenciam que o sistema plantio direto, pode aumentar o potencial de perdas de N por desnitrificação. Isso por que o sistema cria condições potencialmente favoráveis à ação das bactérias desnitrificadoras quais sejam: aumento do adensamento e da microporosidade do solo, o que, aliado ao aumento na retenção de umidade, pode reduzir a disponibilidade de  $O_2$  no solo. Além disso, no plantio direto acontece o acúmulo de materiais orgânicos na superfície do solo, o que aumenta a disponibilidade de C e energia às bactérias desnitrificadoras. Há relatos de aumento de 170% na população de bactérias desnitrificadoras nessa camada superficial do solo, indicando que populações de bactérias desnitrificadoras podem atuar seletivamente no plantio direto. Todavia, outros estudos não confirmaram esses resultados, indicando a necessidade de intensificar as pesquisas nessa área.

Do ponto de vista ambiental, a desnitrificação também traz prejuízos já que ela é a principal fonte de  $N_2O$  atmosférico, um importante gás de efeito estufa e que também afeta negativamente a camada de ozônio.

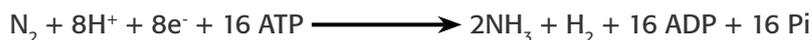
Diferentemente da nitrificação, onde a ação das bactérias nitrificadoras pode ser inibida diretamente através de produtos químicos, não existem tecnologias disponíveis para inibir a desnitrificação. O que existem são estratégias de manipulação de alguns fatores de produção para afetar indiretamente os microrganismos desnitrificadores como, por exemplo:

- a. Controlar a quantidade de água a ser empregada em culturas irrigadas para evitar condições de deficiência de  $O_2$ ;
- b. Evitar a aplicação de doses elevadas de dejetos de animais ao solo. Eles podem gerar anaerobiose por favorecer a atividade de heterotróficos, aumentar a disponibilidade de C aos desnitrificadores, além de propiciar o aparecimento de  $NO_3^-$  no solo via nitrificação;
- c. Não aplicar fertilizantes nitrogenados contendo  $NO_3^-$  na sua formulação (ex.,  $KNO_3$ ) em condições de deficiência de  $O_2$  como, por exemplo, em lavouras de arroz sob inundação.

### 3. Fixação biológica de nitrogênio (FBN)

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) e a fixação do  $CO_2$  atmosférico pela fotossíntese constituem os dois processos biológicos mais importantes da terra.

A FBN consiste na redução do  $N_2$  atmosférico a duas moléculas de amônia ( $NH_3$ ) conforme a seguinte reação:



A capacidade de realizar a FBN é exclusivamente restrita a alguns microrganismos procariotos dos domínios Archaea e Bactéria, incluindo bactérias, cianobactérias e o actinomiceto *Frankia*. Tais microrganismos, denominados de **diazotróficos**, podem existir como independentes (fixadores de vida livre) ou em associações de diferentes graus de complexidade com outros organismos.

Independentemente do sistema fixador de  $N_2$ , ele só existe graças à habilidade fisiológica de alguns procariotos em sintetizar o complexo enzimático **nitrogenase**, o qual é responsável pela conversão do  $N_2$  para amônia, conforme a reação acima.

Considerando a existência de diferentes graus de associação entre organismos fixadores de N, desde aqueles de vida livre e fracamente associados (FBN assimiótica) até aqueles mutualisticamente associados (FBN simbiótica), esses dois processos de FBN serão apresentados separadamente, iniciando pelo simbiótico.

### 3.1 Fixação simbiótica de N<sub>2</sub>

#### 3.1.1 Microrganismos e mecanismos bioquímicos envolvidos

A fixação simbiótica de N<sub>2</sub> consiste no sistema mais evoluído de relação entre microrganismos procariotos (os microsimbiontes) e um hospedeiro eucarioto, normalmente fotossintético. Nessa simbiose, há benefício mútuo para ambos os organismos e, por isso, é também denominada de simbiose mutualística. Normalmente, o hospedeiro desenvolve estruturas especiais para abrigar o simbionte. Em leguminosas essas estruturas recebem a denominação de **nódulos**.

Existem três associações simbióticas de N<sub>2</sub> conhecidas, as quais serão apresentadas separadamente:

- 1) Leguminosas x Rizóbio
- 2) Não leguminosas x actinomiceto *Frankia*
- 3) Pteridófita aquática *Azolla* x cianobactéria *Anabaena*

#### 3.1.2 Simbiose entre leguminosas e Rizóbio

Dos três sistemas fixadores de N<sub>2</sub>, considerados simbióticos, aquele que tem sido mais estudado pela pesquisa até o momento é o que envolve rizóbio e leguminosas. Por isso, nessa unidade, será dada ênfase especial a essa simbiose.

A maioria das plantas tem seu crescimento limitado pela disponibilidade de nitrogênio no solo, pois não conseguem utilizar o gás N<sub>2</sub> do ar. Este não é o caso da maioria das leguminosas, que incluem espécies importantes para a produção de grãos (ex., soja, feijão, ervilha) e de forragem (ex., trevo, cornichão e alfafa) e para adubação verde (ex., ervilhaca, tremoço, crotalária), em esquemas de rotação de culturas. As leguminosas se associam com diferentes gêneros de bactérias para, em conjunto, realizarem a FBN.

##### 3.1.2.1 Características e taxonomia da bactéria

As bactérias associadas mutualisticamente às leguminosas, denominadas genericamente de rizóbio, são gram-negativas, móveis por flagelos polares, subpolares ou peritricos e têm a forma de bastonete. Atualmente estão descritos quatro gêneros principais de bactérias:

- **Gênero *Rhizobium***. Causa a formação de nódulos principalmente em plantas originárias de regiões de clima temperado como, por exemplo, trevo, ervilhaca e lentilha. Apresentam crescimento rápido em meio de cultura Manitol-extrato de levedura-ágar. Existem oito espécies pertencentes a este gênero, sendo *Rhizobium leguminosarum* uma das mais importantes.

- **Gênero *Bradyrhizobium*.** Causa a formação de nódulos em raízes de plantas, principalmente daquelas originárias de regiões tropicais. Apresentam crescimento lento em meio de cultura Manitol-extrato de levedura-ágar. Dentro deste gênero encontram-se as bactérias responsáveis pela formação de nódulos em soja, com as espécies *Bradyrhizobium japonicum* e *Bradyrhizobium elkanii*.
- **Gênero *Sinorhizobium*.** Com quatro espécies, pode nodular leguminosas como, por exemplo, a alfafa e o cornichão. A espécie *Sinorhizobium fredii* também pode nodular a soja.
- **Gênero *Azorhizobium*.** Com apenas uma espécie (*Azorhizobium caulinodans*), nodula o caule da sesbânia que é uma leguminosa usada para adubação verde do arroz, principalmente em países da Ásia.

Um dos sistemas mais estudados envolvendo rizóbio e leguminosas é aquele entre a soja e a bactéria do gênero *Bradyrhizobium*. Isso pelo fato da soja ser a oleaginosa mais cultivada e de maior importância econômica do planeta. Em condições normais, nem a soja e nem a bactéria possuem, isoladamente, a capacidade de fixação do N<sub>2</sub> atmosférico.

Uma das características importantes das bactérias fixadoras simbióticas é que existem variações genéticas dentro das espécies de rizóbio, denominadas de estirpes, raças ou cepas. Tais variações têm orientado pesquisadores na seleção de estirpes para as diferentes leguminosas, que resultem em aumento na fixação de N<sub>2</sub>. No caso da soja, por exemplo, a pesquisa selecionou até o momento quatro estirpes de *Bradyrhizobium*, sendo três de *Bradyrhizobium elkanii* (SEMIA 587, SEMIA 5019 ou 29W e SEMIA 5079 ou CPAC 15) e uma de *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5080 ou CPAC 7), as quais compõem o inoculante comercializado no Brasil para misturar às sementes da leguminosa quando da sua semeadura no campo.

As estirpes de uma espécie de rizóbio podem variar muito quanto a sua **infectividade** e **efetividade** para uma determinada cultivar de soja. Infectividade refere-se ao potencial que uma estirpe possui em competir com outras pelos locais na raiz onde é possível a formação de nódulos (sítios de formação nodular). Já a efetividade ou *eficiência* refere-se ao potencial da estirpe em produzir nódulos sadios com alta capacidade de fixação de nitrogênio em simbiose com a planta hospedeira. Devido à especificidade hospedeira cultivar-estirpe, normalmente, um inoculante é fabricado com mais de uma estirpe para assegurar a formação de nódulos independentemente do cultivar utilizado pelo agricultor.

Uma mesma espécie de rizóbio pode infectar e formar nódulos em diferentes leguminosas. Um grupo de estirpes de rizóbio capaz de

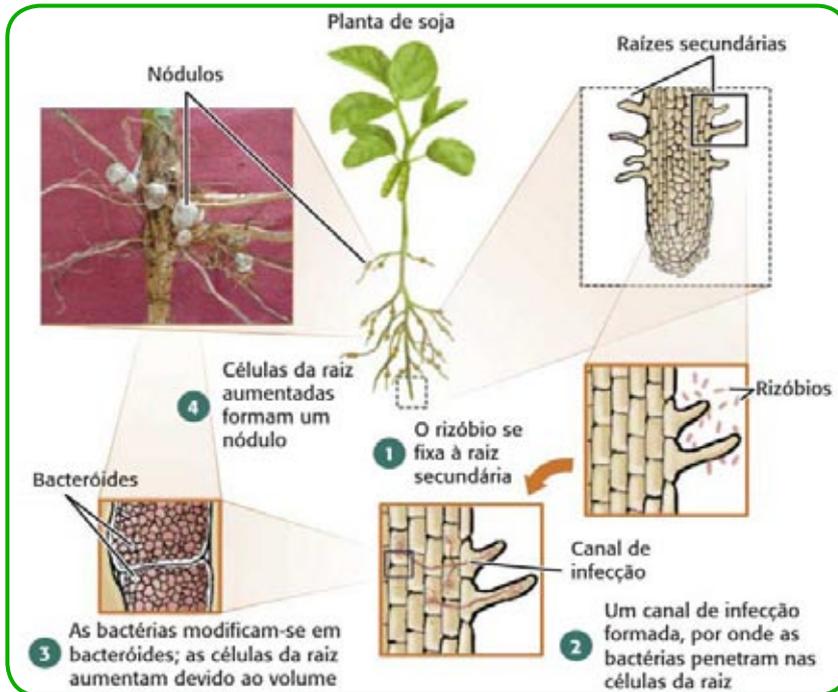
infectar um grupo de leguminosas relacionadas é chamado "grupo de inoculação cruzada". No caso de *Bradyrhizobium japonicum*, por exemplo, suas estirpes podem formar nódulos e fixar  $N_2$  em leguminosas como feijão miúdo, crotalária, guandu e mucuna, constituindo-se este em um grupo de inoculação cruzada. Por outro lado, nenhuma estirpe de *Bradyrhizobium japonicum* é capaz de nodular alfafa, por exemplo, já que soja e alfafa não pertencem ao mesmo grupo de inoculação cruzada. Todavia, um aspecto interessante a destacar é que, embora as estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* possam nodular também outras leguminosas, elas foram selecionadas buscando infectividade e eficiência na soja. É de se esperar, portanto, que elas sejam menos eficientes na fixação de N nas outras leguminosas do grupo de inoculação cruzada. Por isso, a importância em utilizar para cada leguminosa o inoculante contendo as estirpes que foram selecionadas pela pesquisa para aquela leguminosa.

A fixação simbiótica de N envolve dois indivíduos numa relação bastante complexa, que inicia pela infecção das raízes e formação dos nódulos, que são as estruturas construídas pela planta para abrigar no seu interior as bactérias.

### 3.1.2.2 Infecção e formação dos nódulos

Solos onde nunca foram cultivadas leguminosas não apresentam rizóbio. Após o cultivo de leguminosas com inoculantes, estas bactérias farão parte da população de microrganismos do solo sobrevivendo saprofiticamente da decomposição de resíduos orgânicos (esta população será chamada então de população natural ou naturalizada). Seus números serão muito variáveis, dependendo da natureza e do tratamento agrícola do solo (características naturais do solo, manejo, temperatura, regime hídrico etc..).

Após a semeadura da soja, por exemplo, com o aparecimento dos pêlos radiculares na raiz principal ou ramificações, a planta promove estímulos expelindo substâncias orgânicas (exsudatos radiculares) para o aumento do número de bactérias na região da rizosfera (Figura G.13). As diferentes estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* ou *Bradyrhizobium elkanii* variam em seu poder de formação de nódulos e reconhecem principalmente a soja, embora possam infectar plantas do grupo de inoculação cruzada. A hipótese mais aceita para o reconhecimento entre as bactérias e a raiz é de que proteínas (lectinas) presentes na superfície do pêlo radicular deverão ser complementares a açúcares presentes na superfície da bactéria causando a reação de reconhecimento.



**Figura G.13** A formação de um nódulo da raiz.

Cada leguminosa possui sua lectina específica e cada rizóbio seus açúcares. Após a reação de reconhecimento, os rizóbios penetram no pêlo radicular proliferando-se. Ocorre a invaginação da membrana das células do pêlo radicular e a planta, estimulada pela bactéria, forma um canal de infecção onde as bactérias se multiplicam e avançam em direção ao córtex da raiz, passando através das células corticais. À medida que o canal de infecção passa através das células ele poderá ramificar. As bactérias são então finalmente liberadas para dentro da célula, ficando envolvidas por uma porção da membrana da célula hospedeira (membrana peribacteróide), formando o chamado envelope bacteriano. Sempre existe na raiz da planta um número de células tetraplóides de origem espontânea e o desenvolvimento do nódulo inicia-se quando uma destas células no córtex é invadida pela bactéria, sendo estimulada a se dividir. Divisões celulares progressivas causarão a formação dos nódulos.

Os nódulos diferem quanto à sua aparência e estrutura, sendo essas características determinadas pela planta (hospedeiro). Nódulos denominados de determinados ocorrem em leguminosas como a soja e o feijão e, são redondos e não apresentam uma região meristemática pronunciada. Já nódulos denominados de indeterminados são alongados e possuem uma região meristemática pronunciada e são encontrados em leguminosas como a ervilhaca, o trevo e a alfafa (Figura G.14).

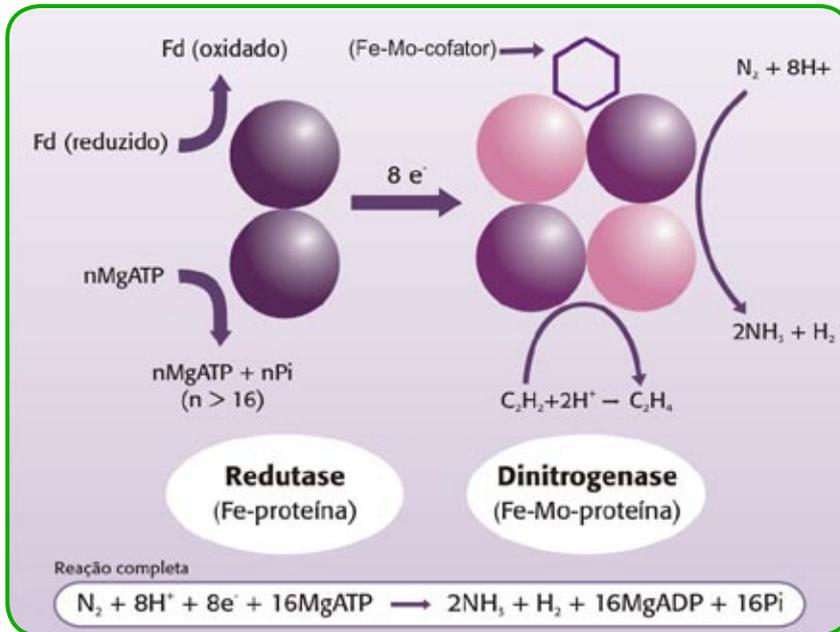


Figura G.14 Foto de nódulo determinado em soja (A) e indeterminado em trevo (B)

### 3.1.2.3 Funcionamento do complexo fixador de $N_2$

Dentro da célula do córtex da raiz e do envelope que os circunda, os rizóbios transformam-se em estruturas sem forma definida denominadas bacterióides, sendo esta a forma realmente ativa da bactéria para a fixação de  $N_2$ . Somente bacterióides possuem o complexo enzimático (nitrogenase) responsável pela fixação de  $N_2$ . Rizóbios presentes no canal de infecção ou formas dormentes dentro do nódulo, que não se transformaram em bacterióides, poderão ser liberados ao solo após o ciclo da planta para formar novos nódulos ou manter as populações de rizóbios no solo. Isso é importante, pois os bacterióides perdem a capacidade de reprodução e desaparecem após terem cumprido a função de fixar o  $N_2$  atmosférico.

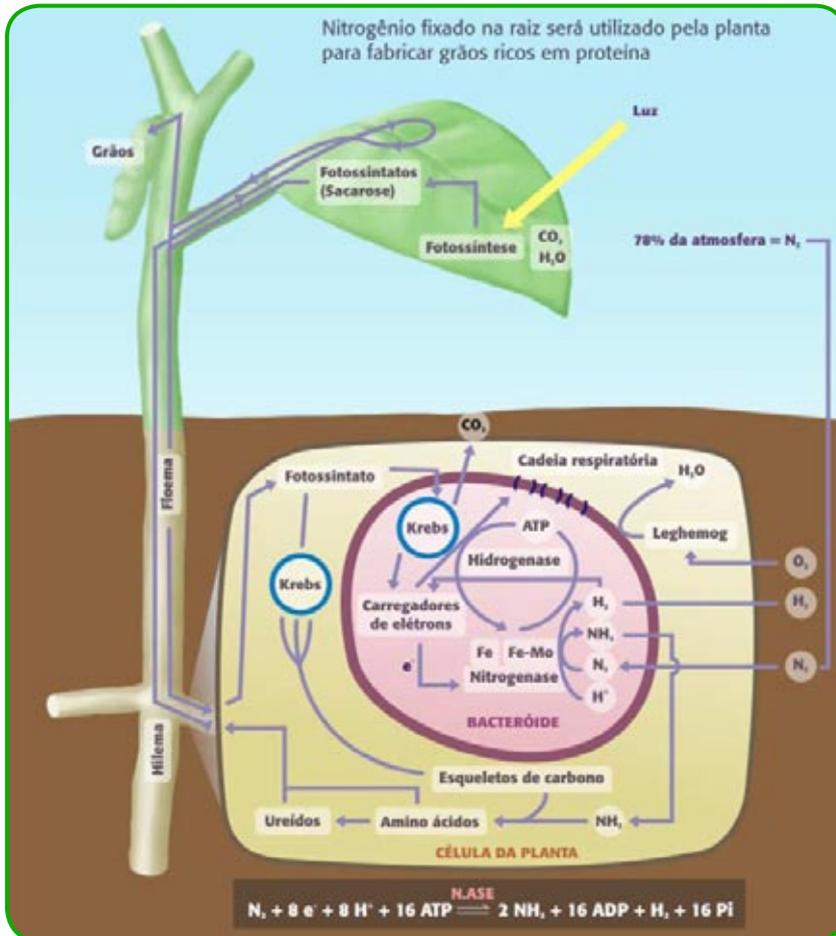
Uma vez formado o nódulo, inicia-se o processo de fixação de nitrogênio que consiste na redução do gás  $N_2$  para  $NH_3$ . Para que isto ocorra é necessário que as bactérias rizóbio modifiquem morfológicamente suas células para o chamado estado bacterióide, e produzam a enzima nitrogenase responsável pela fixação. Conforme ilustrado na Figura G.15, a enzima nitrogenase é constituída por duas subunidades protéicas. A subunidade 1, apresentando ferro (Fe) em sua constituição e denominada de dinitrogenases redutase, é responsável pela captação de elétrons ( $e^-$ ) de um doador como a ferredoxina (Fd) e pela sua transferência à subunidade 2, a qual é constituída por ferro e molibdênio (FeMo) e denominada de dinitrogenase. Ela é responsável pela captação dos  $e^-$  da subunidade 1 e do gás  $N_2$ , convertendo-o a  $NH_3$ . Somente as bactérias fixadoras de gás nitrogênio ( $N_2$ ) produzem essa enzima.



**Figura G.15** Complexo enzimático nitrogenase.

Na equação geral da FBN observa-se que, além do gás nitrogênio, é necessária muita energia (16 ATPs) e elétrons para a redução do gás  $\text{N}_2$ , produzindo  $\text{NH}_3$  utilizável pela planta. O esquema apresentado na figura G.16 tenta, de maneira simplificada, dar uma visão do processo.

A planta, através da fotossíntese, produz os açúcares que descerão até a raiz e tecido nodular, pelos vasos do floema. Estes açúcares serão utilizados tanto pelas células da planta bem como pelo bacterióide. A planta necessita destes fotossintatos para produzir esqueletos de carbono (ex., alfa ceto-glutarato e oxaloacetato) para combiná-los ao  $\text{NH}_3$  fixado pela bactéria dando origem a aminoácidos. A bactéria, por sua vez, utiliza os fotossintatos como fonte de C e energia (elétrons) para poder reduzir gás  $\text{N}_2$  para  $\text{NH}_3$ . Portanto, planta e bactéria obtêm benefícios mútuos no processo simbiótica de FBN. Esse processo é ilustrado na Figura G.16.



**Figura G.16** Representação de uma célula do nódulo infectada com o rizóbio na forma de bacterióide.

Os bacterióides, por serem aeróbicos, necessitam de oxigênio para atuar como receptor terminal de elétrons na sua cadeia respiratória e produzir ATP. Todavia, a nitrogenase é uma enzima extremamente sensível ao oxigênio, tornando-se inativa na presença deste. Para contornar este problema, planta e bactéria sintetizam no nódulo uma substância de cor vermelha denominada de **leghemoglobina**, a qual previne a inibição da atividade da nitrogenase pelo oxigênio ao mesmo tempo em que facilita o transporte de O<sub>2</sub> para os bacterióides produzirem ATP na cadeia respiratória. A coloração vermelha do interior dos nódulos, causada pela leghemoglobina, é uma característica utilizada para avaliar, em condições de campo, a eficiência da FBN em leguminosas.

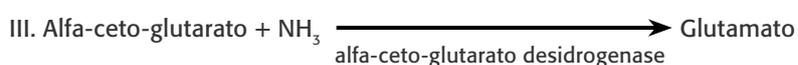
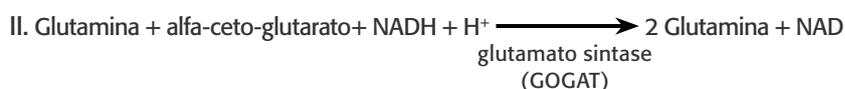
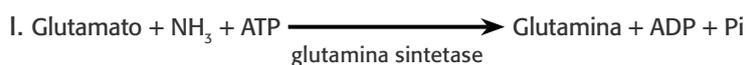
O gás N<sub>2</sub> fixado na forma de NH<sub>3</sub> pelo bacterióide, é excretado para o citosol da célula vegetal hospedeira, onde é assimilado e utilizado na fabricação de compostos orgânicos nitrogenados, para transporte para a parte aérea da planta. Quando estes compostos atingirem a parte aérea serão metabolizados e entregues pelo floema aos órgãos de crescimento e para a formação de grãos ricos em proteínas.

Como se observa na equação geral da FBN e na Figura G.15 e Figura G.16, elétrons podem ser perdidos na forma de gás hidrogênio ( $H_2$ ). Isso porque a enzima nitrogenase reconhece tanto  $N_2$  convertendo-o a  $NH_3$  como também  $H^+$  convertendo-o a  $H_2$ . Esse processo representa uma perda de aproximadamente 25% da energia que poderia ser usada na fixação do  $N_2$ . Cerca de 20% das estirpes de rizóbio possuem uma enzima chamada hidrogenase, a qual permite reciclar este  $H_2$  disponibilizando os  $e^-$  na redução do  $N_2$ . Estas estirpes, denominadas de HUP<sup>+</sup>, são consideradas mais eficientes na fixação de  $N_2$ , pois conseguem conservar mais energia.

#### 3.1.2.4 O que é necessário para a nitrogenase atuar na FBN em leguminosas?

- 1) Poder redutor, contido no  $NADH_2$ , produzido na glicólise e no ciclo de Krebs quando a bactéria decompõe os fotossintatos fornecidos pela planta;
- 2) Substrato reduzido ( $N_2$ ). O  $N_2$  é o substrato da enzima nitrogenase;
- 3) Sistema gerador de ATP. A energia (ATP) necessária ao processo é produzida por fosforilação oxidativa, na cadeia de transporte de elétrons da bactéria;
- 4) Ambiente anaeróbico para proteção da nitrogenase. Isso é controlado pela leghemoglobina, produzida conjuntamente pela leguminosa e pela bactéria.

A amônia fixada é exportada da célula bactéria para a célula do hospedeiro (leguminosa) onde, através de diferentes reações enzimáticas, será incorporada a esqueletos de carbono provenientes da glicólise e do ciclo de Krebs da planta. Com isso, a planta produz os constituintes nitrogenados necessários ao seu desenvolvimento. Em leguminosas essas rotas de incorporação do  $NH_3$  fixado, esquematizadas abaixo, ocorrem no citosol da célula da planta:



As rotas I e II sempre funcionam juntas e consomem ATP extra. Elas ocorrem quando a concentração de  $\text{NH}_3$  for baixa. Quando no meio a concentração de  $\text{NH}_3$  for maior (superior a 1 milimolar) é utilizada a rota III, com economia de ATP e de poder redutor ( $\text{NADH} + \text{H}^+$ ).

Estas mesmas rotas enzimáticas que aparecem no citosol da planta para a formação de aminoácidos durante a fixação de nitrogênio em simbiose com bactérias, também ocorrem em bactérias de vida livre, as quais fixam  $\text{N}_2$  para a própria síntese de compostos nitrogenados. Plantas e bactérias possuem enzimas similares.

### 3.1.2.5 Inoculantes e inoculação

Os Institutos de Pesquisa selecionam estirpes de *Bradyrhizobium* (no caso da soja) e as repassam para as fábricas de inoculantes. As características que as estirpes devem apresentar são as seguintes:

- Alto poder de fixação de nitrogênio (**efetividade**) com as diferentes cultivares de soja.
- Alto poder de competição (**infectividade**) pelos sítios de formação nodular com os rizóbios presentes no solo:
- **Sobrevivência** nos solos a serem introduzidas.

Nas indústrias, o rizóbio é cultivado em fermentadores e, após o crescimento, o caldo bacteriano é misturado ao veículo de transporte mais comumente empregado que é a turfa. A turfa para inoculantes deve possuir alto teor de matéria orgânica, pH corrigido e ser esterilizada para evitar a presença de outros microorganismos indesejáveis. Após a mistura da cultura bacteriana com a turfa, feita normalmente em betoneiras, é realizado o empacotamento do inoculante. Pela legislação vigente o número de rizóbios por grama de inoculante deve ser no mínimo a seguinte:

- Na indústria de inoculantes: acima de 100 milhões de bactérias ( $10^8$ ) por grama de inoculante.
- No estabelecimento comercial: acima de 10 milhões de bactérias ( $10^7$ ) por grama de inoculante.

Um dos maiores problemas relativos à qualidade de inoculantes se deve ao baixo número de bactérias por grama de inoculante nos estabelecimentos comerciais os quais, normalmente, não levam em conta o fato de que dentro do saco de inoculante existem organismos vivos (rizóbios). Quando mal armazenado, o número de células do inoculante cai drasticamente. O ideal é armazenar o inoculante em temperaturas próximas a  $4^\circ\text{C}$ . Um inoculante de boa qualidade deve garantir que após a inoculação cada semente contenha aproximada-

mente 100.000 células de rizóbio para uma boa nodulação. Além do revendedor, o agricultor também deverá ter todo o cuidado em manter o inoculante em geladeira ou em caixas de isopor até o seu uso.

O objetivo da inoculação é aumentar junto às sementes o número de bactérias do inoculante para que elas possam infectar as raízes tão logo elas sejam emitidas pela planta. Para isso, deve-se garantir que as sementes fiquem uniformemente recobertas com o inoculante. O método mais comum para isso consiste em misturar o inoculante com algum produto que aumente a sua aderência às sementes, como por exemplo, o açúcar (250g/litro de água) ou mesmo goma caseira a base de polvilho. De maneira geral, para sementes do tamanho da soja e feijão a quantidade de inoculante a ser usada é de 200 g para 60 kg de semente. Nos solos onde nunca foi cultivada a soja, recomenda-se o aumento da dose de inoculante para 1 kg para 60 kg de sementes. A inoculação das sementes deve ser feita sempre à sombra, pois os raios solares são letais ao rizóbio reduzindo sua população. Após a inoculação e secagem, a semeadura deve ser feita o mais rápido possível. Quando utilizamos bons inoculantes e a inoculação for bem feita, a soja apresentará nódulos grandes, de superfície rugosa e cor interna vermelha, distribuídos nas raízes primárias junto ao colo da planta (figura G.14).

#### **3.1.2.6 Quando usar um inoculante?**

Os inoculantes para as leguminosas são preparados com as melhores estirpes de rizóbio, assumindo-se que a inoculação das sementes seja essencial para o fornecimento adequado de N às plantas. Todavia, a resposta das leguminosas quanto à contribuição da inoculação não pode ser generalizada. Alguns trabalhos mostram efeitos altamente positivos na nodulação e na produtividade de grãos, outros pouco ou nenhum efeito, mas é preciso ter em mente que resultados negativos não são esperados. Na maioria das situações, a ausência de incremento na produção se deve à presença no solo de estirpes naturalizadas. Muitas vezes essas estirpes, adaptadas ao solo, possuem alto poder de infecção, formando nódulos e fixando nitrogênio para a planta. Poderão existir locais onde as estirpes naturalizadas, embora sejam infectivas, são pouco eficientes em fixar nitrogênio. Nesses casos, é provável que a colocação de estirpes eficientes junto à planta, através da inoculação, apresente resultados positivos.

No caso da soja, a recomendação geral é que, após a primeira inoculação das sementes com resultados positivos na cultura, a operação seja repetida na área após 3 a 4 anos. O que não deve ser recomendado à soja, em hipótese alguma, é substituir a inoculação das sementes pela aplicação de N na cultura. No Brasil, a recomendação

de adubação mineral da soja não prevê a aplicação de N, mas apenas a inoculação das sementes com rizóbio específico (*Bradyrhizobium*).

No caso do feijão que, após a soja, é a leguminosa mais cultivada no Brasil, a pesquisa recomenda aplicação de N na cultura. Isso porque, na maioria das situações, as estirpes que compõem o inoculante para o feijão não conseguem suprir integralmente as necessidades em N da cultura.

### 3.1.2.7 Fatores de controle

Todos os fatores nutricionais ou ambientais que afetam o desenvolvimento normal da planta terão reflexos sobre a simbiose nodular, uma vez que ela depende diretamente dos produtos da fotossíntese. Não basta apenas inocular a soja com estirpes de alta eficiência, mas é preciso proporcionar condições nutricionais favoráveis para que a planta e rizóbio alcancem o máximo potencial de fixação de  $N_2$ .

Quanto aos fatores nutricionais, tem sido demonstrado que o pH do solo é um dos principais fatores limitantes à eficiência da simbiose entre rizóbio e leguminosas. Isso porque em solos ácidos (pH baixo) os teores de alumínio podem atingir níveis prejudiciais tanto às bactérias como ao sistema radicular das plantas, diminuindo a absorção de nutrientes como fósforo, cálcio e molibdênio os quais são fundamentais ao próprio desenvolvimento da planta e ao bom funcionamento do sistema fixador de N. Lembre que para cada  $N_2$  fixado são necessários 16 ATPs e a síntese de ATP depende da disponibilidade de fósforo inorgânico, o principal macronutriente da FBN. Além disso, a subunidade protéica do complexo enzimático nitrogenase, que é responsável pela captação do  $N_2$ , necessita de molibdênio (Mo) como cofator. Existem indicações de que os valores de pH mais favoráveis à FBN em leguminosas situam-se na faixa 5,5 e 6,5. Portanto, para solos ácidos, é preciso efetuar a calagem antes de implantar a leguminosa. Outro benefício da calagem é que existem evidências de que o cálcio é necessário para a infecção e formação dos nódulos.

Outro fator limitante à FBN envolve a disponibilidade de N mineral ( $NH_4^+$  e  $NO_3^-$ ) do solo. Tem sido demonstrado que a presença de teores elevados de N mineral no solo prejudica a nodulação, provocando a degeneração daqueles nódulos já estabelecidos e inibindo a indução inicial à nodulação. Portanto, o processo de FBN nas leguminosas é prejudicado tanto naqueles solos naturalmente ricos em matéria orgânica, cuja capacidade de fornecimento de N via mineralização microbiana do N orgânico é elevada, como naquelas situações em que são aplicados fertilizantes nitrogenados, tanto sintéticos (ex, uréia) quanto naturais (ex, dejetos de animais).

Baixos teores de N mineral no solo por ocasião da semeadura das leguminosas poderão ser benéficos, pois possibilitam um bom desenvolvimento inicial da planta até que os bacteróides iniciem a fixação de  $N_2$  no interior dos nódulos. Normalmente, esse N inicial é fornecido pela própria mineralização da matéria orgânica do solo. Para as leguminosas é mais “barato” energeticamente sintetizar proteínas a partir da absorção do N mineral do solo do que fazê-lo através do fornecimento de fotossintatos ao rizóbio para que este fixe o  $N_2$  do ar. Por isso, o efeito inibitório sobre a FBN em leguminosas de teores elevados de N mineral no solo.

Quanto aos fatores ambientais, um dos mais importantes refere-se à luminosidade. Períodos longos com pouca insolação diminuem a taxa fotossintética das leguminosas e, conseqüentemente, a quantidade de fotossintatos que constituem a fonte de energia das bactérias fixadoras de  $N_2$ .

Um aspecto importante a ser ressaltado é que tanto as diferentes cultivares das leguminosas produtoras de grãos, como a soja e o feijão, como as diferentes estirpes de rizóbio apresentam resposta diferenciada quanto às condições nutricionais e ambientais adversas.

### 3.1.2.8 Importância agrícola e ambiental

Embora o  $N_2$  represente 78% dos gases da atmosfera ele não pode ser utilizado pela grande maioria dos organismos da terra. Os dois átomos de N do  $N_2$  atmosférico estão unidos por uma ligação tripla, o que o torna um gás inerte e de grande estabilidade. Apenas os microrganismos que possuem o complexo “fixador de N” (nitrogenase) conseguem quebrar essa ligação tripla e converter  $N_2$  em amônia, a qual pode unir-se com C, H, e O para formar os blocos essenciais da vida que são as proteínas. Esse processo constitui a FBN que é responsável por aproximadamente 65% da quantidade total de N usada na agricultura mundial.

Embora a produção de biomassa e de grãos das leguminosas seja equivalente quando em simbiose com rizóbio ou quando as mesmas são adubadas com nitrogênio, a primeira via deve ser a preferida, tanto em termos econômicos quanto ambientais. Com o uso de fertilizantes nitrogenados como, por exemplo, a uréia, as possibilidades de contaminação ambiental são diversas. A contaminação do ar pode ocorrer através da amônia perdida por volatilização e do  $N_2O$  emitido durante a desnitrificação. O  $NO_3^-$ , por sua vez, poderá ser lixiviado e contaminar as águas do lençol freático e, ainda, contaminar as águas de superfície por escoamento superficial. Nenhuma dessas vias de contaminação é possível através da FBN onde o N circula internamente na planta desde a sua conversão de  $N_2$  a  $NH_3$  pela nitrogenase.

### 3.1.2 Sistema simbiótico *Frankia* x não leguminosas

Bactérias gram positivas filamentosas do gênero *Frankia*, pertencentes ao grupo dos actinomicetos, associam-se simbioticamente formando nódulos e fixando  $N_2$  com espécies não leguminosas de oito famílias. Tais espécies, denominadas de actinorrízicas, são, na sua maioria, arbustivas ou arbóreas importantes em sistemas agro-florestais. Graças à sua capacidade em fixar  $N_2$ , as espécies actinorrízicas são, normalmente, as primeiras a se estabelecer em solos marginais como aqueles extremamente arenosos das dunas e também em áreas que sofreram algum distúrbio, como aquelas constituídas por rejeito de minas.

As quantidades de  $N_2$  fixadas pelas espécies actinorrízicas são altamente variáveis, podendo atingir valores tão elevados quanto aqueles observados na simbiose entre rizóbio e leguminosas. Contrariamente ao rizóbio, cujo primeiro isolamento de nódulos de leguminosas ocorreu por volta de 1888, somente em 1987 o actinomiceto *Frankia* foi isolado de nódulos de espécies actinorrízicas e cultivado com sucesso em laboratório.

Os actinomicetos presentes no interior dos nódulos radiculares são constituídos de hifas vegetativas alongadas, contendo na sua porção terminal estruturas septadas denominadas de vesículas onde ocorre a fixação do  $N_2$ . As vesículas estão envolvidas por um envelope lipídico que tem a função de atuar como uma barreira de difusão para o  $O_2$ , protegendo a nitrogenase do actinomiceto. Apenas as leguminosas produzem a leghemoglobina para proteger a nitrogenase do efeito inibitório do  $O_2$ .

### 3.1.3 Sistema simbiótico *Azolla* x *Anabaena*

*Azolla* é uma pequena pteridófito aquática conhecida por apresentar uma associação simbiótica com a cianobactéria filamentosa *Anabaena azollae*, a qual cresce no interior de cavidades existentes na face dorsal das folhas da pteridófito. *Azolla* é encontrada, normalmente, em águas paradas de braços de rios e em lagos, ou em áreas de cultivo de arroz inundado, especialmente em regiões tropicais. No Brasil estão identificadas três espécies de *Azolla*: *A. caroliniana*, *A. filiculoides* e *A. microphylla*.

Quando associadas, a pteridófito *Azolla* e a cianobactéria micro-simbionte *Anabaena azollae* podem fixar  $N_2$  a taxas de até  $2 \text{ kg ha}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ . Essa associação, amplamente utilizada como adubação verde do arroz na Ásia, em países como a China e o Vietnã, é rica em N (baixa relação C/N), sendo rapidamente mineralizada no solo, liberando o N ao arroz. Para uso da associação *Azolla* x *Anabaena* como adubo verde no arroz é necessário cultivar a pteridófito em tanques. Antecedendo a

semeadura do arroz, a pteridófito é retirada dos tanques e adicionada ao solo como adubo verde.

Pelo fato de exigir bastante mão-de-obra para o manuseio da associação e para a sua distribuição no campo e em razão do cultivo do arroz sob inundação ser realizado extensivamente e em grandes áreas, a associação *Azolla x Anabaena* ainda não é praticamente empregada no Brasil pelos produtores de arroz, tendo seu uso restrito a áreas experimentais. Além disso, a *Azolla* é bastante exigente em fósforo e pode ser atacada por insetos e doenças. Todavia, na China, cerca de 1,5 milhões de hectares são cobertos anualmente com *Azolla*, o que evidencia o seu potencial de uso como fonte de N ao arroz.

Como as demais cianobactérias, a *Anabaena* é um microrganismo fotossintético que fixa o  $\text{CO}_2$  em células vegetativas. Em células especializadas, denominadas de heterocistos, a *Anabaena* realiza a fixação de  $\text{N}_2$  através do complexo nitrogenase Figura G.17. Sob condições de vida livre somente 6 a 10% das células do filamento da *Anabaena* são heterocistos. Quando associada à *Azolla*, a proporção de heterocistos aumenta para 20 a 30%. Isso porque, quando associada à pteridófito, a fixação de  $\text{CO}_2$  nas células vegetativas da *Anabaena* diminui e o suprimento de fotossintatos é garantido pela pteridófito. Portanto, nessa relação simbiótica, a pteridófito fornece fotossintatos à *Anabaena* e esta, em troca, converte o  $\text{N}_2$  atmosférico em amônia ( $\text{NH}_3$ ), que a pteridófito irá incorporar a esqueletos de carbono para a síntese de proteínas e de outros compostos nitrogenados.

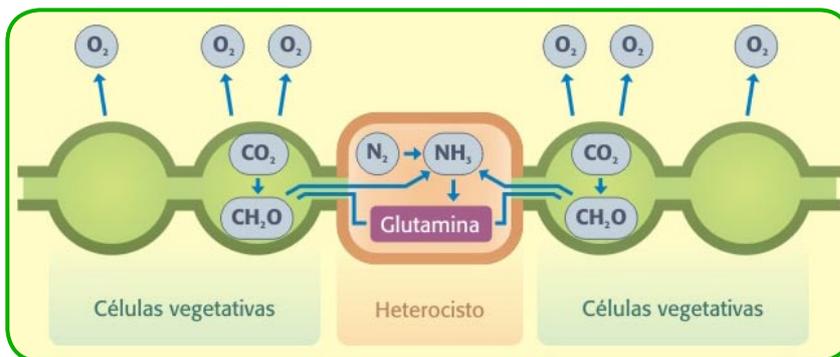


Figura G.17 Células vegetativas e heterocisto presentes na cianobactéria *Anabaena*.

## 3.2 Fixação assimbiótica de N<sub>2</sub>

### 3.2.1 Microrganismos e mecanismos bioquímicos envolvidos

A fixação biológica de N<sub>2</sub> é restrita aos procarióticos, incluindo bactérias típicas e bactérias especializadas, como cianobactérias e actinomicetos. Dos cerca de 10.000 gêneros de bactérias já descritos, cerca de apenas 100 contêm espécies capazes de fixar N<sub>2</sub> (diazotróficos). Apesar de um número relativamente pequeno de microrganismos diazotróficos, esse grupo caracteriza-se por ser extremamente diverso do ponto de vista fisiológico. Do ponto de vista do metabolismo do carbono podem existir bactérias heterotróficas e quimioautotróficas, fotoautotróficas (bactérias e cianobactérias) e ainda fotoheterotróficas. Quanto à sua relação com O<sub>2</sub>, existem representantes que são aeróbicos, microaerófilos, anaeróbicos facultativos e anaeróbicos obrigatórios. Em consequência dessa grande diversidade metabólica, representantes do grupo dos microrganismos diazotróficos são encontrados em todos os tipos de ambientes da natureza.

O grupo dos diazotróficos é dividido entre aqueles que realizam a FBN em uma relação simbiótica ou comensalística com um organismo eucariótico (conforme já apresentado anteriormente) e aqueles que fixam N<sub>2</sub> de forma assimbiótica. Esse último grupo é constituído por bactérias fixadoras de N<sub>2</sub> de vida livre (assimbióticos verdadeiros ou diazotróficos de vida livre) e por bactérias fixadoras de N<sub>2</sub> em associação com plantas (diazotróficos associativos), no processo também denominado de simbiose associativa.

### 3.2.2 Diazotróficos de vida livre

Foi nesse grupo de bactérias que primeiro se descobriu a capacidade de microrganismos em fixar N<sub>2</sub>, ou seja, de sintetizar o complexo nitrogenase para utilizar o nitrogênio do ar como fonte de nitrogênio para a fabricação de compostos nitrogenados e poder crescer. Diversos gêneros de bactérias são capazes de fixar N<sub>2</sub> como organismos de vida livre, com destaque para bactérias dos gêneros *Azotobacter*, *Beijerinckia* e *Derxia* e cianobactérias dos gêneros *Anabaena* e *Nostoc*.

O principal fator limitante à FBN é o suprimento de carbono e energia (ATP e elétrons). Por isso é de se esperar que diazotróficos fotossintéticos de vida livre fixem maiores quantidades de N<sub>2</sub> no solo do que os diazotróficos heterotróficos, os quais dependem do carbono e da energia contidos em compostos orgânicos. Portanto, esse último grupo somente fixará quantidades mensuráveis de N<sub>2</sub> se no solo houver quantidade suficiente de C prontamente disponível de origem vegetal como, por exemplo, o C presente na rizosfera de plantas em fase de crescimento ativo (exudatos radiculares) e o C contido em resíduos culturais com alta relação C/N.

Do ponto de vista metodológico é extremamente difícil quantificar a contribuição para determinado ecossistema da FBN por diazotróficos de vida livre. Estimativas desse processo no solo e em ambientes enriquecidos em resíduos culturais indicam que as quantidades de N provenientes da FBN situam-se na faixa de 1 a 10 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>.

É importante destacar que as bactérias de vida livre fixam nitrogênio para seu próprio crescimento, não excretado nitrogênio para o meio. O N fixado por este grupo somente ficará disponível às plantas após a sua morte e mineralização dos compostos orgânicos por outras populações de microrganismos heterotróficos do solo.

Três fatores devem ser destacados como os mais limitantes à FBN das bactérias de vida livre: a) O N mineral do solo inibe a síntese do complexo nitrogenase já que é energeticamente mais favorável às bactérias assimilar diretamente o N do solo do que o fazê-lo via FBN; b) Por ser um processo que demanda muita energia (ATP) ele é normalmente limitado no solo pela disponibilidade de C; c) Em função da alta sensibilidade da nitrogenase ao O<sub>2</sub>, as bactérias de vida livre têm que desenvolver alguma estratégia para evitar que a enzima seja inibida pelo O<sub>2</sub>, o que, normalmente, implica em gasto de energia por parte da bactéria. Além desses fatores principais, inúmeros outros, como a disponibilidade de P, de micronutrientes e o pH do solo afetam a sobrevivência e o crescimento das bactérias diazotróficas e, portanto, a fixação de N<sub>2</sub>.

### 3.2.3 Diazotróficos Associativos

Existem inúmeros exemplos de associações em que uma bactéria diazotrófica de vida livre se associa com uma planta. Essas associações, também denominadas de simbioses associativas, não apresentam alterações morfológicas no hospedeiro ou qualquer interação genética entre a planta e a bactéria, como ocorre na FBN simbiótica mutualística entre rizóbio e leguminosas, discutida anteriormente, em que a planta abriga as bactérias dentro de nódulos. Bactérias diazotróficas têm sido encontradas na superfície das folhas (filosfera), dentro e na superfície de raízes ou na rizosfera de uma grande variedade de plantas. Algumas bactérias podem ser encontradas ainda nos espaços intercelulares do córtex das raízes e no sistema vascular (xilema e floema) de algumas plantas. Dependendo de onde são encontrados, os diazotróficos associativos são divididos em dois grupos: endofíticos facultativos e endofíticos obrigatórios.

#### 3.2.3.1 Endofíticos facultativos

As bactérias diazotróficas pertencentes a esse grupo podem colonizar tanto a rizosfera, que constitui a área de solo próxima às raízes, como o interior das raízes. O gênero *Azospirillum*, com seis espécies,

constitui o principal representante desse grupo e também a simbiose associativa mais estudada pela pesquisa envolvendo numerosas espécies de gramíneas, com destaque para o trigo e o milho. Os resultados desses trabalhos mostram que o aumento no rendimento das culturas provocado por *Azospirillum* varia na faixa de 5 a 30%. Todavia, tem sido evidenciado nos últimos anos que o efeito positivo de *Azospirillum* não se deve apenas à sua capacidade de realizar FBN mas também por ser uma rizobactéria promotora do crescimento de plantas, através da produção de hormônios de crescimento (ex, giberelinas e auxinas).

### 3.2.3.2 Endofíticos obrigatórios

Esse grupo de bactérias é assim denominado pelo fato de ser encontrado colonizando o interior da planta, especialmente das raízes. Um dos principais gêneros de bactérias diazotróficas endofíticas obrigatórias é *Gluconacetobacter*, onde a espécie *G. diazotrophicus* (descoberta no Brasil por volta de 1980 pela pesquisadora Joana Döbereiner da EMBRAPA/Agrobiologia, RJ) encontrada principalmente na cana-de-açúcar colonizando praticamente todos os órgãos da planta. Alguns estudos indicam que alguns cultivares de cana-de-açúcar poderiam obter até 60% do N da planta através da FBN com *Gluconacetobacter diazotrophicus*, embora esses valores ainda necessitem de uma comprovação definitiva.

Outros gêneros importantes de bactérias endofíticas obrigatórias são *Herbaspirillum*, com a espécie *H. seropedicae* colonizando milho, arroz e sorgo, *Burkholderia* (arroz e cana-de-açúcar) e *Azoarcus* (arroz).

Com execução da cana-de-açúcar onde, provavelmente, a FBN associativa contribua com quantidades significativas de N à cultura (de 100 a 150 kg de N ha<sup>-1</sup>), nas demais espécies de sequeiro a contribuição desse processo, somando a contribuição de todas as bactérias envolvidas, deve ficar na faixa de 5 a 25 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> de N. Para as culturas anuais de interesse econômico esses valores podem representar pouco. Todavia, para situações como os campos nativos com espécies de gramíneas, onde praticamente não há aporte externo de N, eles representam uma contribuição de grande relevância.

Outra espécie onde a FBN, tanto associativa como de vida livre, pode contribuir significativamente no fornecimento de N é o arroz cultivado sob inundação. O ambiente parcialmente anaeróbico onde o arroz sob inundação é cultivado cria condições para a FBN através de bactérias heterotróficas de vida livre, cianobactérias fixadoras de N<sub>2</sub>, e bactérias fototróficas fixadoras de N<sub>2</sub>. A contribuição conjunta da FBN desses diferentes microrganismos pode resultar no fornecimento de 30 a 50 kg de N ha<sup>-1</sup> ao arroz, o que representa economia de divisas e

talvez explique a ausência de resposta da cultura à aplicação de fertilizantes nitrogenados em muitas situações. É provável que o processo de FBN seja favorecido no arroz em função das condições anaeróbicas da lavoura constituírem um mecanismo natural de proteção da nitrificação.

Um aspecto importante a ressaltar na FBN assimbiótica, nos seus diferentes níveis, é que, apesar de algumas tentativas em produzir e comercializar inoculantes com bactérias desse grupo, não há ainda evidências que justifiquem essa tecnologia. Portanto, o uso de inoculantes na agricultura deve ficar restrito à simbiose rizóbio x leguminosas.

Como vimos o ciclo biogeoquímico do nitrogênio na natureza é um dos mais complexos, sendo controlado por microrganismos, com destaque para o grupo das bactérias. Problemas futuros envolvendo a redução na disponibilidade e o alto custo dos fertilizantes nitrogenados, além dos problemas ambientais decorrentes das aplicações excessivas de N tornarão cada vez mais insustentáveis os sistemas de produção baseados exclusivamente no uso de fontes sintéticas de N. Por isso, cresce em importância a FBN, em seus diferentes níveis, visando aumentar o aporte de N ao solo, especialmente naquelas situações de baixo uso de insumos como, por exemplo, na agricultura familiar.

## Bibliografia

- MOREIRA, F.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2ª edição, Editora UFLA, 2006. 623 p.
- MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., PARKER, J. Brock : **Microbiologia de Brock**. São Paulo: Prentice-Hall, 2004. 608p.
- TORTORA, G.J., FUNKE, B.R., CASE, C.L. **Microbiologia**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 894 p
- PAUL, E.A.; CLARK, F.E. **Soil microbiology and biochemistry**. 2. ed. Califórnia: Academic Press, 1996. 340p.
- SYLVIA, D.M.; FUHRMANN, J.J.; HARTEL, P.G. & ZUBERER, D.A. **Principles and applications of soil microbiology**. New Jersey: Prentice Hall, 1998. 550 p.
- AITA, C. GIACOMINI, S.J. **Matéria Orgânica do Solo, Nitrogênio e Enxofre nos Diversos Sistemas de Exploração Agrícola: Plantio Direto x Plantio Convencional**. In: TSUIOSHI, S. et al. **Nitrogênio e Enxofre na Agricultura Brasileira**. Piracicaba: ESALQ. São Paulo: IPNI - International Plant Nutrition Institute, 2007. p.1-41.
- MARY, B.; RECOUS, S.; DARWIS, D.; ROBIN, D. Interactions between decomposition of plant residues and nitrogen cycling in soil. **Plant and Soil**, v.181, p. 71-82, 1996.
- ROBIN, D. **Effet de la disponibilité de l'azote sur les flux bruts de carbone et d'azote au cours de la décomposition des résidus végétaux dans le sol**. 1994. 201 f. Tese (Doutorado) - Institut National Agronomique Paris-Grignon, Paris, 1994.

## UNIDADE H

### Ciclo biogeoquímico do fósforo

#### Introdução

O fósforo (P) é um elemento essencial para a vida. Ele desempenha papel funcional e estrutural em todos os organismos e é encontrado na célula na forma de ácidos nucleicos, fosfolípidios e ATP. Os organismos vivos absorvem o P na forma de ortofosfato solúvel, que no caso das plantas e dos organismos do solo esse nutriente é absorvido a partir da solução do solo.

Na Figura H.1 é representado um ciclo simplificado do P, onde são mostrados os diversos compartimentos do P no ambiente terrestre. Nessa representação, o ciclo do P está dividido em dois subciclos (geoquímico e biológico) e apresenta como ponto central o P presente na solução do solo. Percebe-se que ao contrário do observado para o N, que tem sua origem da atmosfera, o P tem como fonte primária as rochas fosfatadas. Além disso, o ciclo biogeoquímico do P não apresenta importantes fluxos entre o solo e a atmosfera.

No subciclo biológico do P, o ortofosfato pode ser absorvido pelas plantas e imobilizado na biomassa microbiana. Parte do P absorvido pelas plantas retorna para o solo através dos resíduos culturais e dos esterco de animais. No solo, esse P pode ser incorporado a Matéria Orgânica do Solo (MOS) estável, mineralizado à ortofosfato ou imobilizado na biomassa microbiana. Quando da morte dos microrganismos o P contido nas células poderá ser incorporado no húmus do solo, e também sofrer os processos de mineralização e imobilização. A ciclagem do P presente na biomassa contribui significativamente para o compartimento de P orgânico lábil no solo.

No subciclo geoquímico do P, o ortofosfato é solubilizado a partir de minerais primários e secundários através de processos químicos e bioquímicos (intemperismo). A dissolução desses compostos na solução do solo ou solubilização através da ação microbiana libera ortofosfato para a solução do solo. O ortofosfato pode ser adsorvido a óxidos de Al e Fe (fósforo inorgânico lábil) ou precipitado como fosfatos de Al, Fe e Ca (minerais secundários).

Existem evidências de que microrganismos podem reduzir ortofosfato até gás fosfina ( $\text{PH}_3$ ) e oxidar ortofosfita ( $\text{H}_2\text{PO}_3^-$ ) para ortofosfato. No entanto existe controvérsia em relação à ocorrência desses processos, em função dos cálculos termodinâmicos demonstrarem que a redução de fosfato é energeticamente desfavorável.

Como vimos às transformações do P podem ser tanto químicas como biológicas. Nessa unidade será dada maior ênfase as transformações do P de origem biológica que ocorrem no solo como a mineralização e imobilização e a solubilização microbiana de fosfatos. Além disso, será abordada a importância das micorrizas para o ciclo do P no sistema solo-planta.

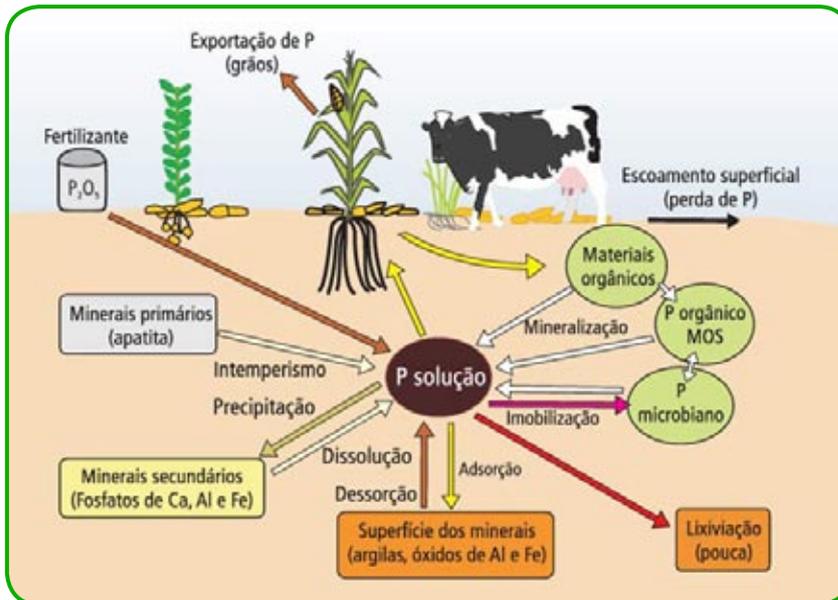


Figura H.1 Ciclo do fósforo.

## Objetivos

- apresentar o ciclo biogeoquímico do P;
- estudar as principais transformações microbianas do P no solo;
- mostrar a importância das micorrizas no ciclo do P.

## 1. Formas de P no solo

No solo, o P encontra-se predominantemente em duas formas: mineral e orgânica. A forma mineral é composta pelo P inorgânico (Pi) o qual se encontra nos minerais primários e adsorvido. Somam-se a essa fração as pequenas quantidades de Pi presentes na solução do solo ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ). O Pi adsorvido encontra-se ligado aos minerais presentes no solo por causa de sua facilidade em formar complexos de alta energia de ligação. Assim, o Pi do solo pode ser encontrado ligado ao Fe, Al e Ca, adsorvido a argilas silicatadas do tipo 1:1, adsorvido à matéria orgânica do solo através de pontes de cátions e, principalmente, adsorvido a oxihidróxidos de Fe e Al. Com isso percebe-se que o Pi é bastante reativo no solo e está susceptível a diversas reações não biológicas tornando-o pouco disponível para os organismos vivos.

O fósforo orgânico (Po) pode constituir de 20 a 80% do fósforo total do solo (1 a 3% da MOS). Em solos tropicais onde os minerais primários sofreram alto grau de intemperismo o Po é de grande importância para o suprimento de P para as plantas. O Po do solo tem origem de materiais orgânicos (resíduos vegetais e esterco), do tecido microbiano e dos produtos de sua decomposição. No solo o Po é composto principalmente por fosfatos de inositol (10 a 80% do Po total), fósforo ligado ao DNA e RNA, fosfolipídios e outros ésteres de fosfato. A estabilidade destes compostos é dependente de sua natureza e de sua interação com a fração mineral. Essa característica afeta sua labilidade ao ataque microbiano. Os ácidos nucleicos e fosfolipídios com ligação diéster são facilmente mineralizáveis. Já os fosfatos monoésteres (fosfato inositol), apresentam facilidade de interação com os constituintes inorgânicos do solo, o que dificulta a mineralização e favorece o acúmulo no solo.

O fósforo microbiano (Pm) é outro compartimento de Po importante no solo. O Po pode representar de 0,5 a 3% da massa seca de células bacterianas, sendo formado principalmente por ácidos nucleicos, formas solúveis de Po e Pi e fosfolipídios. A proporção entre o Pi e o Po nas células microbianas depende da concentração de Pi na solução do solo, do conteúdo de P na célula e da idade da célula. A relação C/P da biomassa pode variar de 1 a 36, tendo valor médio de 14.

O P da biomassa é considerado o principal reservatório de P lábil no solo. A razão Pm/Po corresponde ao Pm como porcentagem do Po total do solo e é considerada como um indicador da labilidade de P. Os valores médios para essa razão encontrados em solos agricultáveis é de 3%. Existem estimativas de que em um ano até 50% do P presente na biomassa microbiana pode ser mineralizado.

## 2. Transformações microbianas do fósforo no solo

Os organismos do solo estão intimamente envolvidos no ciclo do P no solo. Eles participam principalmente dos processos de mineralização e imobilização e na solubilização de fosfatos inorgânicos.

### 2.1 Mineralização

A população microbiana atua na mineralização do P através de dois processos: mineralização biológica e bioquímica. Na mineralização biológica de P, os microrganismos produzem  $P_i$  a partir da oxidação de compostos orgânicos pelos microrganismos. Essa mineralização é ligada a necessidade dos microrganismos em carbono e energia e está relacionada também a mineralização do N e do C, indicando a estreita relação entre os ciclos desses elementos. Isso ocorre devido que os microrganismos para utilizar o C dos compostos orgânicos também necessitam assimilar N e P para sua biossíntese. Nesse processo, quando o material orgânico em decomposição apresentar elevado teor de P, parte desse elemento será liberado para o solo na forma de  $P_i$ .

A mineralização bioquímica é definida como a liberação de  $P_i$  a partir de compostos orgânicos através da hidrólise enzimática que ocorre fora da célula microbiana pela ação de enzimas fosfatases. As fosfatases são enzimas extracelulares produzidas pelos microrganismos e liberadas para o solo. Além dos microrganismos as fosfatases são produzidas por plantas. No solo as fosfatases catalisam as seguintes reações hidrolíticas de mineralização:

- **Fosfomonoesterases** hidrolisam o fosfato a partir de P na forma de monoésteres tais como os nucleotídeos ou fosfolipídios.
- **Fosfodiesterases** hidrolisam o fosfato a partir de P na forma de diésteres tais como os ácidos nucléicos.
- **Fitases** hidrolisam fosfato a partir de P na forma de inositol.

Fosfatases que hidrolisam monoéster frequentemente tem sua atividade máxima em pH ácido ou alcalino. Devido a esse fato as fosfatases são divididas em fosfatases ácidas e alcalinas. A síntese das fosfatases é estimulada pela necessidade dos microrganismos em P, desta forma pode-se dizer que essa mineralização é controlada pela necessidade em fosfato pelos microrganismos. Essas enzimas são produzidas por mais de 70-80% da população micobiana do solo, incluindo bactérias tais como *Bacillus megaterium*, *B. subtilis*, *Arthrobacter* spp., *Streptomyces* spp. e fungos como *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Rhizopus* spp.

Baseando-se em conceitos definidos no ciclo do N, a mineralização basal de P pode ser definida como a mineralização do Po contido na matéria orgânica do solo (MOS). Esta representa o potencial do solo no suprimento de P para as plantas a partir do Po contido na MOS. Além disso, temos o efeito “flush” que ocorre devido aos eventos de secagem-umdedecimento e deve-se principalmente a morte microbiana e subsequente decomposição das células microbianas. Ainda temos a remineralização, a qual se refere à liberação do P microbiano devido a morte e predação dos microrganismos. Ela representa a mineralização do Po recentemente sintetizado e o Pi contido nos microrganismos.

## 2.2 Imobilização

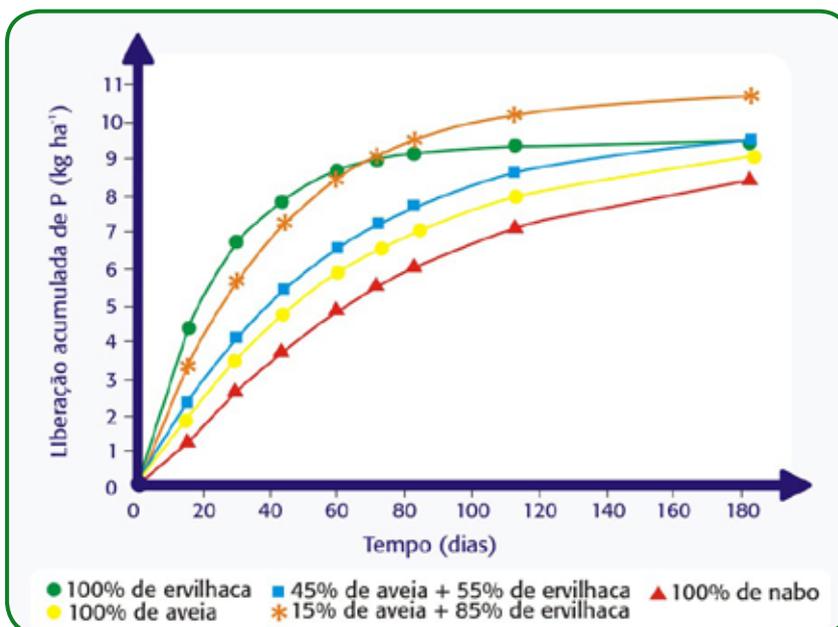
Após o P ter sido mineralizado esse pode ser utilizado pelas plantas e microrganismos e ainda formar complexos insolúveis. A biomassa pode afetar a disponibilidade de P através da imobilização, incorporando íons de ortofosfato em ligações orgânicas em constituintes estruturais e funcionas (p.ex. DNA, ATP) da célula bacteriana. O Pi pode ser incorporado através da formação de ATP através de três processos: 1. fotofosforilação; 2. fotofosforilação oxidativa; e 3. fosforilação a nível de substrato. Um exemplo desse último processo é a glicólise onde o Pi é adicionado ao gliceraldeído 3-fosfato para formar o 1,3-bisfosfatoglicerato, o qual é utilizado na síntese de ATP (Unidade D).

A magnitude da imobilização de P depende da relação C/P dos materiais orgânicos que estão sendo decompostos no solo e da quantidade de P disponível na solução do solo. A relação C/P dos materiais orgânicos adicionados ao solo determina se irá ocorrer mineralização ou imobilização de P. Se a quantidade de P no material orgânico é insuficiente para a assimilação do C, o Pi da solução do solo pode ser usado e a imobilização líquida de P ocorrer. Convencionalmente, se mais P é presente no material orgânico do que é necessário para a assimilação do C irá ocorrer mineralização líquida de P para o solo. Geralmente uma  $C/P < 200$  resulta em mineralização líquida de P, uma  $C/P > 200$  resulta em imobilização líquida de P e, relação C/P entre 200 e 300, apresenta pouco efeito sobre a concentração do Pi no solo.

### Fatores que afetam a mineralização e imobilização de P no solo

Como vimos nas unidades anteriores os principais fatores que afetam a taxa de mineralização dos compostos orgânicos são as condições edafoclimáticas (temperatura, umidade, pH, teores de  $O_2$  e de nutrientes no solo) e a composição bioquímica do substrato (fração solúvel, nutrientes, lignina, relações C/N). Ao contrário do N, poucos

estudos têm sido realizados para avaliar o efeito desses fatores sobre a mineralização de P. Em relação a composição bioquímica alguns estudos indicam que a concentração em  $P_i$  pode ser um bom indicador da velocidade de liberação de P nos estágios iniciais de decomposição dos resíduos culturais. Isso em função de que o  $P_i$  é solúvel em água e pode representar de 15% do P total das plantas deficientes em P a até 70% em plantas com teor próximo ao limite de toxidez. Na Figura H.2 é mostrada a quantidade acumulada de P liberada durante a decomposição dos resíduos culturais de aveia, ervilhaca e nabo forrageiro em um estudo realizado na UFSM. Nesse estudo o melhor indicador da liberação de P na fase inicial da decomposição foi a concentração de P solúvel em água nos resíduos culturais. Entre os resíduos culturais avaliados, aqueles contendo a ervilhaca foram os que apresentaram maior concentração em P solúvel e conseqüentemente apresentaram maior velocidade de liberação do P dos resíduos culturais.



**Figura H.2** Liberação acumulada de P durante a decomposição dos resíduos culturais das plantas de cobertura em cultivo solteiro e em consórcio.

A mineralização bioquímica é afetada pela atividade das enzimas fosfatases no solo. A atividade dessas enzimas é influenciada por diversos fatores como: pH, conteúdo de água, CTC, etc.. A adsorção das fosfatases nas argilas e óxidos e também como nas substâncias húmicas do solo podem modificar a sua conformação e reduzir sua atividade.

### 2.3 Solubilização microbiana de fosfatos

A solubilização microbiana de fosfatos é a transformação de fosfatos insolúveis em fosfatos solúveis pela ação de microrganismos. Atualmente sabe-se que ela é de ocorrência generalizada, tanto nos heterotróficos quanto nos autotróficos do solo. Embora exista maior número de bactérias solubilizadoras do que de fungos, estes apresentam maior capacidade de solubilização.

Os mecanismos usados pelos microrganismos na solubilização de fosfatos são diversos. A solubilização de P pode resultar da produção de  $\text{CO}_2$  e de ácidos orgânicos oriundos da mineralização de C-orgânico e da produção de enzimas e de compostos quelantes e complexantes pela microbiota. Esses exercem ação solubilizadora direta sobre os fosfatos inorgânicos e o  $\text{CO}_2$  transforma-se em  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , que solubiliza fosfatos de Ca e Mg. Outros mecanismos, como a produção de ácidos inorgânicos ( $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e  $\text{HNO}_3$ ), são também importantes na solubilização dos fosfatos inorgânicos, especialmente de compostos fosfatados primários no solo. O fungo *Aspergillus niger* produz citrato, oxalato, e gluconato sugerindo que a produção de ácidos orgânicos pode ser um mecanismo importante na solubilização de fosfatos de alumínio, mas não parece ser o mecanismo exclusivo.

Diversas bactérias são reconhecidamente solubilizadoras de fosfato, como espécies de *Pseudomonas* e *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* (fosfobacterinas) empregadas como inoculantes. No entanto, poucas são as evidências concretas quanto ao papel solubilizador desses organismos no solo, sendo seus efeitos sobre as culturas muito questionados. Os fungos também são muito bem estudados como solubilizadores de fosfato, destacando-se isolados de *Aspergillus niger*, *A. flavus* e várias outras espécies desse gênero e de outros. Os solubilizadores estão presentes em todos os solos, onde representam até 15% da população microbiana.

O uso de microrganismos solubilizadores de fosfato em inoculantes pode tornar esse processo bastante promissor. A técnica Biosuper já desenvolvida em outros países, como na Índia e na Austrália, consiste na mistura de rocha fosfática com enxofre elementar na proporção de 5:1 e, no solo, o S é oxidado, formando ácido sulfúrico que solubiliza a rocha fosfática.

A solubilização depende dos microrganismos, do tipo de fosfato a ser solubilizado, da acidez e da natureza dos materiais orgânicos produzidos. De modo geral a solubilização esta relacionada a diminuição de pH e/ou a produção de ácidos orgânicos. Além disso, a capacidade para solubilizar varia entre as espécies microbianas e as formas químicas de fosfato, sendo a maioria capaz de solubilizar fosfatos de cálcio. Em relação ao conhecimento atual dos solubilizadores de fosfato

pode-se resumir os seguintes aspectos:

- no solo existe uma grande variedade de microrganismos capazes de solubilizar fosfatos;
- a produção de ácidos orgânicos é o principal mecanismo de solubilização;
- a população de microrganismos solubilizadores é aumentada na rizosfera das plantas;
- ainda não é possível relacionar a presença de microrganismos solubilizadores e disponibilidade de P.

### 3. Micorrizas

Micorrizas são associações mutualísticas entre fungos e raízes. Estudos em raízes fossilizadas evidenciam que as micorrizas surgiram há cerca de 400 milhões de anos, período que coincide com o aparecimento das plantas terrestres. Nessa associação a planta produz carbono para o fungo e esse absorve água e nutrientes em especial o fósforo para as plantas. Sem dúvida essa interação foi importante para o aumento da diversidade das espécies e a colonização do habitat terrestre, tornando as micorrizas um fenômeno generalizado na natureza.

Estas associações estão presentes em quase 95% das plantas. Assim pode-se dizer que “as plantas não micorrizadas são uma exceção na natureza”. Isto significa que culturas como o milho, trigo, soja, feijão, azevém, trevo, e outras mais, têm fungos benéficos associados em suas raízes em nível de lavoura.

#### 3.1 Importância das micorrizas para o ciclo do P

Como vimos anteriormente, apenas uma pequena quantidade de P no solo está disponível para as plantas. Isso em função da grande reatividade desse elemento com os colóides do solo. Aliado a isso, o P é pouco móvel no solo. Com essas condições, a absorção do P pelas raízes gera no solo próximo as raízes uma região pobre em P. As micorrizas ao desenvolverem-se das raízes para o solo fazem com que as hifas aumentem o volume total de solo explorado e permitem a absorção de P fora dessa zona de esgotamento de nutrientes (Figura H.3). A grande capacidade de absorção das hifas e as modificações fisiológicas advindas da micorrização possibilitam que as raízes micorrizadas absorvam nutrientes em concentrações mais baixas que as não micorrizadas, resultando em grande redução no requerimento externo

de nutrientes pela planta. As hifas podem absorver e transferir P, colocado até 8 cm da superfície da raiz, para a planta. Assim percebe-se que as micorrizas apresentam grande importância para o ciclo do P no sistema solo-planta.

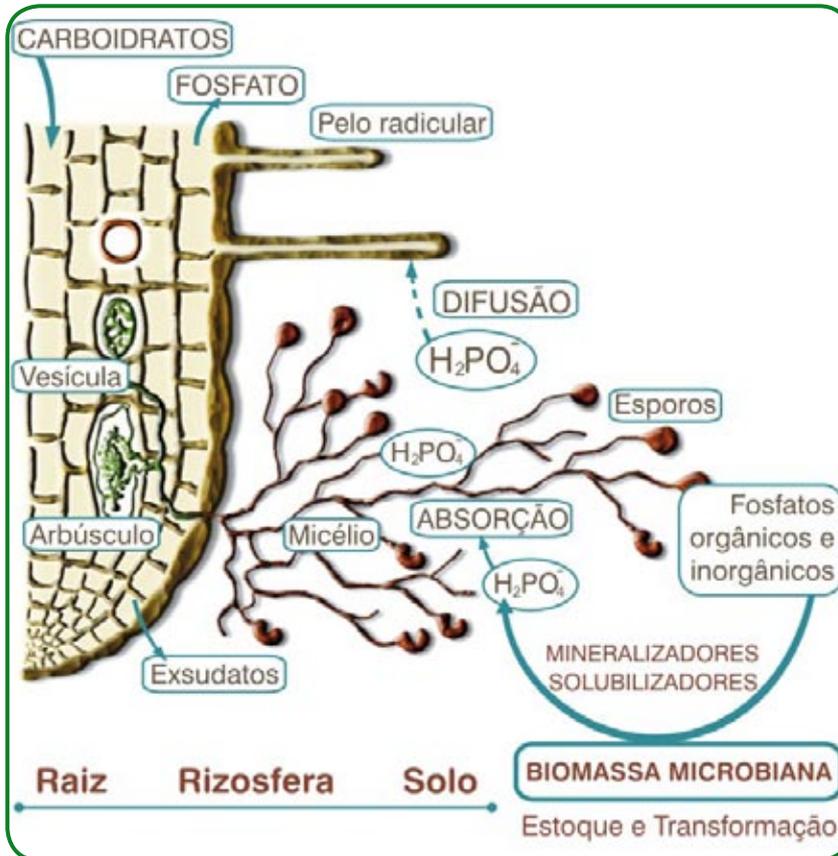


Figura H.3. Influência das micorrizas na disponibilidade de P para as plantas.

### 3.2 Tipos de micorrizas

Atualmente considera-se que existem sete tipos de micorrizas. Entre esses, destacam-se pela importância e pelo volume de informações, os seguintes tipos de micorrizas:

- Ectomicorrizas
- Endomicorrizas (Micorrizas arbusculares – MAs)

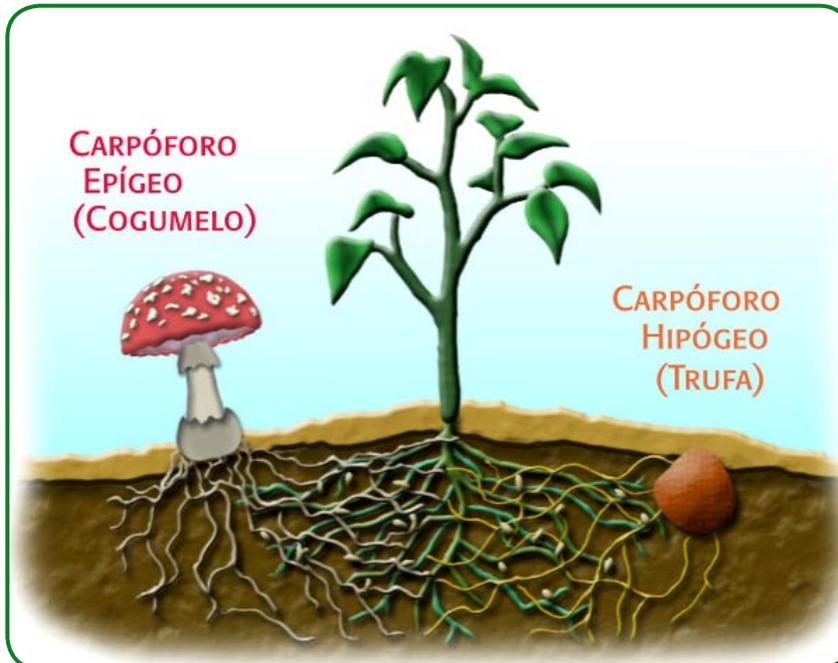
Essas micorrizas diferem entre si pela posição do fungo na raiz e de sua estrutura de associação com a planta. A seguir são apresentadas na Figura H.4 as principais diferenças entre esses dois tipos de micorrizas.

<b>Característica</b>	<b>Ectomicorriza</b>	<b>MVA</b>
Principais hospedeiros	Árvores de clima temperado, Myrtaceae, Dipterocarpaceae	90% das famílias de plantas vasculares
Principais fungos	Basidiomicetos e alguns Ascomicetos (cogumelos)	Zigomicetos da ordem Glomales (140 espécies)
Distribuição geográfica	Ocorrência generalizada nas regiões temperadas, poucos fungos de ocorrência natural nos trópicos.	Cosmopolita, com maior incidência nos trópicos e em agrossistemas
Especificidade	Presente em alguns grupos	Sem evidência
Dreno de carbono	Muito elevado, até 35% do C assimilado pelo hospedeiro.	Baixo, em torno de 10% do C assimilado
Morfologia da raiz	Acentuada modificação visual	Sem modificação aparente
Anatomia celular	Presença de manto, rede de Harting e penetração apenas intracelular	Formação de arbúsculos (intracelular), esporos característicos, hifas extraradiculares
Interface planta-solo	Manto rizomorfo e micélio	Raiz e micélio
Interface fungo-planta	Extracelular via rede de Harting	Intracelular via arbúsculos
Principal efeito nutricional	Absorção de N e P do solo, restos vegetais (enzimas)	Absorção de P, Cu e Zn do solo
Relação com patógenos	Ação de biocontrole (barreira física e antibióticos)	Ameniza o ataque de patógenos (nutricional)
Tolerância a impacto ambiental	Muito alta; protege a planta de estresses diversos	Média a baixa; ameniza os efeitos de fatores fitotóxicos

**Figura H.4.** Principais diferenças entre as ectomicorrizas e endomicorrizas.

### 3.2.1 Ectomicorrizas

A associação ectomicorrízica é bastante comum em essências florestais tais como plantas pertencentes às famílias *Pinaceae*, *Betulaceae*, *Fagaceae*, *Dipterocarpaceae* e *Myrtaceae*. Os fungos que se associam a estas plantas pertencem principalmente às subdivisões *Basidiomycotina* e *Ascomycotina*. Os fungos ectomicorrízicos podem ser epígeos, quando frutificam acima da superfície do solo, ou hipógeos, quando o corpo de frutificação é produzido abaixo da superfície (Figura H.5). As ectomicorrizas apresentam especificidade fungo-hospedeiro, principalmente em nível de gênero e em alguns casos de espécie.



**Figura H.5.** Associação ectomicorrízica em eucalipto, com a presença de fungos epígeos e hipógeos.

Nas ectomicorrizas típicas, o sistema radicular (principalmente radiculas) é envolvido por uma camada relativamente espessa de pseudoparênquima fúngico, denominado manto. As porções mais internas do manto se ramificam entre as células da epiderme e do córtex, formando uma rede micelial denominada rede de Harting. Normalmente a camada endodérmica não é invadida pelo fungo.

### 3.2.2 Endomicorrizas

As endomicorrizas, mais recentemente denominadas de micorrizas arbusculares (Mas) são caracterizadas pela penetração do micélio fúngico intercelular e intracelular (formam estruturas intensamente enoveladas dentro da célula hospedeira), e ausência de manto (Figura H.3). Dentro das endomicorrizas o tipo arbuscular é o tipo mais disseminado entre as plantas. Algumas associações podem formar vesículas. Ao contrário das ectomicorrizas, que podem ser detectadas pelas alterações visuais das raízes colonizadas e pela presença dos corpos de frutificação macroscópicos dos fungos simbióticos, as Mas não são detectadas a olho nu, sendo os fungos que a formam, microscópicos.

Os fungos que formam endomicorrizas pertencem a *Zygomycotina* e Ordem *Endogonales*. Alguns exemplos de gêneros importantes: *Glomus*, *Sclerocystis*, *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Scutellospora* e *Endogone*. As MAs são simbiotróficos obrigatórios, pois completam seu ciclo de vida apenas se estiverem associados a uma planta hospedeira, a qual lhes fornece carboidratos e outros fatores necessários ao seu desenvolvimento e esporulação.

### 3.3 Benefícios das micorrizas

Os fungos micorrízicos favorecem o crescimento das plantas por funcionarem como sistemas radiculares secundários, aumentando a superfície de absorção e o volume de solo explorado pela planta.

A micorrização representa um importante mecanismo de maximização do uso dos fertilizantes fosfatados aplicados aos solos deficientes e com elevada capacidade de fixação de fosfatos, como aqueles predominantes nos trópicos, podendo contribuir para a redução da necessidade de P das culturas. A aplicação de pequenas quantidades de P é benéfica, em solos com elevado grau de deficiência. O uso frequente de doses maciças de P favorece o crescimento da planta, mas pode reduzir a colonização micorrízica e os benefícios das micorrizas nativas ou introduzidas, tomando as culturas mais exigentes em P e possivelmente outros nutrientes, e menos tolerantes às deficiências hídricas e aos ataques de patógenos, o que parece estar relacionado com o declínio da produtividade de solos manejados intensivamente.

Vários estudos recentes mostram que plantas micorrizadas utilizam P de formas minerais de baixa solubilidade, como fosfatos de Fe, Al e Ca e o P retido no solo. Um estudo com 18 espécies de leguminosa e seis gramíneas tropicais mostrou que plantas micorrizadas foram, em média, duas a quatro vezes mais eficientes em utilizar o P que as não-micorrizadas.

A micorrização causa um aumento na absorção de nutrientes, um aumento na nodulação e capacidade de fixação de nitrogênio atmosférico por leguminosas (talvez pela maior quantidade de nutrientes absorvidos pela planta), alterações nas relações planta-patógenos, alterações benéficas na relação água-solo-planta, onde pode haver auxílio na absorção de água, aumento na produção de fitohormônios e modificações de ordem anatômica e fisiológica no hospedeiro (planta).

Os fungos micorrízicos ocorrem em todos os tipos de solos agrícolas, e infectam as plantas naturalmente. Assim podemos dizer que "micorrizas são a regra e não a exceção". Diferentes gêneros e espécies de fungos podem ser encontrados dependendo das sucessões de culturas que adotamos e das condições químicas dos solos. As micorrizas arbusculares não são cultiváveis em laboratório, até o momento, resultando em dificuldades de sua exploração mais efetiva pelo homem em nível de lavoura, comparando-se ao rizóbio, que pode ser adquirido como inoculante em cooperativas ou indústrias de inoculantes. Atualmente, a utilização prática deste grupo de micróbios limita-se a aplicá-los para a melhor adaptabilidade das plantas a condições adversas, como é o caso do restabelecimento de cobertura vegetal em locais erodidos e degradados, e no estabelecimento das associações micorrízicas durante a formação de mudas em viveiros.

### 3.4 Efeito dos sistemas de manejo sobre as micorrizas

Os diferentes sistemas de manejo do solo podem afetar os fungos micorrízicos no solo e sua associação com as plantas. Estudos realizados a campo indicam que raízes das principais culturas (milho, feijão, trigo) amostradas em plantio direto apresentam maior percentagem de colonização quando comparada com raízes de milho coletadas no plantio convencional (aração + gradagem). Esse resultado deve-se ao efeito benéfico do não revolvimento do solo sobre a população dos fungos micorrízicos no solo. O distúrbio do solo, causado por práticas de manejo mecânico (como o sistema convencional), pode reduzir a colonização de raízes. Os principais mecanismos sugeridos são a redução da frequência de contato entre fontes potenciais de inóculo (que são esporos e raízes velhas infectadas) e raízes novas e, também, a destruição da rede de hifas no solo, que reduz o potencial de inóculo. Também a translocação dos assimilados para a planta, dentro da hifa é interrompido.

A manutenção do solo em pousio também parece ser uma prática que não beneficia os fungos micorrízicos. Solos deixados em pousio não fornecem uma grande quantidade de plantas hospedeiras que permitem a manutenção de altos níveis de inóculo no solo e uma maior diversidade de espécies. Isso pode ocasionar uma redução de infecção em cultivos subseqüentes por espécies efetivas e como conseqüência, redução na absorção de nutrientes e rendimentos das culturas em sucessão.

## 4. Aspectos ambientais do ciclo do P

O P quando aplicado em excesso no solo pode causar problemas ambientais (Figura H.6). Esse elemento é um dos nutrientes que mais limita a produtividade em muitos ecossistemas, particularmente nos sistemas aquáticos. Se uma grande quantidade de P é aplicada ao solo, este pode atingir as águas de superfície juntamente com a água que escoar na superfície do solo, a qual carrega além do P solúvel o P ligado às partículas de solo. A maior conseqüência do enriquecimento das águas de superfície com o P é a ocorrência do processo de eutroficação. A eutroficação ocorre mais frequentemente em águas de superfície de lagos e açudes. O aumento da quantidade de P nesses ambientes pode levar a um desenvolvimento excessivo de algas. A partir desse evento ocorre uma redução da entrada de luz nesse ambiente promovendo a morte das algas. As algas mortas se depositam no fundo da água onde são decompostas pelos microrganismos, o que resulta em um consumo excessivo de  $O_2$ . Caso o processo continue

esse ambiente aquático pode se tornar anaeróbico sendo um ambiente inadequado para muitas formas de vida aquáticas.

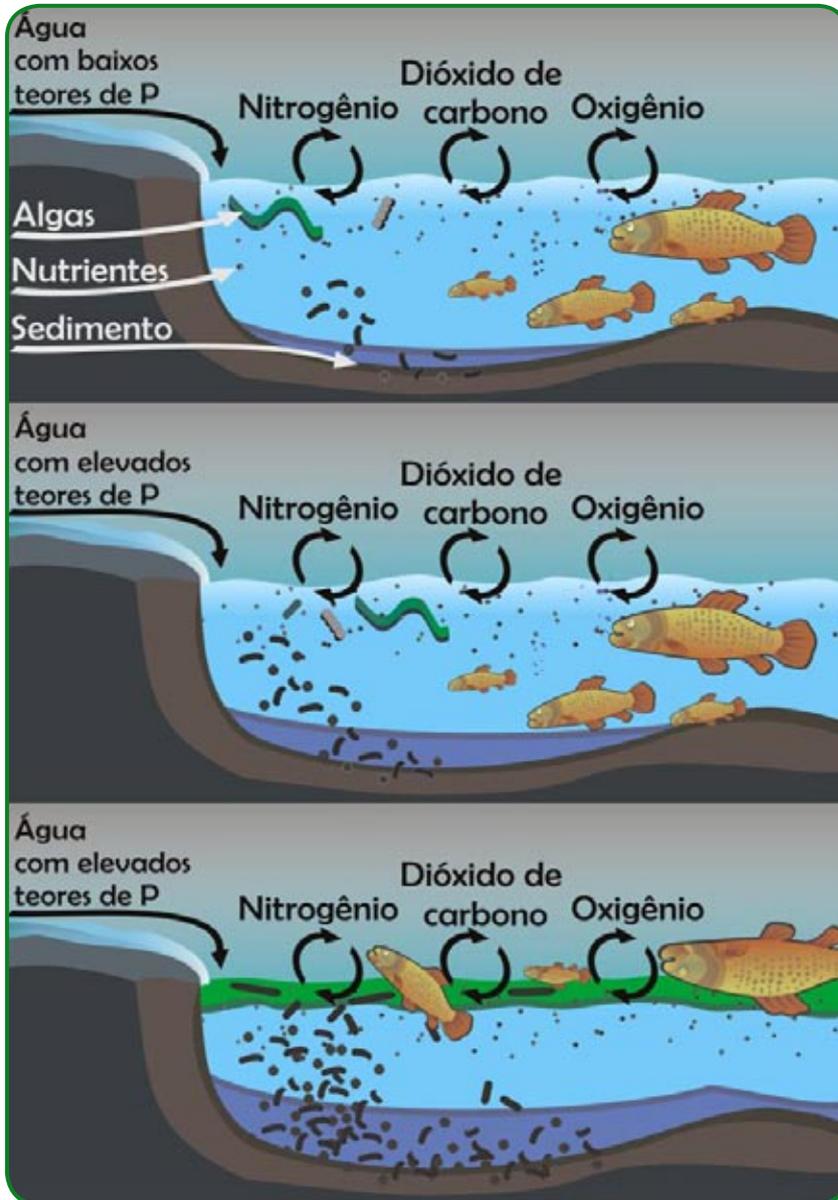


Figura H.6. Processo de eutroficação das águas de um lago.

O uso de fertilizantes na superfície do solo, principalmente dejetos de animais, pode potencializar a perda desse elemento via escoamento superficial. Para reduzir o potencial dessa prática recomenda-se evitar a aplicação de dejetos animais antes de eventos de chuva e principalmente em locais com relevo acidentado.

## **Bibliografia**

MOREIRA, F.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2ª edição, Editora UFLA, 2006. 623 p.

MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., PARKER, J. Brock : **Microbiologia de Brock**. São Paulo: Prentice-Hall, 2004. 608p.

PAUL, E.A.; CLARK, F.E. **Soil microbiology and biochemistry**. 2. ed. Califórnia: Academic Press, 1996. 340p.

SYLVIA, D.M.; FUHRMANN, J.J.; HARTEL, P.G. & ZUBERER, D.A. **Principles and applications of soil microbiology**. New Jersey: Prentice Hall, 1998. 550 p.

## UNIDADE I

### Ciclo biogeoquímico do enxofre

#### Introdução

O enxofre (S) é um elemento essencial para o crescimento e atividade de todos os seres vivos. Ele é um dos 10 principais bioelementos requeridos pelos organismos, em concentrações relativamente elevadas, sendo necessário à síntese dos aminoácidos cisteína, cistina e metionina. Em animais, plantas e microrganismos o S é um constituinte importante de vitaminas, hormônios e de uma série de outras moléculas metabolicamente importantes.

O ciclo do S (Figura I.1) apresenta grande similaridade com o ciclo do N, já que ambos existem em diversos estados de oxidação e passam por inúmeras transformações químicas e, principalmente microbianas, similares e que conduzem à volta dos elementos S e N à atmosfera por volatilização. Das diferentes formas que o S pode apresentar, as principais encontradas no solo são o S elementar ( $S^0$ ), o sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ), o sulfato ( $SO_4^{2-}$ ) e o S orgânico.

A maior parte do S chega ao solo como formas solúveis produzidas pelo intemperismo de minerais, pela adição de fertilizantes e por deposições atmosféricas ou como formas solúveis orgânicas e inorgânicas a partir da decomposição de materiais orgânicos. Perdas de S do solo ocorrem através de lixiviação, escoamento superficial, volatilização e remoção pelas culturas.

Diversas transformações do S no solo são realizadas exclusivamente por microrganismos. Pode-se dizer que os microrganismos dirigem o ciclo do S. Da atividade da biomassa microbiana dependem os processos de mineralização/imobilização e as transformações de oxidação/redução. Portanto, o entendimento dessas transformações do S no solo é crucial para assegurar o suprimento adequado de S à biota dos diferentes ecossistemas e também para proteger o ambiente dos efeitos adversos do S. Nessa unidade serão abordados esses diferentes processos microbianos envolvidos no ciclo do S.

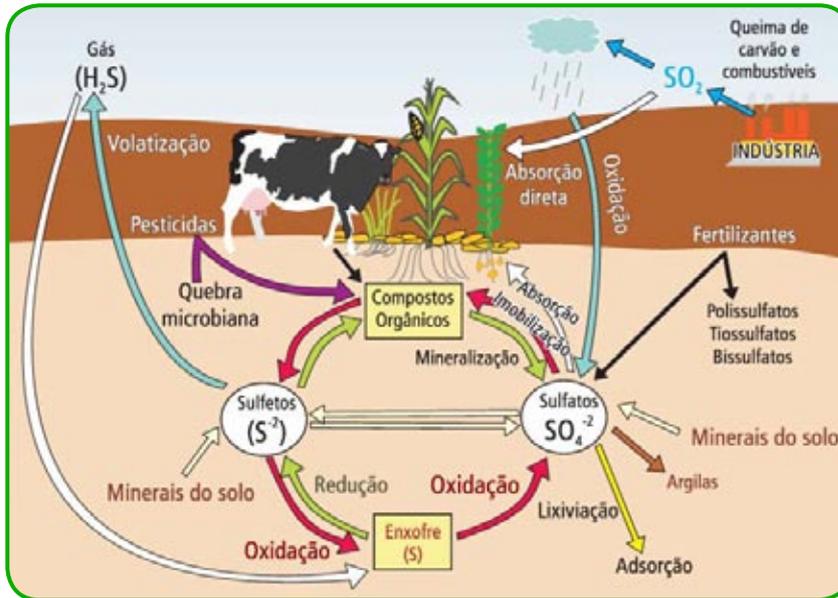


Figura I.1 Ciclo do Enxofre.

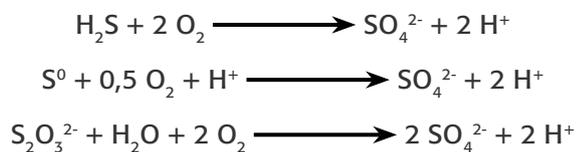
## Objetivos

O principal objetivo dessa unidade é introduzir os princípios básicos do ciclo do S, enfatizando os microrganismos e as transformações microbianas que dirigem o ciclo. Pretende-se informar sobre o quanto é importante compreender o ciclo biogeoquímico do S, tanto do ponto de vista agrícola quanto ambiental.

## 1. Importância dos microrganismos do solo no ciclo do enxofre

### 1.1 Oxidação microbiana de compostos inorgânicos de enxofre

Diversos compostos reduzidos de S podem ser usados como fonte de elétrons para a produção de energia (ATP) por diversos microrganismos, principalmente para as bactérias oxidantes do S, distribuídas no solo em dois gêneros principais (*Thiobacillus* e *Beggiatoa*). O sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S), o enxofre elementar (S<sup>0</sup>) e o tiosulfato (S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>) são os principais compostos de S que podem ser oxidados, conforme as reações abaixo:



Embora essas transformações possam ocorrer quimicamente, o processo de oxidação de S no solo é claramente dominado pelos microrganismos, com destaque para as bactérias oxidantes de S. A maioria das bactérias oxidantes de S são quimioautotróficas, as quais retiram a energia necessária ao crescimento a partir da oxidação dos compostos reduzidos de S e o C necessário à biossíntese a partir da fixação do CO<sub>2</sub> através do ciclo de Calvin.

A habilidade para crescer quimiolitotroficamente, ou seja, oxidando compostos reduzidos de S é uma propriedade de um grupo diverso de bactérias, sendo *Thiobacillus* um dos principais gêneros de bactérias oxidantes de S elementar (S<sup>0</sup>). Já o gênero *Beggiatoa* atua, principalmente, na oxidação de H<sub>2</sub>S. Esse gênero apresenta como particularidade o fato de utilizar H<sub>2</sub>S como fonte de energia e um composto orgânico como fonte de C sendo, portanto, um microrganismo quimioheterotrófico. *Beggiatoa* participa ativamente da oxidação de H<sub>2</sub>S na rizosfera do arroz inundado, acumulando grânulos de S elementar no interior de suas células.

Embora *Thiobacillus* seja um dos principais microrganismos capaz de oxidar compostos reduzidos de S até SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, que é a forma de S assimilável pelas plantas, esse processo também pode ser realizado por muitos microrganismos heterotróficos. Bactérias dos gêneros *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Micrococcus* e *Pseudomonas*, alguns actinomicetos e uma grande diversidade de fungos, como *Fusarium* e *Trichoderma*, também são capazes de oxidar S elementar e outras formas reduzidas de S. Existem evidências de que nos solos agrícolas há um consórcio entre microrganismos autotróficos e heterotróficos agindo conjuntamente na oxidação de compostos reduzidos de S.

Observa-se através das reações de oxidação de S apresentadas acima que o processo ocorre apenas em condições aeróbicas, com o oxigênio atuando como receptor terminal de elétrons e sendo reduzido a  $H_2O$ . Esse fluxo de elétrons da respiração aeróbica gera força protomotiva para a geração de ATP por fosforilação oxidativa. Uma exceção é a bactéria *Thiobacillus denitrificans* que pode oxidar S em condições anaeróbicas utilizando o  $NO_3^-$  como receptor terminal de elétrons no lugar do  $O_2$ , realizando, portanto, respiração anaeróbica.

Outra constatação importante, a partir da análise das reações acima, é que a oxidação de S resulta na produção de sulfato ( $SO_4^{2-}$ ) e de prótons ( $H^+$ ). Se por um lado o aparecimento de  $SO_4^{2-}$  é positivo, já que ele constitui a forma pela qual as plantas assimilam o S do solo, de outro a produção de  $H^+$  contribui à acidificação do ambiente. O ácido formado pelas bactérias oxidantes de S é o ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) e a adição de S elementar ( $S^0$ ) pode ser uma estratégia para diminuir o pH de solos alcalinos. Todavia, na maioria das situações onde a oxidação de S seja intensa os efeitos desse processo são danosos ao ambiente, em função da sua acidificação. O  $SO_4^{2-}$ , de forma similar ao nitrato ( $NO_3^-$ ), também pode ser facilmente perdido no solo por lixiviação.

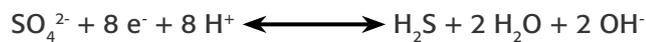
## 1.2 Redução microbiana de compostos inorgânicos de enxofre

A redução de formas oxidadas de S, particularmente  $SO_4^{2-}$ , é feita por um grupo específico de bactérias, denominado coletivamente de **bactérias redutoras de sulfato**. A redução de  $SO_4^{2-}$  por tais bactérias conduz à formação de sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ) como produto final, em um processo denominado de redução dissimilatória ou respiratória de sulfato. Nesse processo, realizado em condições anaeróbicas, as bactérias usam compostos orgânicos de baixo peso molecular ou o hidrogênio ( $H_2$ ) como doadores de elétrons e o sulfato ( $SO_4^{2-}$ ) como receptor terminal de elétrons num processo similar ao realizado pelas bactérias desnitrificadoras ao utilizarem o  $NO_3^-$  como receptor terminal de elétrons.

Uma vez que o processo de redução de sulfato é realizado por bactérias anaeróbicas, ele não é, normalmente, importante em solos aerados, exceto em microsítios anaeróbicos. Todavia, a redução de sulfato constitui um dos principais componentes do ciclo do S em solos contendo resíduos culturais e que são periodicamente alagados como, por exemplo, nas lavouras de arroz sob inundação.

Quando essas áreas estão sem a presença da água e, portanto, sob condições aeróbicas, ocorre o acúmulo de  $SO_4^{2-}$  pela oxidação de compostos reduzidos de S e, principalmente, através do processo de mi-

neralização do S orgânico dos resíduos culturais e da matéria orgânica do solo, o qual será abordado a seguir nessa unidade. Quando a área é submetida ao alagamento, as condições anaeróbicas e a presença de C dos resíduos culturais proporcionam o aparecimento no solo de produtos de fermentação tais como H<sub>2</sub>, lactato, acetato, malato e etanol. Tais produtos finais constituem os doadores de elétrons de bactérias redutoras de sulfato as quais produzem energia utilizando o SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> como receptor terminal de elétrons. O produto final desse processo, conforme demonstrado abaixo na reação de redução bacteriana de sulfato, é o H<sub>2</sub>S que é um gás e pode ser emitido para a atmosfera:



Cerca de 80 gêneros de bactérias redutores de sulfato estão identificados até o momento, sendo que o gênero *Desulfovibrio* é o mais estudado. Ele é comum em ambientes aquáticos ou áreas de solos alagados contendo abundância de materiais orgânicos e níveis suficientes de sulfato. Outro gênero comum em solos alagados é o *Desulfotomaculum*.

Um aspecto relevante a destacar no processo microbiano de redução de sulfato é que ele representa perda de S do solo e que essa perda se dá através da forma assimilável de S pelas plantas que é o SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>.

### 1.3 Mineralização e Imobilização (assimilação) de S

No solo, a maioria do S (75 a 90%) encontra-se fazendo parte de complexos orgânicos, representados principalmente por três formas: os ésteres de sulfato, o S ligado diretamente ao C e o S inerte. Ésteres de sulfato incluem compostos como o sulfato colina, sulfatos fenólicos e polissacarídeos sulfatados, cuja origem é predominantemente microbiana. Os ésteres de sulfato são considerados a fração mais lábil do S orgânico do solo, sendo facilmente mineralizados e, assim, disponibilizando o S às plantas e aos microrganismos. Na maioria dos solos minerais os ésteres de sulfato constituem entre 33 e 78% do S orgânico total. A conversão dessas diferentes formas de S orgânico em S inorgânico (mineralização), principalmente SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, é mediada largamente pela vasta população microbiana heterotrófica do solo.

Os compostos de enxofre ligados ao carbono são representados principalmente por aminoácidos (metionina, cisteína e cistina) e sulfolipídios, os quais têm como origem os resíduos vegetais (parte aérea e raízes) e também a biomassa microbiana e representam entre 5 e 35% do total de S orgânico nos solos minerais. Esse S ligado ao C apresenta alta energia de ligação e, em função da sua maior estabilidade, alguns

estudos sugerem que os compostos C-S podem estarem associados à fração dos ácidos húmicos do solo. O S inerte, por sua vez, perfaz de 3 a 59% do S orgânico total e provavelmente seja pouco significativo como fonte de S para as plantas.

A transformação do S orgânico contido na MOS e em resíduos orgânicos até a forma mineral ocorre através do processo de mineralização, o qual é estritamente microbiológico e análogo aos processos de mineralização do C e do N. No entanto, as taxas relativas de mineralização do N, do C e do S em um sistema específico podem variar dependendo da atividade e da diversidade heterotrófica de fungos e bactérias. Em condições aeróbicas, a completa mineralização de um substrato orgânico resulta em  $\text{CO}_2$ , amônio e sulfato enquanto em condições anaeróbicas  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ , sulfitos e amônia são os produtos finais.

Os microrganismos do solo produzem uma série de enzimas proteolíticas extracelulares, as quais podem hidrolisar uma grande variedade de ligações éster e peptídicas de resíduos orgânicos, convertendo-as em moléculas com tamanho variado. A grande diversidade de proteases sintetizadas pelas células microbianas e a baixa especificidade pelo substrato tornam estas enzimas proteolíticas hábeis para a decomposição de diferentes materiais protéicos. Similarmente, os éteres de sulfato contidos principalmente em macromoléculas estruturais de tecidos das plantas, animais e microrganismos requerem a quebra destes componentes até moléculas de baixo peso molecular para possibilitar a hidrólise do S pela ação das enzimas sulfohidrolases e arilsulfatases.

Durante a decomposição de moléculas grandes contendo S não ocorre apenas a sua quebra enzimática em unidades orgânicas básicas, mas também a assimilação de intermediários pela população microbiana, bem como a síntese e excreção de uma variedade de diferentes compostos orgânicos contendo S. A quantidade de S orgânico livre no solo é baixa e representa o balanço entre síntese e decomposição pelos microrganismos. A mineralização dos ésteres de sulfato, oriundos da decomposição das macromoléculas, é realizada pelas enzimas sulfatases, as quais incluem arilsulfatases e colina sulfatase cuja síntese é reprimida na presença de  $\text{SO}_4^{-2}$  disponível.

Contrastando com a rápida mineralização e liberação do S verificada nos resíduos orgânicos adicionados ao solo, a mineralização do S da MOS é lenta e quantitativamente pequena. Isto porque as grandes moléculas de éster de sulfato presentes no húmus do solo são bastante resistentes à hidrólise enzimática, em razão de sua recalcitrância e da proteção física e química à decomposição microbiana. Porém, mesmo lentamente, a degradação de ácidos húmicos ocorre no solo via ação microbiana, através de uma seqüência catalítica onde atuam diversas enzimas.

De maneira similar ao N, durante a decomposição de materiais orgânicos no solo, o S é assimilado pelos microrganismos para suprirem suas necessidades em S para a biossíntese de aminoácidos. A quantidade assimilada de S é condicionada pelo fluxo de C e pela relação C/S dos resíduos e da biomassa microbiana. Com a adição de resíduos orgânicos ao solo, cuja relação C/S é elevada, normalmente ocorre a imobilização de S do solo. O contrário é observado com os materiais orgânicos ricos em S. Assim, o balanço entre imobilização e mineralização de S regula o acúmulo e o ciclo do S no solo e, portanto a disponibilidade de S para as plantas. De maneira geral, é admitido que para resíduos culturais com relação C/S inferior a 200/1 ocorra mineralização líquida de S enquanto que para valores da relação C/S superiores a 400 ocorra imobilização líquida de S. Para resíduos culturais com relação C/S entre 200 e 400 é esperado poucas alterações nas quantidades de  $\text{SO}_4^{2-}$  no solo.

Alguns estudos têm demonstrado que existe uma grande diferença entre resíduos culturais quanto ao efeito sobre a disponibilidade de S no solo durante a sua decomposição. Naqueles provenientes de crucíferas, por exemplo, tanto a taxa de liberação de S como as quantidades liberadas superam aquelas observadas nos resíduos culturais de cereais.

Os resíduos culturais e os dejetos de animais constituem a maior fonte de S orgânico nos solos agrícolas. As plantas em crescimento ativo, por sua vez, fornecem energia à rizosfera na forma de exsudatos radiculares o que aumenta o crescimento e a atividade da população microbiana, aumentando a mineralização do S.

Pelo fato do S estar presente principalmente na fração orgânica do solo, o seu ciclo depende dos processos microbianos de mineralização e imobilização, os quais controlam a disponibilidade deste nutriente às plantas. Assim, além de ser o agente dessas transformações, a biomassa microbiana contém cerca de 1 a 3 % do S orgânico. Após a morte dos microrganismos esse S é relativamente lábil e facilmente mineralizado a  $\text{SO}_4^{2-}$  através do processo de reciclagem pela população remanescente.

Considerando estes aspectos, é importante enfatizar que a disponibilidade de S no solo a curto prazo em sistemas agrícolas, está ligada principalmente à quantidade e ao tipo de resíduos culturais, os quais dependem do sistema de sucessão/rotação de culturas empregado. Já a longo prazo a disponibilidade de S está mais relacionada ao sistema de preparo do solo. Aqueles sistemas com maior revolvimento, como o PC, resultam na diminuição da matéria orgânica do solo e, conseqüentemente, na redução da capacidade do solo em fornecer S às culturas.

## **Bibliografia**

- MOREIRA, F.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2ª edição, Editora UFLA, 2006. 623 p.
- MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., PARKER, J. Brock : **Microbiologia de Brock**. São Paulo: Prentice-Hall, 2004. 608p.
- PAUL, E.A.; CLARK, F.E. **Soil microbiology and biochemistry**. 2. ed. Califórnia: Academic Press, 1996. 340p.
- SYLVIA, D.M.; FUHRMANN, J.J.; HARTEL, P.G. & ZUBERER, D.A. **Principles and applications of soil microbiology**. New Jersey: Prentice Hall, 1998. 550 p.
- AITA, C. GIACOMINI, S.J. **Matéria Orgânica do Solo, Nitrogênio e Enxofre nos Diversos Sistemas de Exploração Agrícola: Plantio Direto x Plantio Convencional**. In: TSUIOSHI, S. et al. Nitrogênio e Enxofre na Agricultura Brasileira. Piracicaba: ESALQ. São Paulo: IPNI - International Plant Nutrition Institute, 2007. p.1-41.